

GUILHERME COSTA FAUSTO

**FORMULAÇÃO DO FUNGO *Duddingtonia flagrans* EM FARELO DE
ARROZ NO CONTROLE DE NEMATOIDES PARASITOS
GASTRINTESTINAIS DE BOVINOS E EQUINOS**

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

VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
2019

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

T

F268f
2019 Fausto, Guilherme Costa, 1984-
Formulação do Fungo *Duddingtonia flagrans* em farelo de
arroz no controle de nematóides parasitos gastrintestinais de
bovinos e equinos / Guilherme Costa Fausto. – Viçosa, MG,
2019.

xii, 55 f. : il. ; 29 cm.

Orientador: Jackson Victor de Araújo.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.

Inclui bibliografia.

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

CDD 22. ed. 630.089

GUILHERME COSTA FAUSTO

**FORMULAÇÃO DO FUNGO *Duddingtonia flagrans* EM FARELO DE
ARROZ NO CONTROLE DE NEMATOIDES PARASITOS
GASTRINTESTINAIS DE BOVINOS E EQUINOS**

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

APROVADA: 15 de maio de 2019.



Artur Kanadani Campos



Jose Dantas Ribeiro Filho



Bruna Waddington de Freitas



Emílio Campos Acevedo Nieto



Jackson Victor de Araújo
(Orientador)

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ser meu guia em um caminho tortuoso e cheio de obstáculos, e quando necessário, me carregando no colo.

Aos meus pais, Valéria e Rubens, por me estimularem e investirem nos meus estudos. Além de garantirem todo amor que necessito.

Às minhas irmãs, Cecília e Mariana, pela amizade, companheirismo e suporte nos momentos de dificuldades.

Aos meus filhos, Gabrielle, Emanuel e Mariah, que são o meu amor maior, combustível na minha vida e razão do meu viver.

A minha esposa Eliane, exemplo de determinação e meu porto seguro durante as tormentas de minha jornada. Meu amor puro e incondicional.

Ao meu orientador, professor Jackson Victor de Araújo, pela oportunidade concedida e confiança creditada.

Ao professor Artur Kanadani Campos, pela amizade e conselhos a qualquer dia e hora.

Aos amigos do laboratório: Ademir, José Geraldo (Tuim), Aloizio Carlos (Calzinho), Samuel, Lorendane, Marisa, Isabela, Juliana e Ítalo. Além de todos os colegas, amigos, funcionários e professores do Departamento de Veterinária (DVT).

Ao senhor Fernando e ao Cristian, funcionários do setor de equideocultura da UFV. Amigos que serei sempre grato pelo suporte durante a realização da pesquisa.

À Universidade Federal de Viçosa (UFV), ao Departamento de Veterinária da UFV e ao Programa de pós-graduação em Medicina Veterinária, pelos recursos de infraestrutura, humana e científica concedidas.

Às agências de fomento, FAPEMIG e CNPq e CAPES, pela parceria, custeio de materiais e equipamentos necessários para a execução dos experimentos. Além da Ghenvet Saúde Animal Ltda, por fornecer o *Bioverm*[®] para realização deste estudo.

BIOGRAFIA

Guilherme Costa Fausto, filho de Rubens Fausto da Silva e Valéria Costa da Silva, nasceu em dois de janeiro de 1984, em Viçosa, Minas Gerais. Em dezembro de 2001, concluiu o ensino médio no Colégio Equipe de sua cidade natal. Em 2002, iniciou o curso de Medicina Veterinária na Universidade Federal do Tocantins – Araguaína, TO. Graduou-se médico veterinário em fevereiro de 2008. Em março de 2008, ingressou no curso de Pós-graduação *Lato Sensu* em Clínica e Cirurgia de Grandes Animais, pela Universidade Federal de Viçosa, e no ano seguinte obteve o certificado de especialista nesta área. Em março de 2009, ingressou no Mestrado no Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária, pela Universidade Federal de Santa Maria – RS, e defendeu sua Dissertação em abril de 2011. Em março de 2015 ingressou no Doutorado no Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária, do Departamento de Veterinária da Universidade Federal de Viçosa, submetendo-se à defesa de tese no dia 15 de maio de 2019.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS.....	vi
LISTA DE FIGURAS	viii
RESUMO	ix
ABSTRACT	xi
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	2
2.1. Situação da bovinocultura e equideocultura	2
2.2. Parasitoses gastrintestinais.....	2
2.3. Tratamento anti-helmíntico.....	3
2.4. Controle biológico.....	4
2.5. Fungos nematófagos.....	4
2.5.1. <i>Duddingtonia flagrans</i>	5
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	7
3. OBJETIVOS	11
3.1. Objetivo Geral.....	11
3.2. Objetivos específicos	11
4. HIPÓTESES	12
CAPÍTULO 1	13
RESUMO	14
1. INTRODUÇÃO	15
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	16
2.1. Formulação fúngica.....	16
2.2. Ensaio experimental <i>in vivo</i> com equinos.....	16
2.3. Análise estatística	17
3. RESULTADOS.....	18
3.1. Ganho de peso	18
3.2. Ovos por grama de fezes	19
3.3. Coprocultura.....	19
3.4. Larvas por quilo de matéria seca.....	20
3.5. Influência do clima.....	21
4. DISCUSSÃO.....	22
4.1. Ganho de peso	22
4.2. Ovos por grama de fezes	23

4.3. Coprocultura.....	24
4.4. Larvas por quilo de matéria seca.....	24
4.5. Influência do clima.....	25
5. CONCLUSÃO.....	26
AGRADECIMENTOS	26
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	26
CAPÍTULO 2.....	32
RESUMO	33
1. INTRODUÇÃO	34
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	35
2.1. Formulação fúngica.....	35
2.2. Ensaio experimental <i>in vivo</i> com bovinos de corte.....	36
2.3. Análise estatística.....	37
3. RESULTADOS.....	37
3.1. Ganho de peso.....	37
3.2. Ovos por grama de fezes (OPG).....	39
3.3. Coprocultura.....	40
3.4. Larvas infectantes por quilo de matéria seca.....	41
3.5. Influência do clima.....	45
4. DISCUSSÃO.....	46
4.1. Ganho de peso.....	46
4.2. Ovos por grama de fezes	47
4.3. Coprocultura.....	48
4.4. Larvas por quilo de matéria seca.....	49
4.5. Influência do clima.....	49
5. CONCLUSÃO.....	50
AGRADECIMENTOS	50
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	50
CONCLUSÕES GERAIS	55

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

Tabela 1. Ganho de peso médio diário em quilogramas (Kg/dia), de éguas mestiças Bretãs do grupo controle e tratadas com formulação com *D. flagrans* (*Bioverm*[®]), coletados de abril a outubro de 2016, em Viçosa, Minas Gerais, Brasil.

Tabela 2. Valores médios da contagem de ovos por grama de fezes (OPG) e desvio padrão, do grupo tratado com formulação contendo *D. flagrans* (*Bioverm*[®]) e do grupo controle, coletados de abril a outubro de 2016, em Viçosa, Minas Gerais, Brasil.

Tabela 3. Valores percentuais médios de larvas infectantes de pequenos e grandes estrôngilos recuperadas a partir de fezes de animais pertencentes ao grupo tratado com formulação contendo *D. flagrans* (*Bioverm*[®]) e ao grupo controle, coletados de abril a outubro de 2016, em Viçosa, Minas Gerais, Brasil.

Tabela 4. Valores médios do número de larvas infectantes por quilograma de matéria seca (Kg.MS) recuperadas da pastagem nas distâncias de 0-20cm e 20-40cm do bolo fecal dos grupos controle e tratado com *D. flagrans* (*Bioverm*[®]), coletados de abril a outubro de 2016, em Viçosa, Minas Gerais, Brasil.

CAPÍTULO 2

Tabela 1. Ganho de peso médio diário em quilogramas (Kg/dia), de bovinos de corte, do grupo controle e tratado com *D. flagrans* (*Bioverm*[®]), coletados de outubro de 2015 a setembro de 2016, em Paula Cândido, Minas Gerais, Brasil.

Tabela 2. Valores médios da contagem de ovos por grama de fezes (OPG) e desvio padrão, do grupo tratado com formulação contendo *D. flagrans* (*Bioverm*[®]) e do grupo controle, coletados de setembro de 2015 a setembro de 2016, em Paula Cândido, Minas Gerais, Brasil.

Tabela 3. Valores médios do total de larvas infectantes por quilograma de matéria seca (Kg.MS) recuperadas da pastagem nas distâncias de 0-20cm e 20-40cm do bolo fecal dos grupos controle e tratado com *D. flagrans* (*Bioverm*[®]), coletados de setembro de 2015 a setembro de 2016, em Paula Cândido, Minas Gerais, Brasil.

Tabela 4. Valores médios de larvas infectantes do gênero *Haemonchus* por quilograma de matéria seca (Kg.MS) recuperadas da pastagem nas distâncias de 0-20cm e 20-40cm do bolo fecal dos grupos controle e tratado com *D. flagrans* (*Bioverm*[®]), coletados de setembro de 2015 a setembro de 2016, em Paula Cândido, Minas Gerais, Brasil.

Tabela 5. Valores médios de larvas infectantes do gênero *Cooperia* por quilograma de matéria seca (Kg.MS) recuperadas da pastagem nas distâncias de 0-20cm e 20-40cm do bolo fecal dos grupos controle e tratado com *D. flagrans* (*Bioverm*[®]), coletados de setembro de 2015 a setembro de 2016, em Paula Cândido, Minas Gerais, Brasil.

Tabela 6. Valores médios de larvas infectantes do gênero *Oesophagostomum* por quilograma de matéria seca (Kg.MS) recuperadas da pastagem nas distâncias de 0-20cm e 20-40cm do bolo fecal dos grupos controle e tratado com *D. flagrans* (*Bioverm*[®]), coletados de setembro de 2015 a setembro de 2016, em Paula Cândido, Minas Gerais, Brasil.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1

Figura 1. Precipitação pluviométrica mensal (mm), médias de temperatura (°C) e umidade relativa do ar (%) de abril a outubro de 2016, em Viçosa, Minas Gerais, Brasil.

CAPÍTULO 2

Figura 1. Cálculo de ganho de peso durante todo experimento, sem diferença estatística entre os grupos (Teste t, 5%).

Figura 2. Valores percentuais médios de larvas infectantes recuperadas a partir de fezes de animais pertencentes ao grupo tratado com formulação contendo *D. flagrans* (*Bioverm*[®]) e ao grupo controle, coletados de setembro de 2015 a setembro de 2016, em Paula Cândido, Minas Gerais, Brasil.

Figura 3. Precipitação pluviométrica mensal (mm), médias de temperatura (°C) e umidade relativa do ar (%) de abril a outubro de 2016, em Paula Cândido, Minas Gerais, Brasil.

RESUMO

FAUSTO, Guilherme Costa, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, maio de 2019. **Formulação do fungo *Duddingtonia flagrans* em farelo de arroz no controle de nematoides parasitos gastrintestinais de bovinos e equinos.** Orientador: Jackson Victor de Araújo.

A criação de bovinos e equinos vem crescendo em todo o território nacional, porém um grande obstáculo à criação desses animais é a presença de nematóides parasitos gastrintestinais e pulmonares. Estes são responsáveis por perdas econômicas ao debilitar o animal parasitado, promovendo queda na produtividade, e em alguns casos, podendo levar ao óbito. O controle destes parasitos vem sendo realizado, tradicionalmente, com drogas anti-helmínticas. Contudo, devido ao aparecimento da resistência a esses compostos, muito se tem discutido sobre formas alternativas de controle. Uma alternativa viável e promissora no combate aos nematoides gastrointestinais, que vem sendo estudada, é a utilização de fungos nematófagos. Diante disso, o presente estudo tem por objetivo avaliar os efeitos da utilização do produto *Bioverm*[®] como veiculador da amostra de *D. flagrans*, administrado na dose de 1g da formulação contendo 1×10^5 clamidósporos para cada 10 kg de peso corporal, sobre a carga parasitária em bovinos e equinos. A formulação foi avaliada por meio da contagem de ovos por grama de fezes (OPG), coprocultura e contagem de larvas nas pastagens, além da avaliação do ganho de peso. Em equinos, foi observada influência significativa do *Bioverm*[®] sobre o ganho de peso e OPG. A recuperação de larvas a partir de coproculturas revelou a predominância de pequenos estrôngilos em relação aos grandes estrôngilos. Houve também diferença estatística entre a média dos grupos e no número de larvas de pequenos estrôngilos recuperadas na pastagem. Também foi observada alta correlação entre a quantidade de larvas recuperadas da pastagem e a temperatura média durante o período experimental. No experimento realizado com bovinos, não houve diferença significativa em relação ao ganho de peso médio diário. Em relação ao OPG, na comparação entre os grupos, observou-se nos meses de fevereiro, maio e julho, valores maiores no grupo controle em

relação ao grupo tratado. A recuperação de larvas a partir de coproculturas revelou a predominância de *Haemonchus*, seguido por *Cooperia* e *Oesophagostomum* respectivamente. Não houve diferença significativa no número médio total de larvas recuperadas na pastagem quando comparado os grupos controle e tratados. A análise entre as médias mensais de OPG e os dados de precipitação pluviométrica, umidade relativa do ar e temperatura, demonstrou uma correlação positiva, somente no grupo controle e em relação à temperatura. O uso dos clamidósporos de *D. flagrans* presentes no *Bioverm*[®] demonstrou auxiliar no controle biológico de parasitas gastrointestinais de bovinos e equinos.

ABSTRACT

FAUSTO, Guilherme Costa, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, May, 2019. **Efficacy of *Duddingtonia flagrans* fungus in rice bran in the control of gastrointestinal parasitic nematodes of cattle and horses.** Adviser: Jackson Victor de Araújo.

The cattle and horses production has been growing in Brazil, but the greatest obstacle to this activity is the presence of parasites nematodes gastrointestinal and pulmonary. These are responsible for economic losses by weakening the animal, promoting a fall in production and leading to death. The control of these parasites has been carried out with anthelmintic drugs. However, due to the appearance of resistance to these chemical compounds much has been discussed about alternative forms of control. A viable and promising alternative in the management of gastrointestinal nematodes is the use of nematophagous fungi. Therefore, the present study aims to evaluate the effects of the use of *Bioverm*® product as a carrier of the *D. flagrans* sample, administered in a formulation with rice bran at 1 g for every 10 kg of live weight, on the parasite load in cattle and equines. This formulation was evaluated by counting eggs per gram of feces EPG, coproculture and larval counts in the pastures, in addition to evaluating the weight gain. In horses, during the study, significant influence of the *Bioverm*® on weight gain and EPG was observed. The recovery of larvae from coprocultures revealed the predominance of small strongls in relation to large strongls. There was also a statistical difference between the average of the groups in the number of larvae of small strongls recovered in the pasture. It was also observed a high correlation between the amount of larvae recovered from the pasture and the average temperature during the experimental period. In the experiment with cattle, there was no significant difference to the average daily weight gain. In the comparison of the groups, in the months of February, May and July, the highest values were observed in the control group compared to the treated group. The recovery of larvae from coprocultures revealed the predominance of *Haemonchus*, followed by *Cooperia* and *Oesophagostomum* respectively. There was no significant difference in the total mean number of

larvae recovered in the pasture when compared to the control and treated groups. The correlation between monthly EPG averages and precipitation, relative humidity and temperature data showed a positive correlation, only in the control group and in relation to temperature. The use of *D. flagrans* chlamydospores presente at *Bioverm*® contributed to the biological control of gastrointestinal parasites of cattle and horses.

1. INTRODUÇÃO

Nos sistemas de produção de animais criados a campo, o parasitismo por nematoides parasitos gastrintestinais é um fator limitante (Waghorn et al., 2003). Por retardar o crescimento dos animais, diminuir a produção de leite e os índices reprodutivos, dentre outros, este é um dos maiores empecilhos ao desenvolvimento econômico da pecuária brasileira, resultando em prejuízos significativos na produção de bovinos (Stromberg et al., 2012). Também, os equinos são acometidos por diversos nematoides estrogilídeos, que representam um grupo importante no Brasil, tanto pela sua alta prevalência como também pelos desafios ao sistema imune do animal, frente à parasitose (Anjos e Rodrigues, 2006).

Fatores como as condições climáticas influenciam diretamente nas características das pastagens, criando condições propícias ao desenvolvimento de formas infectantes dos nematoides parasitos gastrintestinais (Araújo et al., 1996). Vermifugações com drogas antiparasitárias apresentam-se como principal forma de controle. Entretanto, o uso intensivo desses fármacos, agravado pela facilidade que o produtor tem em adquirir tais medicamentos, somado à administração, muitas vezes errônea dos mesmos, contribui para seleção de parasitos resistentes (Molento, 2004; Araújo et al., 2007). Diante disso, medidas alternativas que possam auxiliar no controle das parasitoses animais têm sido consideradas cada vez mais importantes. Dentre elas, o controle biológico por fungos nematófagos tem se destacado como uma estratégia efetiva, no controle de nematoides parasitos gastrintestinais em animais de produção (Giroto et al., 2008; Braga et al., 2011).

Apesar de existirem estudos utilizando isolados e associações de fungos nematófagos, não existem dados referentes ao fornecimento de tais fungos através de uma formulação à base de farelo de arroz, que poderá ser fornecida diariamente, juntamente com a suplementação mineral ou através da alimentação concentrada contendo o *Duddingtonia flagrans*.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Situação da bovinocultura e equideocultura

A bovinocultura é um dos principais destaques do agronegócio brasileiro no cenário mundial, uma vez que o país possui atualmente, o segundo maior rebanho bovino, com aproximadamente 211,2 milhões de cabeças. Dentro do país, o estado de Minas Gerais destaca-se como o terceiro maior produtor com cerca de 24,2 milhões de animais. Tal setor proporciona o desenvolvimento de dois segmentos lucrativos: as cadeias produtivas da carne e leite. O valor bruto da produção desses dois segmentos, estimado em R\$ 67 bilhões, aliado a presença da atividade nos demais estados brasileiros, evidenciam a importância econômica da atividade no país (IBGE, 2013).

Em relação a equideocultura, estima-se que atualmente no Brasil existam cerca de 7,793 milhões de cabeças, sendo 5.514 milhões de equinos, 1.002 milhões de asininos e 1.277 milhões de muares, permitindo que o país ocupe a quarta posição em população de equinos, perdendo somente para Estados Unidos, China e México. Nas últimas décadas estes números vêm crescendo significativamente, principalmente nas Regiões Nordeste (24,8%), Sudeste (24,6%) e Centro-Oeste (20,4%). Na Região Nordeste, o crescimento efetivo encontra-se no Estado da Bahia (10,6%); no Sudeste, Minas Gerais tem 14,3% desses animais, e no Centro-Oeste, Goiás detém 9,1% dos equinos (IBGE, 2013). Atualmente, o complexo do agronegócio do cavalo gera em torno de 640 mil empregos diretos e 3,2 milhões de empregos indiretos, movimentando cerca de R\$ 7,5 bilhões ao ano (Lima et al., 2012). Alguns mercados também se destacam nesse complexo, como o comércio de insumos, produtos e serviços para a criação, medicamentos, rações, selas e acessórios, ferrageamento, veterinários e treinadores, transporte de equinos e centros de ensinios, movimentando anualmente cerca de R\$ 705 milhões (Lima et al., 2006).

2.2. Parasitoses gastrintestinais

As helmintoses gastrintestinais de ruminantes são um fator de grande impacto na bovinocultura, uma vez que animais acometidos desencadeiam

prejuízos na cadeia produtiva. Dentre os impactos, são observados retardos no crescimento e desempenho dos animais, podendo em certos casos levar até mesmo a óbito. Os bovinos podem ser acometidos por diversas espécies de nematoides estrongilídeos, com destaque para o *Haemonchus*; *Trichostrongylus*; *Cooperia*; *Ostertagia*; *Oesophagostomum* e *Strongyloides* (Urquhart et al., 2008; Vieira et al., 2009).

No sudeste do Brasil, os nematoides mais prevalentes em bovinos são o *Cooperia* e *Haemonchus*, seguidos pelo gênero *Oesophagostomum* (Araújo et al., 1998). O *Haemonchus placei* é a principal espécie do gênero, considerado um dos parasitos de maior ocorrência no Brasil, com altas taxas de morbidade. Possui hábitos hematófagos de alimentação que produz lesões na mucosa do abomaso levando a perdas de sangue e plasma para a luz intestinal. A hipoproteinemia e anemia aguda em animais jovens podem causar a morte em quadros de infecções maciças.

Dentre os principais estrongilídeos que parasitam equinos, a subfamília Cyathostominae é a mais prevalente, com mais de um milhão e duzentas mil espécimes de ciatostomíneos registrados em animais parasitados, que causam grandes prejuízos à saúde animal (Anjos e Rodrigues, 2006).

Resultados de pesquisas realizadas a campo sugerem que os equinos adquirem resistência aos pequenos estrongilídeos com a idade, verificados através da redução da carga parasitária e a contagem de ovos nas fezes. Essa resposta, porém, é lenta e inconsistente na maioria dos animais, além de não apresentar relação com a intensidade do contato parasitário anterior (Assis e Araújo, 2003; Anjos e Rodrigues, 2006).

2.3. Tratamento anti-helmíntico

O controle das parasitoses em bovinos vem sendo realizado, na maioria das vezes, por meio de drogas anti-helmínticas. Entretanto, essas drogas não têm sido totalmente eficazes uma vez que o uso indiscriminado e incorreto vem favorecendo a seleção de cepas resistentes de nematoides (Amarante, 2008; Araújo et al., 2007; Soutello et al., 2007).

Em equinos, o controle das verminoses por meio de drogas, também não têm sido totalmente eficazes, devido à sua ação restrita aos parasitos adultos. A baixa eficiência de drogas como benzimidazóis devido à resistência parasitária, associado a dificuldade em se elaborar novas formulações químicas com eficiência significativa; e a ecotoxicidade de alguns compostos tem sido responsáveis pelo desenvolvimento de técnicas alternativas de controle de endoparasitoses (Bird e Herd, 1995; Mota et al, 2003).

2.4. Controle biológico

Nas pesquisas de novas alternativas para o controle das helmintoses de bovinos e equinos, destacam-se o desenvolvimento de vacinas, manejo de pastagens, seleção de animais geneticamente resistentes, modificações em dietas e o controle biológico. Neste último, antagonistas naturais atuam na redução de uma população de pragas que causam perdas econômicas significativas. Assim, dentre os mais variados antagonistas de nematoides, destacam-se organismos como bactérias, protozoários, vírus, fungos entre outros, sendo os fungos nematófagos aqueles que apresentam melhores desempenhos em pesquisa de controle biológico de nematóides (Araújo et al., 2004; Maciel et al., 2006).

O controle biológico utilizando de fungos nematófagos surge como uma alternativa promissora no combate as helmintoses gastrointestinais, sendo capaz de predação os estágios de vida livre dos nematoides, reduzindo assim a quantidade de larvas disponíveis no ambiente em que os animais se alimentam e conseqüentemente sua reinfecção (Araújo et al., 2004; Braga et al., 2011). O uso desses fungos não busca abolir a utilização de anti-helmínticos, mas, sim realizar o controle de maneira sinérgica, reduzindo a quantidade utilizada (Larsen, 1999).

2.5. Fungos nematófagos

Fungos nematófagos, são encontrados em todas as partes do mundo e ocorrem em solos de todos os tipos e em qualquer matéria orgânica em

decomposição presente nestes meios (Van Ooij, 2011). Eles atuam em parasitas na sua fase no ambiente e em outros nematoides não parasitos de vida livre. Uma forma de dispersão eficaz para a manutenção de seus hábitos seria através de sua eliminação juntamente com as fezes dos hospedeiros. Para isso é necessário que este fungo resista a passagem através do trato gastrointestinal (Larsen et al., 1992).

Conforme sua forma de atuar sobre as larvas, esses fungos são divididos em três grupos: Os *fungos endoparasitas* que agem penetrando a cutícula ou sendo ingeridos pelos hospedeiros, e em seu interior desenvolvem hifas vegetativas que drena os constituintes internos (Nordbring-Hertz et al., 2006).

Os *fungos oportunistas* ou *ovicidas* que colonizam ovos e suas larvas em desenvolvimento, penetrando através da casca por minúsculos poros. Como consequência disto, ocorre o desenvolvimento das hifas internamente, levando a alterações de permeabilidade da casca (Braga e Araújo, 2014).

Os *fungos predadores* são os mais testados sobre os nematoides que parasitam animais de produção. Eles produzem uma serie de armadilhas como redes tridimensionais adesivas, botões, hifas, anéis constritores e não constritores ao longo do micélio para apreender os nematoides. A formação de tais armadilhas depende do estímulo do próprio parasito ou de outras matérias biológicas provenientes dos nematoides ou através provocado por restrição hídrica ou de nutrientes. Uma vez capturado nematoide, este tem sua cutícula penetrada e seu conteúdo interno digerido pelas hifas que se desenvolvem em seu interior (Braga e Araújo, 2014).

2.5.1. *Duddingtonia flagrans*

O gênero *Duddingtonia* tem como principal característica a produção de vários conídios que variam em formas elípticas a ovoides com septo medial, nas extremidades dos conidióforos (Van Oorschot, 1985).

O *Duddingtonia flagrans* é a espécie de fungo mais estudada no controle das helmintoses gastrintestinais dos animais domésticos. Ela caracteriza-se por produzir conídios na extremidade dos conidióforos e produzirem grande

quantidade de clamidósporos em matéria seca (Van Oorschot, 1985). Essa espécie possuem hifas adesivas, produzem conídios com morfologia de 25-50 μm de comprimento por 10-15 μm de largura (Cooke e Godfrei, 1964).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Amarante, A. F. T. Fatores que afetam a resistência dos ovinos à verminose. In: Cecília José Veríssimo. (Org.). **Alternativas de controle da verminose em pequenos ruminantes**. Nova Odessa: IZ, p. 15-21. 2008.

Anjos, D. H. S.; Rodrigues, M. L. A. Diversity of the infra communities of strongylid nematodes in the ventral colon of *Equus caballus* from Rio de Janeiro state, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 136, n. 3-4, p. 251-257, 2006.

Araújo, J.V.; Neto, A.P.; Azevedo, M.H.F. Screening parasitic nematodetrapping fungi *Arthrobotrys* for passage through the gastrointestinal tract of calves. **Arquivos Brasileiros de Veterinária e Zootecnia**, v. 48, p.543-552, 1996.

Araújo, J.V.; Gomes, A.P.S.; Guimarães, M.P. Biological control of bovine gastrointestinal nematode parasites in southeastern Brazil by the nematode-trapping fungus *Arthrobotrys robusta*. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 7, n. 2, p. 117-122, 1998.

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

Araújo, J.V.; Rodrigues, M.L.A.; Silva, W.W.; Vieira, I.S. Controle biológico de nematóides gastrintestinais de caprinos em clima semi-árido pelo fungo *Monacrosporium thaumasium*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 42, n. 8, p. 1177-1181, 2007.

Assis, R.C.L.; Araújo, J.V. Avaliação da viabilidade de duas espécies de fungos predadores do gênero *Monacrosporium* sobre ciatostomíneos após a passagem pelo trato gastrintestinal de eqüinos em formulação de alginato de sódio. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 12, n. 3, p. 109-113, 2003.

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, n. 3, p. 181-187, 1995.

Braga, F.R.; Araujo, J.M.; Silva, A.R.; Araujo, J.V.; Carvalho, R.O.; Tavela, A.O.; Silva, M.E.; Fernandes, F.M.; Melo, A.L. Destruição de larvas infectantes de *Strongyloides venezuelensis* pelos fungos *Duddingtonia flagrans*, *Arthrobotrys robusta* e *Monacrosporium sinense*. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 44, n. 3, p. 389-391, 2011.

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.

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.

Giroto, M.J.; Aquino, L.F.B.; Perez, R.B.; Neves, M.F.; Sacco, S.R. O uso de fungos nematófagos no controle biológico de nematódeos parasitas: Revisão de literatura. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, v. 6, n. 10, p. 1-7, 2008.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE. **Censo Agropecuário**. 2013. Disponíveis em:<<http://www.ibge.gov.br/home>>. Acesso em 17/12/2015

Larsen, M.; Wolstrup, J.; Henriksen, S.A.; Gronvold, J.; Nansen, P. In vivo passage through calves of nematophagous fungi selected for biocontrol of parasitic nematodes. **Journal of Helminthology**, v.66, n.2, p.137-141, 1992.

Larsen, M. Biological control of helminthes. **International Journal for Parasitology**, v.29, n.1, p.139-146, 1999.

Lima, R.A.S.; Shiota, R.; Barros, G.S.C. **Estudo do complexo do agronegócio cavalo**. Piracicaba: ESALQ/USP, 2006. 250p.

Lima, R. A. S.; Oliveira, R. A. Mendes, C. Q.; Júnior, P. G. **Perfil e Tendências da Equideocultura Brasileira**. Anais da 49ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia. A produção animal no mundo em transformação. Brasília, 23 a 26 de julho de 2012.

Maciel, A.S.; Araújo, J.V.; Campos, A.K. Viabilidade sobre larvas infectantes de *Ancylostoma* spp dos fungos nematófagos *Arthrobotrys robusta*, *Duddingtonia flagrans* e *Monacrosporium thaumasium* após esporulação em diferentes meios de cultura. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 15, n. 1, p. 182-187, 2006.

Molento, M.B. Resistência de helmintos em ovinos e caprinos. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.13, supl. 1, p. 82-87, 2004.

Mota, M.A.; Campos, A.K.; Araújo, J.V. Controle biológico de helmintos parasitos de animais: estágio atual e perspectivas futuras. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.23, n.3, p.93-100, 2003.

Nordbring-Hertz, B.; Jansson, H.B.; Tunlid, A. Nematophagous Fungi. In: **Encyclopedia of Life Science(c)**. Weinheim: Macmillan Publishers Ltd, Nature Publishing, p. 1-11, 2006.

Soutello, R.G.; Seno, M.C.; Amarante, A.F. Anthelmintic resistance in cattle nematodes in northwestern São Paulo State, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v.148, p.360-364, 2007.

Stromberg, B.E.; Gasbarre, L.C.; Waite, A.; Bechtol D.T.; Brown, M.S.; Robinson, N.A.; Olson, E.J.; Newcomb, H. *Cooperia punctata*: effect on cattle productivity? **Veterinary Parasitology**, v.183, p.284- 291, 2012.

Urquhart, G.M.; Armour, J.; Duncan, J.L.; Dunn, A.M.; Jennings F.W. Helminthologia Veterinária. In: Urquhart, G.M.; Armour, J.; Duncan, J. L.; Dunn, A.M.; Jennings, F.W. **Parasitologia Veterinária**, 2a ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. p. 1-120.

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

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.

Vieira, L.S.; Lôbo, R.N.V.; Cavalcante, A.C.R.; Neves, M.R.M.; Navarro, A.M.C.; Benvenuti, C.L.; Zaros, L.G. Panorama mundial dos métodos de controle de endoparasitoses. **4º Simpósio Internacional Sobre Caprinos e Ovinos de**

Corte. Feira Nacional do Agronegócio da Caprino-Ovinocultura de Corte.
João Pessoa – Paraíba – Brasil, 22p, 2009.

Waghorn, T.S.; Leathwick, D.M.; Chen, L.Y.; Skipp, R.A. Efficacy of the nematode-trapping fungus *Duddingtonia flagrans* against three species of gastrointestinal nematodes in laboratory faecal cultures from sheep and goats. **Veterinary Parasitology**, v.118, n.4, p. 227- 234, 2003.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo Geral

Avaliar a eficácia do fungo *Duddingtonia flagrans* presente no *Bioverm*[®], administrado diariamente por via oral, como alternativa de controle biológico de nematoides em bovinos jovens e equinos criados a campo nas condições ambientais existentes no município de Paula Cândido e Viçosa, respectivamente.

3.2. Objetivos específicos

3.2.1. Avaliar a evolução da carga parasitária de bovinos e equinos após a administração do *Bioverm*[®].

3.2.2. Correlacionar a contagem de ovos por grama de fezes de bovinos e equinos, e larvas infectantes recuperadas da pastagem, após a administração do *Bioverm*[®] em bovinos e equinos.

3.2.3. Acompanhar o ganho de peso dos animais ao longo do tratamento.

4. HIPÓTESES

4.1. A formulação do *Bioverm*[®] contendo o fungo *Duddingtonia flagrans* será capaz de controlar as larvas infectantes de estrogilídeos na pastagem de bovinos de corte e equinos.

4.2. A formulação do *Bioverm*[®] será capaz de reduzir a contagem de ovos por grama de fezes de bovinos de corte e equinos.

4.3. Será possível observar a influência do clima sobre a contagem de ovos por grama de fezes, e larvas infectantes de bovinos e equinos, recuperadas na pastagem.

CAPÍTULO 1

Formulação do fungo nematófago *Duddingtonia flagrans* no controle de nematoides parasitos gastrintestinais de equinos

RESUMO

As nematodioses gastrintestinais dos equinos contribuem para a menor produtividade destes animais. Há relatos crescentes do surgimento de nematóides resistentes aos princípios ativos usados há décadas nos tratamentos com anti-helmínticos. Uma alternativa ao aparecimento de resistência pode ser a utilização de fungos nematófagos como método complementar ao tratamento. Diante disso, o objetivo foi avaliar os efeitos da utilização do produto *Bioverm*[®] como veiculador da amostra de *Duddingtonia flagrans*, sobre o nível de infestação da pastagem e a carga parasitária de equinos. Foram utilizadas 16 éguas, divididas em dois grupos, sendo um controle e outro tratado, no qual os animais receberam a dose de 1g do *Bioverm*[®], contendo 10⁵ clamidósporos por grama do produto comercial, para cada 10 kg de peso corporal, diariamente, por seis meses. A eficácia foi avaliada por meio da contagem de ovos por grama de fezes (OPG), coprocultura e contagem de larvas nas pastagens, e sua correlação com o clima, além da avaliação do ganho de peso. Durante o estudo, foi observada influência significativa da formulação sobre o ganho de peso e OPG. A recuperação de larvas a partir de coproculturas revelou a predominância de pequenos estrôngilos em relação aos grandes estrôngilos. Houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre as médias do número de larvas de pequenos estrôngilos recuperadas na pastagem a uma distância de 0-20 cm dos grupos tratado e controle. Também foi observada correlação entre o número de larvas recuperadas da pastagem e a temperatura média durante o período experimental, principalmente nos meses de agosto e setembro. Assim, O controle biológico utilizando o fungo *D. flagrans* presente no produto *Bioverm*[®], auxiliou o controle de nematóides gastrointestinais de equinos a campo.

Palavras-chave: Clamidósporos; controle biológico; fungos helmintófagos; fungos nematófagos; verminoses.

1. INTRODUÇÃO

Os equinos podem ser acometidos por diversos nematóides. Entre eles, os strongilídeos, representam um grupo importante, tanto pela alta prevalência como também pelos desafios que provoca ao sistema imune (Lester et al., 2013; Peregrine et al., 2014). Eles podem afetar gravemente a saúde do animal, levando à diminuição da produtividade (Owen e Slocombe, 1985; Love et al., 1999; Quinelato et al., 2008; Stromberg et al., 2012).

Os ciatostomíneos, também chamados de pequenos estrôngilos, são os nematóides mais prevalentes e patogênicos de eqüinos e estão presentes em todo o mundo (Kaplan e Vidyashankar, 2012; Lester et al., 2013). Esta situação foi estimulada, principalmente, pela ampla utilização de drogas anti-helmínticas que, em sua maioria, são voltadas para o controle de grandes estrôngilos, em especial o *Strongylus vulgaris* (Brady e Nichols, 2009; Nielsen et al., 2012).

Diante da crescente resistência aos anti-helmínticos, o emprego de métodos complementares de controle de parasitos gastrintestinais vem sendo avaliados (Kaplan e Nielsen, 2010; Nielsen et al., 2014). Entre eles, o controle biológico por fungos nematófagos apresenta-se como um método viável para a redução populacional das fases de vida livre dos strongilídeos (Healey et al., 2018; Hernández et al., 2018; Vilela et al., 2018). Dentre as espécies estudadas, *Duddingtonia flagrans* têm se destacado no controle das helmintoses gastrintestinais dos animais domésticos (Braga et al., 2010). Este fungo caracteriza-se por produzir grande quantidade de clamidósporos (Van Oorschot, 1985). Tais estruturas, uma vez ingeridas, passam pelo trato gastrintestinal e são expelidas nas fezes. No ambiente, a presença de larvas infectantes no bolo fecal, bem como a presença de nematoides de vida livre, estimulam a germinação dos clamidósporos, crescimento fúngico e formação das armadilhas que predam as formas de vida livre dos parasitos (Castro et al., 2003; Paz-Silva et al., 2011; Paraud et al., 2012).

A utilização de fungos nematófagos para o controle de nematoides parasitos gastrintestinais tem sido realizada principalmente pela administração de péletes por via oral. Esta formulação tem se mostrado eficaz, tanto no aspecto

econômico tanto como no biológico, por promover uma proteção e permitir que estes organismos sejam dispersos no meio ambiente (Braga e Araújo, 2014).

Contudo, faz-se necessária uma maneira mais prática de veicular o fungo, associado à dieta ou à suplementação mineral do animal. Diante disso, o objetivo foi avaliar os efeitos da utilização do produto *Bioverm*[®] como veiculador da amostra de *D. flagrans*, no controle de estrogilídeos parasitos de equinos.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Formulação fúngica

Foi utilizado o produto *Bioverm*[®] (Ghenvet Saúde Animal, Paulínia, SP), contendo 10^5 clamidósporos por grama do produto comercial, como veiculador da amostra de *D. flagrans*. O produto é comercializado na forma de pó de fina granulometria, embalados em sacos de polipropileno de cor cristal, hermeticamente lacrados e mantidos em temperatura ambiente ao abrigo da luz solar direta.

2.2. Ensaio experimental *in vivo* com equinos

Foram utilizados 16 equinos, fêmeas com idade de 2 a 10 anos, com peso corporal entre 150 e 450 kg, mestiças Bretãs, do setor de Equideocultura do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa (latitude 20°44'58.65"S, longitude 42°51'10.54"O) durante o período de abril a setembro de 2016. Os animais foram previamente tratados com associação de anti-helmínticos a base de ivermectina 1,55% e praziquantel 7,75%, na dose de 1g/100kg de peso corporal. Após 15 dias, os animais foram pesados e divididos com base nas médias de idade e peso, em 2 grupos contendo 8 animais em cada, separados e alojados em piquetes diferentes, com área de 0,5 hectare cada, composto por pastagem formada por *Cynodon dactylon* Tifton 85. No grupo tratado cada animal recebeu, diariamente às oito horas da manhã e em cocho individual, 1g do *Bioverm*[®] contendo 1×10^5 clamidósporos do *D. flagrans*,

para cada 10 kg de peso corporal. A mesma dose foi administrada para os animais do grupo controle, porém com farelo de arroz sem o fungo.

Após a introdução dos animais nos piquetes, coletas de fezes foram realizadas quinzenalmente, diretamente da ampola retal de todos os animais. Para determinação da contagem de ovos por grama de fezes (OPG), conforme a técnica modificada de Gordon e Whitlock (1939), e da coprocultura de acordo com Lima (1989) para contagem e identificação de larvas. Para a quantificação de larvas infectantes por Kg de matéria seca (L3/Kg.MS) a cada 15 dias, no período da manhã, amostras de pastagem foram coletadas nas distâncias de 0-20 e 20-40 cm do bolo fecal, segundo metodologia proposta por Raynaud e Gruner (1982), contadas e identificadas segundo Bevilaqua et al. (1993). A cada trinta dias os animais foram pesados, sempre as oito horas da manhã, para avaliação de ganho de peso e ajuste da dosagem das formulações. O cálculo do ganho de peso diário médio foi realizado através da fórmula: (peso bruto no mês atual - peso bruto no mês anterior) / número de dias transcorridos entre as pesagens.

Foram registrados, diariamente, os dados meteorológicos, colhidos em estação especializada na região de Viçosa-MG, referentes às médias mensais das temperaturas máxima e mínima, à umidade relativa do ar e às precipitações pluviais. Esse ensaio experimental seguiu rigorosamente todos os procedimentos recomendados pelas normas de conduta para o uso de animais e certificado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA/UFV) pelo processo nº 75/2016.

2.3. Análise estatística

As médias referentes ao ganho de peso médio diário dos animais foram submetidos ao Teste t de Student. Os valores do OPG foram transformados para Log (X+1) e submetidos ao Teste t de Student para comparações entre as médias mensais de OPG dos grupos tratado e controle e ao Teste de Tukey para comparações entre as médias mensais de OPG do mesmo grupo. A contagem de pequenos e grandes estrôngilos foram avaliados por análise de variância para

medidas repetidas, seguida pelo Teste de Tukey. Foram realizadas Regressões Polinomiais entre as médias mensais dos valores de larvas recuperadas nas coletas das amostras no pasto e os dados climáticos. Para todos os testes foi considerado o nível de significância de 5%.

3. RESULTADOS

3.1. Ganho de peso

Em relação ao ganho de peso médio diário em quilogramas (Kg/dia), foi observada diferença estatística significativa ($p < 0,05$) no mês de abril e na média de todo período experimental, onde o peso dos animais do grupo tratado com o *Bioverm*[®] foi maior que no grupo controle (Tabela 1).

Tabela 1. Ganho de peso médio diário em quilogramas (Kg/dia), de éguas mestiças Bretãs do grupo controle e tratadas com formulação com *D. flagrans* (*Bioverm*[®]), coletados de abril a outubro de 2016, em Viçosa, Minas Gerais, Brasil.

Mês	Controle		Tratado	
	GPD (Kg/dia)	DP	GPD (Kg/dia)	DP
Abril	0,66 a	0,41	1,13 b	0,43
Mai	0,36 a	0,43	0,51 a	0,23
Junho	-0,67 a	0,43	-0,39 a	0,38
Julho	0,29 a	0,60	0,63 a	0,22
Agosto	0,31 a	0,79	0,04 a	0,27
Setembro	-0,80 a	1,03	-0,21 a	0,26
Outubro	0,38 a	0,26	0,27 a	0,37
Média	0,07 a	0,13	0,29 b	0,08

Linhas: Teste t de Student, $p < 0,05$, letras minúsculas diferentes indicam diferença estatística entre os dados. GPD: ganho de peso diário; DP: Desvio Padrão.

3.2. Ovos por grama de fezes

Na Tabela 2 encontram-se os valores médios de OPG, sendo possível observar que os resultados do grupo controle foram maiores em relação ao tratado nos meses de maio, junho, agosto, setembro e outubro de 2016. Avaliando separadamente o período experimental, apenas em abril foi observada diferença estatística entre as médias de OPG dos grupos tratados e controle. Também em abril, os dados foram diferentes estatisticamente aos meses seguintes no grupo controle ($p < 0,05$).

Tabela 2. Valores médios da contagem de ovos por grama de fezes (OPG) e desvio padrão, do grupo tratado com formulação contendo *D. flagrans* (*Bioverm*[®]) e do grupo controle, coletados de abril a outubro de 2016, em Viçosa, Minas Gerais, Brasil.

Mês	Controle		Tratado	
	OPG*	DP	OPG*	DP
Abril	181,25 a A	265,84	343,75 b A	172,04
Mai	1193,75 a B	710,35	781,25 a A	355,51
Junho	1118,75 a B	734,33	762,50 a A	523,55
Julho	662,50 a B	458,06	1025,00 a A	1350,93
Agosto	1156,25 a B	794,37	512,50 a A	529,66
Setembro	1006,25 a B	712,86	693,75 a A	376,49
Outubro	1287,50 a B	1483,66	650,00 a A	728,99

Linhas: Teste t de Student, $p < 0,05$, letras minúsculas diferentes indicam diferença estatística entre os dados. Colunas: Tukey, $p < 0,05$, letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística entre os dados. DP: desvio-padrão*Valores transformados para Log (X+1) para análise estatística e valores brutos descritos na tabela.

3.3. Coprocultura

Não houve diferença significativa em relação à presença de pequenos e grandes estrôngilos recuperadas da coprocultura ($p > 0,05$). A presença de pequenos estrôngilos foi predominante maior durante todo o período observado,

enquanto que para grandes estrôngilos as quantidades recuperadas foram extremamente baixas, em ambos os grupos (Tabela 3).

Tabela 3. Valores percentuais médios de larvas infectantes de pequenos e grandes estrôngilos recuperadas a partir de fezes de animais pertencentes ao grupo tratado com formulação contendo *D. flagrans* (*Bioverm*[®]) e ao grupo controle, coletados de abril a outubro de 2016, em Viçosa, Minas Gerais, Brasil.

Mês	Pequenos Estrongilos				Grandes Estrongilos			
	Controle	DP	Tratado	DP	Controle	DP	Tratado	DP
Abr	99,50 a	1,22	99,74 a	0,74	0,50 A	1,22	0,26 A	0,74
Mai	98,94 a	0,78	99,31 a	0,75	1,06 A	0,78	0,69 A	0,75
Jun	99,31 a	0,84	99,75 a	0,53	0,69 A	0,84	0,25 A	0,53
Jul	97,38 a	2,84	97,56 a	3,28	2,63 A	2,84	2,44 A	3,28
Ago	98,69 a	1,77	98,13 a	2,05	1,31 A	1,77	1,88 A	2,05
Set	89,06 a	4,81	84,94 a	10,07	10,94 A	4,81	15,06 A	10,07
Out	92,50 a	4,75	86,88 a	12,89	7,50 A	4,75	13,13 A	12,89

Comparações em pares feitas entre pequenos estrongilos. (tratado X controle, letras minúsculas) e grandes estrongilos. (tratado X controle, letras maiúsculas). Linhas: Teste t de Student, $p < 0,05$, letras minúsculas/maiúsculas diferentes indicam diferença estatística entre os dados. Dados em %. DP: desvio-padrão

3.4. Larvas por quilo de matéria seca

As médias do número de larvas recuperadas a distância de 0 a 20 cm do bolo fecal nos grupos diferiram significativamente ($p \leq 0,05$), onde a média do número de larvas infectantes do grupo controle foi maior que o tratado, conforme Tabela 4. O resultado se deve a diferença significativa na média do número de larvas de pequenos estrôngilos recuperados, que foi de 607,82 L3/Kg.MS no grupo controle e 192,84 L3/Kg.MS no grupo tratado com o *Bioverm*[®].

Tabela 4. Valores médios do número de larvas infectantes por quilograma de matéria seca (Kg.MS) recuperadas da pastagem nas distâncias de 0-20cm e 20-40cm do bolo fecal dos grupos controle e tratado com *D. flagrans* (Bioverm®), coletados de abril a outubro de 2016, em Viçosa, Minas Gerais, Brasil.

	Total Larvas (larvas/KgMS)			
	Larvas/Kg.MS (20 cm)		Larvas/Kg.MS 40 cm)	
	Grupo Controle	Grupo Tratado	Grupo Controle	Grupo Tratado
Abril	658,93	499,19	1693,18	757,58
Mai	336,51	48,37	156,87	36,73
Junho	620,28	118,45	236,44	12,82
Julho	431,45	100,62	109,48	23,85
Agosto	681,05	238,57	329,55	122,95
Setembro	940,15	268,79	671,74	97,22
Outubro	969,23	163,04	652,17	92,11
Média	662,51 A	205,29 B	549,92 C	163,32 C

Letras diferentes na mesma linha indicam diferença estatística ($p \leq 0,05$).

3.5. Influência do clima

Os dados climáticos estão representados na Figura 1. Durante o período estudado não houve correlação entre o número de larvas recuperadas na pastagem com a precipitação pluviométrica e umidade relativa do ar ($p > 0,05$). Entretanto, o número de pequenos e grandes estrôngilos recuperados, nas distâncias de 0-20 e 20-40 cm do bolo fecal, apresentou alta correlação positiva com a temperatura média ($p < 0,05$).

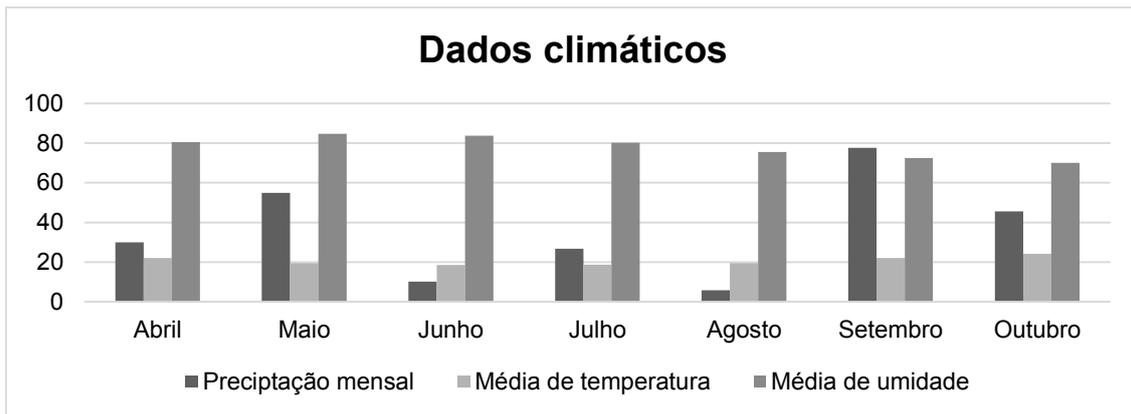


Figura 1. Precipitação pluviométrica mensal (mm), médias de temperatura (°C) e umidade relativa do ar (%) de abril a outubro de 2016, em Viçosa, Minas Gerais, Brasil.

4. DISCUSSÃO

4.1. Ganho de peso

Na avaliação do ganho de peso médio diário ao longo de todo estudo, o ganho de peso do grupo tratado com o *Bioverm*[®] foi maior em relação ao controle. Ao se considerar os dados de OPG, é possível verificar que estes foram numericamente, na maioria dos meses, menores no grupo tratado. Dessa maneira, o maior ganho de peso médio diário pode ser justificado por uma menor carga parasitária dos animais. Esse resultado corrobora com Lyons et al. (2000), que afirmam que a perda de peso é uma das consequências do parasitismo por ciatostomíneos, devido a espoliação provocada no hospedeiro. Assim, entende-se que à medida que a carga parasitária dos animais é reduzida, os animais tendem a recuperar sua condição corporal.

Braga et al. (2009), observaram diferença significativa no ganho de peso entre os grupos tratado com o fungo nematófago *D. flagrans* em relação ao grupo controle, em experimento realizado com equinos a campo. Este resultado também está em acordo com os achados registrados neste estudo, onde foi possível observar diferença significativa no ganho de peso médio diário durante todo período avaliado. Entretanto o presente trabalho não corrobora com estudo realizado por Tavela et al. (2010) que, ao comparar o controle de ciatostomíneos resistentes à ivermectina e pamoato de pirantel em equinos, utilizando o fungo

nematóforo *Monacrosporium thaumasium*, não observou diferença no ganho de peso entre os grupos.

4.2. Ovos por grama de fezes

Em relação aos valores de OPG, no presente estudo houve diferença significativa entre o grupo tratado e o grupo controle ($p < 0,05$) apenas no primeiro mês avaliado. Esse resultado pode estar relacionado com ineficácia da ivermectina administrada no início do experimento, em agir sobre formas encistadas de larvas infectantes, que podem ser ingeridas ou se alojarem nos tecidos do trato digestório, como nas criptas de Lieberkühn (Cullinane et al., 2006; Xiao et al., 1994). Cabe ressaltar que com a utilização de fungos nematóforos, não se espera redução do OPG nos primeiros meses já que tal diminuição é resultado da diminuição da infestação da pastagem, que se tornará menor ao longo do período de tratamento.

Além de abril, em julho os dados de OPG também foram menores no grupo controle em relação ao grupo tratado. Esse resultado corrobora com os dados encontrados por Larsen et al. (1996), que ao estudar a capacidade preventiva do *D. flagrans* contra estrongilídeos em equinos criados de forma extensiva não encontraram variações significativas na média de OPG durante os primeiros noventa dias de estudo. Além disso, em um experimento semelhante, realizado por Braga et al. (2009), avaliando a utilização de *D. flagrans* no controle biológico de ciatostomíneos em éguas criadas a pasto, só foi possível observar diferença significativa nos valores de OPG a partir do terceiro mês de estudo.

Nota-se nos últimos três meses de experimento, uma maior diferença numérica dos valores de OPG entre os grupos tratado com o *Bioverm*[®] e controle. Desta forma, se a tendência se mantivesse, o prolongamento do período experimental poderia resultar em diferenças estatísticas nos valores de OPG entre os grupos experimentais.

4.3. Coprocultura

Na coprocultura, a prevalência de pequenos estrôngilos foi maior em relação aos grandes estrôngilos, sendo este grupo predominante durante todo o período observado. Esta distribuição já é esperada, uma vez que os pequenos estrôngilos são mais resistentes as medicações anti-helmínticas disponíveis no mercado, como é o caso da ivermectina utilizada no início deste experimento. A de se ressaltar que o período pré patente dos grandes estrôngilos é longo, diminuindo assim a velocidade de reinfecção. Larsen et al. (1996), observaram menor número de larvas recuperadas em coprocultura de potros tratados com 5×10^6 clamidósporos do fungo *D. flagrans* por quilograma de peso corporal do que em potros não tratados. Redução de larvas recuperadas de 98,4% foram observados em estudos realizados com equinos confinados por Fernandez et al. (1999), utilizando a dose de 1×10^6 clamidósporos do mesmo fungo, por quilograma de peso corporal. Além disso, quantidades significativamente menores de larvas recuperadas em coproculturas de éguas tratadas com o *D. flagrans* foram igualmente observados por Braga et al. (2009), a partir do terceiro ao sexto meses de estudo, com percentagens de redução acima de 50%. Todavia, este último autor não especificou a dose utilizada.

4.4. Larvas por quilo de matéria seca

No presente estudo houve uma redução na recuperação de larvas de estrôngilos do grupo tratado com o *Bioverm*[®] em relação ao controle, para amostras da pastagem coletadas de 0 a 20 cm de distância do bolo fecal. Resultados semelhantes foram relatados por Larsen et al. (1996) e Fernandez et al. (1999), que também observaram uma redução significativa na recuperação dessas larvas. Este último autor relatou redução média de 94,8%, enquanto Braga et al. (2009) observou diminuição de 75% de larvas infectantes na pastagem. Já no presente estudo, a diferença encontrada foi de 69% maior no grupo controle. A utilização de fungos nematófagos no controle de parasitos gastrintestinais tem como objetivo principal a redução do número de formas infectantes no ambiente, expondo os animais a uma menor carga parasitária de helmintos. Desta forma, a estimativa do número de larvas infectantes por

quilograma de matéria seca (L3/Kg.MS), onde pastam animais tratados com o fungo, constitui um parâmetro fundamental para a avaliação da eficácia da formulação fúngica

4.5. Influência do clima

No presente estudo o número de larvas de pequenos e grandes estrôngilos recuperadas na pastagem, nas diferentes distâncias avaliadas, apresentou correlação positiva com a temperatura média de 19,77°C, mesmo sendo esta inferior à temperatura ótima estabelecida por Santos (2000). Segundo Stromberg (1997), a temperatura e a umidade são fatores essenciais para o desenvolvimento das larvas infectantes. Para Courtney (1999), durante os períodos de seca, o desenvolvimento fúngico é menor, enquanto a sua sobrevivência é mais longa. Assim, estudos realizados por Baudena et al. (2000) demonstraram que não é possível verificar a atividade predatória do fungo *D. flagrans* na pastagem em época de seca e com baixa precipitação. Em acordo, Madeira de Carvalho et al. (2007) observaram que a elevação de temperatura, associada com aumento da precipitação, provocou maior migração das larvas para a pastagem, aumentando atividade predatória do fungo. Contudo, para Santos (2000), *D. flagrans* cresce melhor à temperatura entre 25 e 30°C, sendo 30°C a temperatura ótima de desenvolvimento. Para este último autor, em temperaturas inferiores, a taxa de crescimento é mais lenta, ao passo que, em temperaturas superiores, o fungo não cresce.

Segundo Luns et al (2018), é importante destacar que o clima desempenha um papel importante na capacidade dos fungos para capturar nematóides, no entanto a temperatura ideal de crescimento varia de acordo com a espécie. Por outro lado, de acordo com Buzatti et al. (2018), outros fatores como densidade animal na pastagem e presença de larvas por hectare podem exercer uma maior influência para a ação do *D. flagrans* do que a temperatura. Segundo este último autor, a proximidade entre animais contribui significativamente pois, aumenta a quantidade de bolo fecal e conseqüentemente eleva o número de larvas infectantes presentes na pastagem, bem como a

concentração dos fungos e sua atividade predatória que é estimulada pela movimentação das larvas.

5. CONCLUSÃO

O fungo *D. flagrans* presente no produto *Bioverm*[®], auxiliou no controle biológico de nematóides gastrointestinais de eqüinos a campo, se mostrando eficaz no controle dos parasitos, contribuindo para a redução da infestação das pastagens por larvas infectantes. Assim, o presente estudo sugere que a utilização de *D. flagrans* em um programa de controle para as verminoses de equinos é plausível.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem por todo apoio recebido do CNPQ, CAPES e FAPEMIG, além da Ghenvet Saúde Animal Ltda, por fornecer o *Bioverm*[®] para realização deste estudo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Almeida, G.L., Santurio, J.M., Filho, J.O.J., Zanette, R.A., Giovana Camillo, G., Flores, A.G., Silva, J.H.S., Rue, M,L,I., 2012. Predatory activity of the fungus *Duddingtonia flagrans* in equine strongyle infective larvae on natural pasture in the Southern Region of Brazil. **Parasitol. Res.** 110, 657–662.
- Bevilaqua, C.M.L., Rodrigues, M.L., Cocordet, D., 1993. Identification of infective larvae of some common nematode strongylids of horses. **Revue de Médecine Vétérinaire.** 144, 989–995.
- Brady, H.A., Nichols, W.T., 2009. Drug resistance in equine parasites: an emerging global problem. **Journal of Equine Veterinary Science.** 29, 285–295.
- Braga, F.R., Araújo, J.V., 2014. Nematophagous fungi for biological control of gastrointestinal nematodes in domestic animals. **Applied Microbiology and Biotechnology.** 98, 71–82.

- Braga, F.R., Araújo, J.V., Silva, A.R., Araujo, J.M., Carvalho, R.O., Tavela, A.O., Campos, A.K., Carvalho, G.R.C., 2009. Biological control of horse cyathostomin (Nematoda: Cyathostominae) using the nematophagous fungus *Duddingtonia flagrans* in tropical southeastern Brazil. **Veterinary Parasitology**. 163, 335–340.
- Braga, F.R., Araújo, J.V., Silva, A.R., Carvalho, R.O., Araujo, J.M., Ferreira, S.R., Benjamin, L.A., 2010. Predatory activity of the nematophagous fungus *Duddingtonia flagrans* on horse cyathostomin infective larvae. **Tropical Animal Health and Production**. 42, 1161–1165.
- Buzatti, A., Santos, C.P., Fernandes, M.A.M., Yoshitani, U.Y., Sprenger, L.K., Molento, M.B., 2017. *Duddingtonia flagrans* no controle de nematoides gastrintestinais de equinos em fases de vida livre. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, 69(2), 364–370.
- Castro, A.A., Oliveira, C.R.C., Anjos, D.H.S., Ornelas, E.I., Bittencourt, V.R.E.P., Araújo, J.V., Sampaio, I.B.M., Rodrigues, M.L.A., 2003. Potencial dos fungos nematófagos *Arthrobotrys* sp. e *Monacrosporium thaumasium* para o controle de larvas de ciatostomíneos de eqüinos (Nematoda: Cyathostominae). **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**. 12(2), 53–57.
- Courtney, C.H., 1999. Seasonal transmission of equine cyathostomin in warm climates. **Veterinary Parasitology**. 85, 173–180.
- Cullinane, A.A., Barr, B., Bernard, W., Duncan, J.L., Mulcahy, G., Smith, I.M., Timoney, J.F., 2006. Infectious diseases: Major internal parasites of the horse. In: A. J. Higgins, J. R. Snyder. (Eds.), **The equine manual**. 2nd ed. UK, Saunders Elsevier, pp. 95-96.
- Fernández, A.S., Henningsen, E., Larsen, M., Nansen, R., Grønvold, J., Søndergaard, J., 1999. A new isolate of the nematophagous fungus *Duddingtonia flagrans* as biological control agent against free-living larvae of horse strongyles. **Equine Veterinary Journal**. 31, 488–491.
- Gordon, H.M., Whitlock, H.V., 1939. A new technique for counting nematode eggs in sheep faeces. **Journal of the Council for Scientific and Industrial Research**. 12(1), 50–52.

- Gronvold, J., Henriksen, S.A., Larsen, M., Nansen, P., Wolstrup, J., 1996. Aspects of biological control with special reference to arthropods, protozoans and helminths of domesticated animals. **Veterinary Parasitology**. 64, 47–64.
- Healey, K., Lawlor, C., Knox, M.R., Chambers, M., Jane Lamb, J., Groves, P., 2018. Field evaluation of *Duddingtonia flagrans* IAH 1297 for the reduction of worm burden in grazing animals: Pasture larval studies in horses, cattle and goats. **Veterinary Parasitology**. 258, 124–132.
- Hernández, J.A., Sánchez-Andrade, R., Cazapal-Monteiro, C.F., Arroyo, F.L., Sanchís, J.A., Paz-Silva, A., Arias, M.S., 2018. A combined effort to avoid strongyle infection in horses in an oceanic climate region: rotational grazing and parasitocidal fungi. **Parasites & Vectors**. 11, 240.
- Kaplan, R.M., Nielsen, M.K., 2010. An evidence-based approach to equine parasite control: it ain't the 60s anymore. **Equine Veterinary Education**. 22, 306–316.
- Kaplan, R.M., Vidyashankar, A.N., 2012. An inconvenient truth: global worming and anthelmintic resistance. **Veterinary Parasitology**. 186, 70–78.
- Larsen, M., Nansen, P., Grøndahl, C., Thamsborg, S.M., Grønvald, J., Wolstrup, J., Henriksen, S.A., Monrad, J., 1996. The capacity of the fungus *Duddingtonia flagrans* to prevent strongyle infections in foals on pasture. **Parasitology**. 113, 1–6.
- Lester, H.E., Spanton, J., Stratford, C.H., Bartley, D.J., Morgan, E.R., Hodgkinson, J.E., Coumbe, K., Mair, T., Swan, B., Lemon, G., Cookson, R., Matthews, J.B., 2013. Anthelmintic efficacy against cyathostomins in horses in Southern England. **Veterinary Parasitology**. 197, 189–196.
- Lima, W., 1989. Dinâmica das populações de nematóides parasitos gastrintestinais em bovinos de corte, alguns aspectos da relação parasito-hospedeiro e do comportamento dos estágios de vida livre na região do Vale do Rio Doce, MG, Brasil. Tese (Doutorado) - Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas-Gerais, Belo Horizonte, 78 p.
- Love, S., Murphy, D., Mellor, D., 1999. Pathogenicity of cyathostome infection. **Veterinary Parasitology**. 85, 113–121.

Luns, F.D.; Assis, R.C.L.; Silva, L.P.C.; Ferraz, C.M.; Braga, F.R.; Araújo, J.V. Coadministration of Nematophagous Fungi for Biological Control over Nematodes in Bovine in the South-Eastern Brazil. **Hindawi BioMed Research International**. Volume 2018.

Lyons, E.T.; Drudge, J.H.; Tolliver, S.C., 2000. Larval cyathostomiasis. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**. 16, 501–513.

Maciel, A. S.; Araújo, J. V.; Campos, A. K., 2006. Viabilidade sobre larvas infectantes de *Ancylostoma* spp dos fungos nematófagos *Arthrobotrys robusta*, *Duddingtonia flagrans* e *Monacrosporium thaumasium* após esporulação em diferentes meios de cultura. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**. 15, 182–187.

Madeira de Carvalho, L.M., Gillespie, A.T., Serra, P.M., Bernardo, F. A., Farrim, A.P., Fazendeiro, I.M., 2007. Eficácia do fungo nematófago *Duddingtonia flagrans* no controlo biológico da estrogilidose equina no Ribatejo. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**. 102, 233–247.

Nielsen, M.K., Reinemeyer, C.R., Donecker, J.M. Leathwick, D.M., Marchiondo, A.A., Kaplan, R.M., 2014. Anthelmintic resistance in equine parasites—Current evidence and knowledge gaps. **Veterinary Parasitology**. 204, 55–63.

Nielsen, M.K., Vidyashankar, A.N., Olsen, S.N., Monrad, J., Thamsborg, S.M., 2012. *Strongylus vulgaris* associated with usage of selective therapy on Danish horse farms — Is it reemerging? **Veterinary Parasitology**. 189, 260–266.

Owen, J., Slocombe, D., 1985. Pathogenesis of helminths in equines. **Veterinary Parasitology**. 18, 139–153.

Paraud, C., Lorrain, R., Pors, I., Chartier, C., 2012. Administration of the nematophagous fungus *Duddingtonia flagrans* to goats: an evaluation of the impact of this fungus on the degradation of faeces and on free-living soil nematodes. **Journal of Helminthology**. 86, 95–103.

Paz-Silva, A., Francisco, I., Valero-Coss, R.O., Cortiñas, F.J., Sánchez, J.A., Francisco, R., Arias, M., Suárez, J.L., Lopez-Arellano, M.E., Sanchez-Andrade, R., Mendonza de Givez, P., 2011. Ability of the fungus *Duddingtonia flagrans* to

adapt to the cyathostomin egg-output by spreading chlamydospores. **Veterinary Parasitology**. 179, 277–282.

Peregrine, A.S.; Molento, M.B.; Kaplan, R.M.; Nielsen, M.K., 2014. Anthelmintic resistance in important parasites of horses: Does it really matter? **Veterinary Parasitology**, 201, 1–8.

Quinelato, S., Couto, M., Ribeiro, B.C., Santos, C.N., Souza, L.S., Anjos, D.H.S., Sampaio, I., Rodrigues, L., 2008. The ecology cyathostomin infective larvae (Nematoda-Cyathostominae) in tropical southeast Brazil. **Veterinary Parasitology**. 153, 100–107.

Santos, C.P., 2000. Isolamento, identificação, produção de fungos nematófagos e avaliação de algumas características biológicas do fungo *Duddingtonia flagrans*. Tese (Doutorado) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 90p.

Silva, M.E., Araújo, J.V., Braga, F.R., Borges, L.A., Soares, F.E.F., Lima, W.S., Guimarães, M.P., 2013. Mycelial mass production of fungi *Duddingtonia flagrans* and *Monacrosporium thaumasium* under different culture conditions. **BMC Research Notes**. 6, 340.

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., 2015. Fungal Antagonism Assessment of Predatory Species and Producers Metabolites and Their Effectiveness on *Haemonchus contortus* Infective Larvae. **BioMed Research International**. 22, 1–6.

Stromberg, B.E., 1997. Environmental factors influencing transmission. **Veterinary Parasitology**. 72, 247–264.

Stromberg, B.E., Gasbarre, L.C., Waite, A., Bechtol D.T., Brown, M.S., Robinson, N.A., Olson, E.J., Newcomb, H., 2012. *Cooperia punctata*: effect on cattle productivity? **Veterinary Parasitology**. 183, 284–291.

Tavela, A.O., 2010. Controle biológico de ciatostomíneos de equinos resistentes a ivermectina e pamoato de pirantel com o fungo *Monacrosporium thaumasium*. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 42p.

Van Oorschot, C.A.N., 1985. Taxonomy of the Dactylaria complex. A review of *Arthrobotrys* and allied genera. **Studies in Mycology**. 26, 61–95.

Vilela, V.L.R., Feitosa, T.F., Braga, F.R., Vieira, V.D., Lucena, S.C, Jackson Victor Araújo, J.V., 2018. Control of sheep gastrointestinal nematodes using the combination of *Duddingtonia flagrans* and Levamisole Hydrochloride 5%. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**. 27(1), 27–32.

Xiao, L., Herd, R.P., Bowman, G.L., 1994. Prevalence of *Cryptosporidium* and *Giardia* infections on two Ohio farms with different management systems. **Veterinary Parasitology**. 52, 331–336.

CAPÍTULO 2

Formulação do fungo nematófago *Duddingtonia flagrans* no controle de nematoides parasitos gastrintestinais de bovinos de corte

RESUMO

O parasitismo por nematoides gastrintestinais se caracteriza como um dos maiores obstáculos ao desenvolvimento econômico da pecuária brasileira. Uma alternativa para o controle destes é a utilização de fungos nematófagos em programas estratégicos. Diante disso, o presente estudo teve por objetivo avaliar a ação do fungo *Duddingtonia flagrans* veiculado no produto *Bioverm*[®], no controle de nematoides gastrintestinais em bovinos de corte e na pastagem. Foram utilizadas 12 bovinos, divididas em dois grupos, sendo um controle e outro tratado, na dose de 1g da formulação de farelo de arroz com o isolado fúngico para cada 10 kg de peso corporal, diariamente, por 12 meses. A eficácia foi medida por meio da avaliação do ganho de peso, da contagem de ovos por grama de fezes (OPG), coprocultura, contagem de larvas nas pastagens, além da sua correlação com o clima. Ao longo estudo, não houve diferença significativa em relação ao ganho de peso médio diário. Em relação ao OPG, na comparação entre os grupos, observou-se nos meses de fevereiro, maio e julho, valores maiores no grupo controle em relação ao grupo tratado. A recuperação de larvas a partir de coproculturas revelou a predominância de *Haemonchus*, seguido por *Cooperia* e *Oesophagostomum* respectivamente. Não houve diferença significativa no número médio total de larvas recuperadas na pastagem quando comparado os grupos controle e tratados. A correlação entre as médias mensais de OPG e os dados de precipitação pluviométrica, umidade relativa do ar e temperatura, demonstraram uma correlação positiva, somente com o grupo controle em relação a temperatura. O uso dos clamidósporos de *D. flagrans* presentes no *Bioverm*[®] auxiliou no controle de parasitas gastrointestinais de bovinos de corte.

Palavras-chave: clamidósporos; controle alternativo; fungos nematófagos, verminoses

1. INTRODUÇÃO

Nos sistemas de produção de animais criados a campo, o parasitismo por nematoides gastrintestinais é um fator limitante (Waghorn et al., 2003). Este se caracteriza como um dos maiores obstáculos ao desenvolvimento econômico da pecuária brasileira, por promover um retardo no crescimento dos animais, redução na produção de leite, baixo desempenho reprodutivo entre outros, resultando em elevados prejuízos na produção bovinos (Stromberg et al., 2012).

As helmintoses gastrintestinais de ruminantes são um fator de grande impacto na bovinocultura, uma vez que animais acometidos desencadeiam prejuízos na cadeia produtiva. Dentre os impactos, são observados retardos no crescimento e desempenho dos animais, podendo em certos casos levar até mesmo a óbito. Os bovinos podem ser acometidos por diversas espécies de nematoides estrongilídeos, com destaque para o *Haemonchus*; *Trichostrongylus*; *Cooperia*; *Ostertagia*; *Oesophagostomum* e *Strongyloides* (Urquhart et al., 2008; Vieira et al., 2009).

No sudeste do Brasil, os nematoides mais prevalentes nessa espécie são o *Cooperia* e *Haemonchus*, seguidos pelo gênero *Oesophagostomum* (Araújo et al., 1998). Entre as espécies, o *Haemonchus placei* é considerada de elevada ocorrência no Brasil, com altas taxas de morbidade. Possui hábitos hematófagos que produz lesões na mucosa do abomaso levando a perdas de sangue e plasma para a luz intestinal. Em quadros de infecções maciças, a hipoproteinemia e anemia aguda pode causar a morte de animais jovens (Nishi et al., 2002).

O controle das parasitoses em bovinos vem sendo realizado, na maioria das vezes, por meio de drogas anti-helmínticas. Entretanto, essas drogas não têm sido totalmente eficazes uma vez que o uso indiscriminado e incorreto vem favorecendo a seleção de cepas resistentes de nematoides (Amarante, 2008; Araújo et al., 2007; Soutello et al., 2007). Dentro desse contexto, a adoção de métodos alternativos de controle de parasitos gastrointestinais vem sendo estudados, no intuito de reduzir o uso de substancias anti-helmíntica (Nielsen et al., 2014). Dentre este métodos, o controle biológico vem sendo considerado uma alternativa viável para a diminuição de larvas infectantes estrongilídeos no

ambiente (Healey et al., 2018; Hernández et al., 2018; Vilela et al., 2018). Diversos agentes biológicos, antagonistas de nematoides vem sendo estudados, como protozoários, bactérias, vírus e fungos (Grønvold et al., 1996; Maciel et al., 2006). Isolados de espécies de fungos nematófagos, com capacidade de colonizar o bolo fecal e preda larvas infectantes vem sendo estudados. Para isso, este deve resistir a passagem através do trato gastrintestinal, não prejudicar o meio ambiente e que sua produção seja viável (Gomes, 1998).

Entre os fundos estudados, o *Duddingtonia flagrans* é uma espécie capaz de produzir grandes quantidades de clamidósporos, que passam pelo trato gastrintestinal dos ruminantes se mantendo viáveis em sua capacidade predatória (Larsen et al., 1992; Waghorn et al., 2003). A melhor via para administração deste isolado é a oral, e sua veiculação pode ser feita associada a diferentes cereais como arroz, cevada, milho e sorgo (Santos, 2000). A incorporação dos clamidósporos a peletes em base de alginato de sódio tem demonstrado resultados promissores nesta modalidade de controle biológico (Braga e Araújo, 2014).

Apesar das inúmeras possibilidades estudadas, é necessário identificar um forma mais prática de fornecimento ao rebanho bovino, como associado a dieta ou suplemento mineral. Frente a isto, o objetivo desse estudo foi avaliar a ação do fungo *Duddingtonia flagrans* em formulação com o farelo de arroz, no controle de nematoides gastrintestinais em bovinos de corte e na pastagem.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Formulação fúngica

Para a realização deste estudo foi utilizado o produto *Bioverm*[®] (Ghenvet Saúde Animal, Paulínia, SP), que veicula 10⁵ clamidósporos por grama do produto comercial, da amostra de *D. flagrans*. O produto é comercializado na forma de pó de fina granulometria, embalados em sacos de polipropileno de cor cristal, hermeticamente lacrados e mantidos em temperatura ambiente ao abrigo da luz solar direta.

2.2. Ensaio experimental *in vivo* com bovinos de corte

O experimento foi realizado em uma fazenda localizada em latitude 20°52'6.26"S e longitude 42°57'29.74"O, no município de Paula Cândido-MG por doze meses.

Foram utilizados 12 bovinos, machos inteiros, mestiços holandês x zebu com sete a nove meses de idade, com peso médio de 180 kg. Foram tratados previamente com anti-helmíntico ivermectina 1% na dose de 1mL/50 kg peso corporal e pesados 14 dias antes do início do experimento. Posteriormente foram formados 2 grupos, cada um contendo 6 animais. Os grupos foram separados e alojados em piquetes diferentes, com área de 2 hectares cada, composto por pastagem formada por *Brachiaria decumbens*.

No primeiro grupo (grupo tratado) cada animal foi tratado com 1g do *Bioverm*[®] para cada 10 kg de peso corporal, administrados diariamente durante trezentos e noventa dias. No segundo grupo cada animal recebeu 1g de farelo de arroz livre do *D. flagrans* para cada 10 kg de peso (grupo controle).

Quinzenalmente, após a introdução dos animais, foram realizadas coletas diretas das ampolas retais, das amostras de fezes de todos os animais de cada grupo. Nessas amostras fecais, foram determinadas as contagens de ovos por grama de fezes (OPG) descrita segundo a técnica modificada de Gordon e Whitlock (1939) e Lima (1989), e realizou-se a coprocultura para contagem e identificação de larvas. Além disso, para a quantificação de larvas infectantes por Kg de matéria seca (L3/Kg.MS) a cada 15 dias, no período da manhã, amostras de pastagem foram coletadas nas distâncias de 0-20 e 20-40 cm do bolo fecal, segundo metodologia proposta por Raynaud e Gruner (1982). Posteriormente, foi realizada a contagem e a identificação de larvas, segundo critérios estabelecidos por Keith (1953).

A cada trinta dias os animais foram pesados para avaliação de ganho de peso e ajuste da dosagem da formulação com *D. flagrans* para o grupo tratado e do farelo de arroz para o grupo controle.

Foram registrados, diariamente, os dados meteorológicos, colhidos em estação especializada na região de Paula Cândido-MG, referentes às médias das temperaturas máxima, média e mínima mensais, à umidade relativa do ar e às precipitações pluviais mensais.

2.3. Análise estatística

Os pesos foram submetidos ao teste ANOVA de dois fatores para medidas repetidas, considerando o tratamento e a data como variáveis independentes. O efeito do tratamento sobre OPG e contagem de larvas foi avaliado por análise de variância para medidas repetidas, seguida pelo Teste de Tukey e Teste t de Student. Para isso, os dados do OPG foram transformados para Log (X+1). As médias mensais dos valores obtidos nas coletas das amostras no pasto e a variação mensal de variáveis climáticas foram analisadas por teste Análise de Regressão Polinomial Quadrática. Para todos os testes foi considerado nível de significância de 5%.

3. RESULTADOS

3.1. Ganho de peso

Em relação ao ganho de peso médio diário, houve diferença significativa ($p < 0,05$) nos meses de março, onde o grupo tratado apresentou números médios maiores que o grupo controle, sendo o inverso observado no mês de maio. Durante o mês de agosto, os animais de ambos os grupos, perderam quantidade similar de peso médio (Tabela 1).

Ao longo de todo o período experimental, não foi possível observar diferença significativa ($p < 0,05$) em relação ao ganho de peso médio diário, conforme ilustrado na figura 1.

Tabela 1. Ganho de peso médio diário em quilogramas (Kg/dia), de bovinos de corte, do grupo controle e tratado com *D. flagrans* (Bioverm®), coletados de outubro de 2015 a setembro de 2016, em Paula Cândido, Minas Gerais, Brasil.

Mês	Controle		Tratado	
	GPD	DP	GPD	DP
Outubro	0,42 a	0,85	0,76 a	0,92
Novembro	0,95 a	0,68	0,86 a	0,31
Dezembro	0,61 a	0,53	0,57 a	0,36
Janeiro	1,17 a	0,77	1,13 a	0,58
Fevereiro	0,78 a	0,58	0,99 a	0,34
Março	1,14 a	0,84	2,51 b	0,75
Abril	0,61 a	0,61	0,24 a	0,66
Mai	0,84 a	0,39	0,33 b	0,44
Junho	0,05 a	0,41	0,32 a	0,92
Julho	0,27 a	0,46	0,44 a	0,56
Agosto	-0,58 a	0,41	-0,54 a	0,75
Setembro	0,46 a	0,47	0,56 a	0,18

Linhas: Teste t de Student, $p < 0,05$, letras minúsculas diferentes indicam diferença estatística entre os dados. GPD: ganho de peso diário; DP: Desvio Padrão.

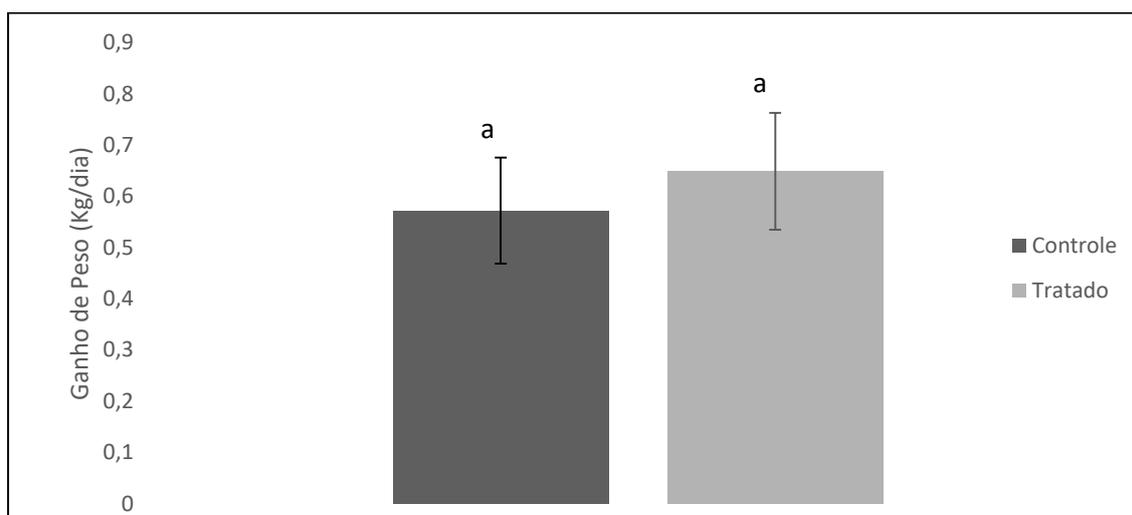


Figura 1. Cálculo de ganho de peso durante todo experimento, sem diferença estatística entre os grupos (Teste t, 5%).

3.2. Ovos por grama de fezes (OPG)

A tabela 2 demonstra que ao longo de todo o período experimental, os valores médios de OPG do grupo controle, diferiram significativamente ($p < 0,05$) nos meses de novembro de 2015, janeiro, fevereiro e março de 2016, quando comparados ao mês de setembro de 2016. Na comparação entre os grupos, observou-se nos meses de fevereiro, maio e julho, valores maiores ($p < 0,05$) no grupo controle em relação ao grupo tratado com o *Bioverm*[®].

Tabela 2. Valores médios da contagem de ovos por grama de fezes (OPG) e desvio padrão, do grupo tratado com formulação contendo *D. flagrans* (*Bioverm*[®]) e do grupo controle, coletados de setembro de 2015 a setembro de 2016, em Paula Cândido, Minas Gerais, Brasil.

Mês	Controle		Tratado	
	OPG	DP	OPG	DP
Setembro	100,00 a AB	89,44	208,33 a A	168,57
Outubro	216,67 a AB	136,63	225,00 a A	211,54
Novembro	358,33 a B	217,75	275,00 a A	125,50
Dezembro	225,00 a AB	236,11	41,67 a A	66,46
Janeiro	375,00 a B	180,97	133,33 a A	121,11
Fevereiro	391,67 a B	396,76	25,00 b A	41,83
Março	291,67 a B	203,51	200,00 a A	137,84
Abril	211,11 a AB	208,34	233,33 a A	252,10
Maio	175,00 a AB	125,50	66,67 b A	140,24
Junho	200,00 a AB	70,71	158,33 a A	182,80
Julho	150,00 a AB	104,88	66,67 b A	98,32
Agosto	116,67 a AB	60,55	116,67 a A	175,12
Setembro	50,00 a A	63,25	75,00 a A	75,83

Linhas: Teste t de Student, $p < 0,05$, letras minúsculas diferentes indicam diferença estatística entre os dados.

Colunas: Tukey, $p < 0,05$, letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística entre os dados. DP: Desvio Padrão.

3.3. Coprocultura

Os resultados obtidos através da coprocultura, demonstraram que o nematoide mais prevalente, durante todo o estudo foi o *Haemonchus*, seguido por *Cooperia* e *Oesophagostomum* respectivamente (Figura 2).

A comparação entre as médias de cada gênero, ao fim do experimento, mostrou diferença significativa ($p < 0,05$) entre eles. Somente o grupo tratado com *Bioverm*[®], em relação ao *Haemonchus*, apresentou valores superiores aos do grupo controle (Figura 2).

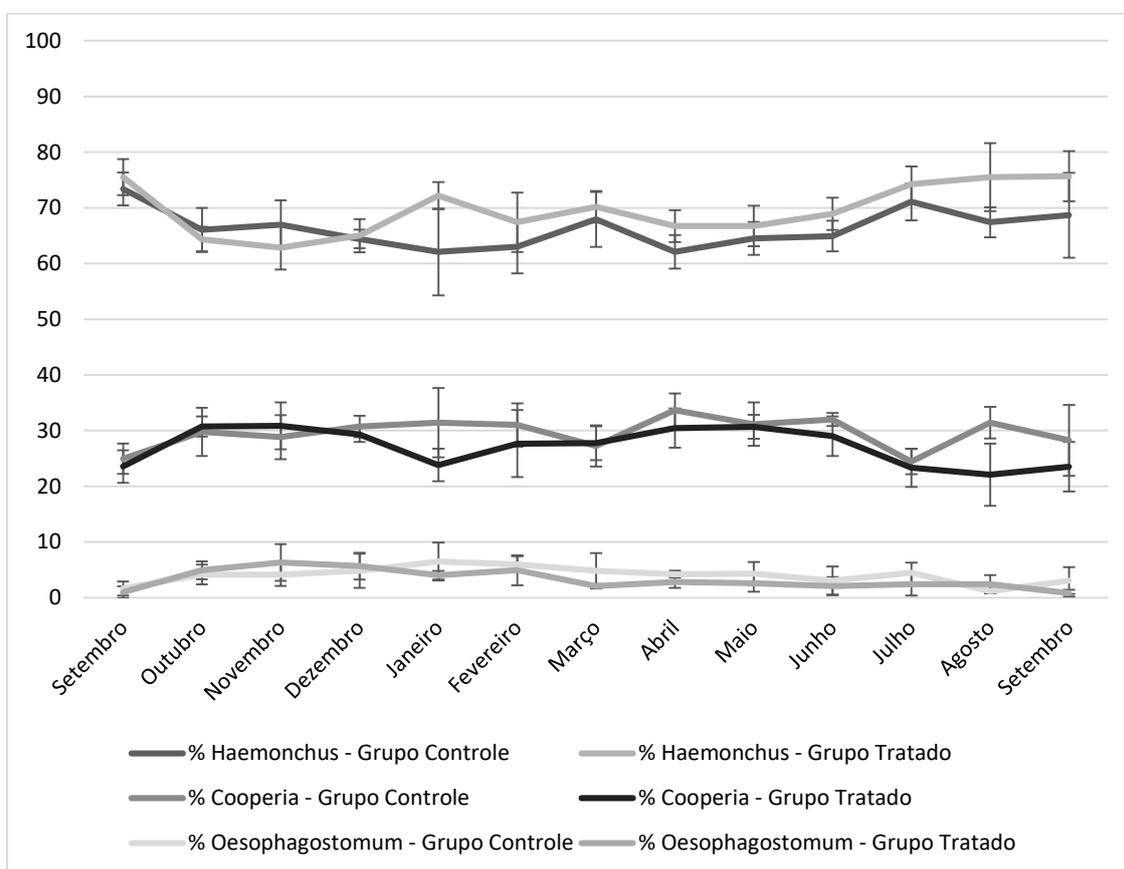


Figura 2. Valores percentuais médios de larvas infectantes recuperadas a partir de fezes de animais pertencentes ao grupo tratado com formulação contendo *D. flagrans* (*Bioverm*[®]) e ao grupo controle, coletados de setembro de 2015 a setembro de 2016, em Paula Cândido, Minas Gerais, Brasil.

3.4. Larvas infectantes por quilo de matéria seca

O número médio total de larvas recuperadas na pastagem não diferiram significativamente ($p>0,05$), na comparação entre os grupos controle e tratados, nas amostras coletadas a 20 e 40 centímetros do bolo fecal (Tabela 3).

Não houve diferença significativa ($p>0,05$) nos valores médios totais dos gêneros *Haemonchus* (Tabela 4) e *Cooperia* (Tabela 5). Já no gênero *Oesophagostomum*, estes mesmos índices diferiram significativamente ($p<0,05$) em amostras coletadas a 20 centímetros do bolo fecal. Os dados obtidos demonstraram valores inferiores no grupo tratado em relação ao controle (Tabela 6).

Tabela 3. Valores médios do total de larvas infectantes por quilograma de matéria seca (Kg.MS) recuperadas da pastagem nas distâncias de 0-20cm e 20-40cm do bolo fecal dos grupos controle e tratado com *D. flagrans* (Bioverm®), coletados de setembro de 2015 a setembro de 2016, em Paula Cândido, Minas Gerais, Brasil.

	Total Larvas (larvas/Kg.MS)			
	Larvas/Kg.MS (20 cm)		Larvas/Kg.MS 40 cm)	
	Grupo Controle	Grupo Tratado	Grupo Controle	Grupo Tratado
Setembro	42,99	50,33	14,92	21,07
Outubro	39,23	33,49	8,76	4,82
Novembro	29,65	65,80	30,87	12,56
Dezembro	71,88	66,90	59,87	29,59
Janeiro	108,97	69,13	83,48	48,54
Fevereiro	124,27	54,76	57,46	28,43
Março	108,43	30,73	83,39	79,85
Abril	95,42	80,17	132,79	62,21
Mai	188,47	195,00	64,14	74,77
Junho	104,04	84,31	58,25	43,40
Julho	346,80	131,68	153,59	196,48
Agosto	379,16	217,37	124,37	193,78
Setembro	503,81	130,41	164,68	121,68
Média	164,86 A	93,08 A	79,74 B	70,55 B

Comparações entre os meses não foram possíveis, pois eram apenas duas coletas por mês (n baixo).

Comparações de médias em pares: 20 cm (tratado X controle) e 40cm (tratado X controle).

Linhas: Teste t de Student, $p < 0,05$, letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística entre os dados.

Tabela 4. Valores médios de larvas infectantes do gênero *Haemonchus* por quilograma de matéria seca (Kg.MS) recuperadas da pastagem nas distâncias de 0-20cm e 20-40cm do bolo fecal dos grupos controle e tratado com *D. flagrans* (*Bioverm*®), coletados de setembro de 2015 a setembro de 2016, em Paula Cândido, Minas Gerais, Brasil.

	<i>Haemonchus</i> (larvas/Kg.MS)			
	Larvas/Kg.MS (20 cm)		Larvas/Kg.MS 40 cm)	
	Grupo Controle	Grupo Tratado	Grupo Controle	Grupo Tratado
Setembro	23,15	20,11	9,54	18,18
Outubro	16,81	18,83	6,27	3,28
Novembro	17,38	33,01	16,09	6,28
Dezembro	38,75	30,14	33,23	14,79
Janeiro	63,13	46,57	41,74	37,84
Fevereiro	62,13	27,38	34,48	17,12
Março	59,66	18,65	44,23	43,55
Abril	65,19	42,56	101,05	41,95
Mai	112,18	135,00	46,62	42,71
Junho	57,54	58,40	26,79	26,33
Julho	170,53	124,83	128,43	105,80
Agosto	171,87	151,86	87,12	117,91
Setembro	243,64	86,58	114,20	83,68
Média	84,77 A	61,07 A	53,06 B	43,03 B

Comparações entre os meses não foram possíveis, pois eram apenas duas coletas por mês (n baixo).

Comparações de médias em pares: 20 cm (tratado X controle) e 40cm (tratado X controle).

Linhas: Teste t de Student, $p < 0,05$, letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística entre os dados.

Tabela 5. Valores médios de larvas infectantes do gênero *Cooperia* por quilograma de matéria seca (Kg.MS) recuperadas da pastagem nas distâncias de 0-20cm e 20-40cm do bolo fecal dos grupos controle e tratado com *D. flagrans* (*Bioverm*[®]), coletados de setembro de 2015 a setembro de 2016, em Paula Cândido, Minas Gerais, Brasil.

<i>Cooperia</i> (larvas/Kg.MS)				
	Larvas/Kg.MS (20 cm)		Larvas/Kg.MS 40 cm)	
	Grupo Controle	Grupo Tratado	Grupo Controle	Grupo Tratado
Setembro	19,84	16,13	5,38	2,89
Outubro	16,81	14,66	2,49	1,54
Novembro	10,75	32,79	13,23	4,12
Dezembro	23,52	26,69	19,94	9,04
Janeiro	36,67	18,63	32,42	4,95
Fevereiro	37,28	16,50	22,98	5,81
Março	32,67	12,07	33,48	12,10
Abril	19,08	22,98	31,73	16,38
Mai	58,28	55,00	17,52	24,92
Junho	35,44	19,33	20,97	17,07
Julho	108,48	6,85	25,16	45,34
Agosto	128,60	56,08	29,67	33,84
Setembro	151,13	24,89	22,73	15,15
Média	52,19 A	24,82 A	21,36 B	14,86 B

Comparações entre os meses não foram possíveis, pois eram apenas duas coletas por mês (n baixo).

Comparações de médias em pares: 20 cm (tratado X controle) e 40cm (tratado X controle).

Linhas: Teste t de Student, $p < 0,05$, letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística entre os dados.

Tabela 6. Valores médios de larvas infectantes do gênero *Oesophagostomum* por quilograma de matéria seca (Kg.MS) recuperadas da pastagem nas distâncias de 0-20cm e 20-40cm do bolo fecal dos grupos controle e tratado com *D. flagrans* (*Bioverm*®), coletados de setembro de 2015 a setembro de 2016, em Paula Cândido, Minas Gerais, Brasil.

<i>Oesophagostomum</i> (larvas/Kg.MS)				
	Larvas/Kg.MS (20 cm)		Larvas/Kg.MS 40 cm)	
	Grupo Controle	Grupo Tratado	Grupo Controle	Grupo Tratado
Setembro	0,00	14,09	0,00	0,00
Outubro	5,60	0,00	0,00	0,00
Novembro	1,52	0,00	1,55	2,16
Dezembro	9,62	10,07	6,71	5,75
Janeiro	9,17	3,94	9,32	5,75
Fevereiro	24,85	10,88	0,00	5,49
Março	16,10	0,00	5,68	24,20
Abril	11,15	14,63	0,00	3,88
Mai	18,02	5,00	0,00	7,14
Junho	11,05	6,58	10,49	0,00
Julho	67,80	0,00	0,00	45,34
Agosto	78,69	9,43	7,58	42,03
Setembro	109,04	18,94	27,76	22,84
Média	27,89 A	7,20 B	5,31 D	12,66 D

Comparações entre os meses não foram possíveis, pois eram apenas duas coletas por mês (n baixo).

Comparações de médias em pares: 20 cm (tratado X controle) e 40cm (tratado X controle).

Linhas: Teste t de Student, $p < 0,05$, letras maiúsculas diferentes indicam diferença estatística entre os dados.

3.5. Influência do clima

Os dados climáticos estão representados na figura 3. A correlação entre as médias mensais de OPG e os dados de precipitação pluviométrica, umidade relativa do ar e temperatura, demonstraram uma correlação positiva ($p < 0,05$) ($R^2 \geq 0,5693$), somente do grupo controle em relação à temperatura.

Os resultados da correlação feita entre, as médias mensais de larvas recuperadas na pastagem e os dados climáticos, através da Regressão Polinomial, foi positiva ($R^2 \geq 0,5693$), ao nível de significância de 5%, apenas para os dados do grupo tratado em relação a temperatura.

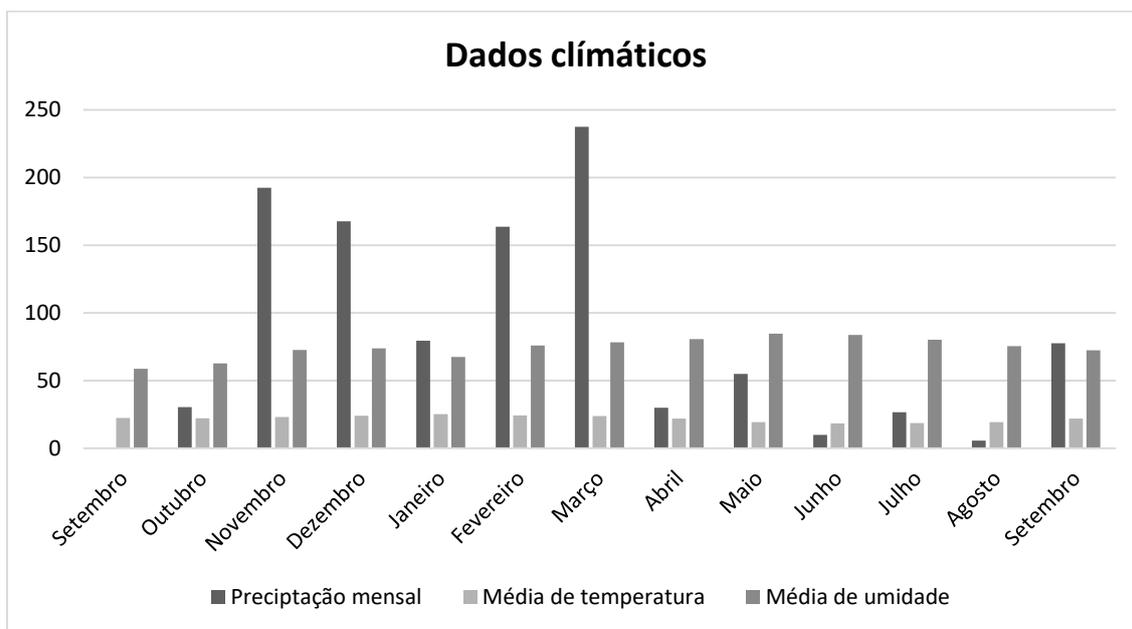


Figura 3. Precipitação pluviométrica mensal (mm), médias de temperatura (°C) e umidade relativa do ar (%) de abril a outubro de 2016, em Paula Cândido, Minas Gerais, Brasil.

4. DISCUSSÃO

4.1. Ganho de peso

Diferença significativa ($p < 0,05$) no ganho de peso médio diário só foi observada nos meses de março, onde os animais do grupo tratado ganharam mais peso e em maio, quando o grupo controle mais engordou. Os animais do grupo controle ganharam em média 560 gramas de peso corporal ao dia, enquanto no grupo tratado, o ganho médio foi de 681g/dia. Mesmo sem diferença estatística na média de todo período experimental, os animais do grupo tratado tiveram um maior ganho de peso diário. Assis et al. (2013) testando a eficácia dos fungos *Duddingtonia flagrans* e *Monacrosporium thaumasium* em bovinos, observaram ganho de peso maior nos animais do grupo tratado. Silva et al. (2014) também não observaram diferença significativa ($p < 0,05$) no ganho de

peso dos animais de ambos os grupos, tratado e controle, em estudo utilizando o fungo *Duddingtonia flagrans* corroborando com os achados no presente estudo. Porém, analisando os tempos de tratamento, foi observada pelos pesquisadores anteriormente citados, diferenças estatisticamente significativas. Nos meses de março e maio, também foi observada diferenças significativas entre os grupos tratado e controle, além de uma queda no ganho de peso no mês de agosto, em ambos os grupos.

4.2. Ovos por grama de fezes

Nos meses de novembro de 2015, janeiro, fevereiro e março de 2016, as contagens de ovos por grama de fezes foram maiores comparados ao mês de setembro de 2016, para o grupo controle. Estas variações podem ter sido influenciadas pelas condições ambientais observadas nestes períodos. Os maiores valores de OPG foram observados no grupo controle, durante o verão, quando as temperaturas e precipitações pluviométricas tendem a ser maiores. Esses fatores climáticos favorecem as larvas de nematoides em fase de vida livre, aumentando a infestação da pastagem e conseqüentemente a infecção dos animais. Em um experimento, utilizando bezerros em uma propriedade de produção orgânica de leite, Pérez et al. (2017) forneceram o fungo *Duddingtonia flagrans* e não observaram redução na contagem de ovos por grama de fezes. Segundo esses pesquisadores, tal resultado era esperado já que o fungo administrado não atua diretamente em ovos de nematoides gastrintestinais. Silva et al. (2014) em estudo utilizando os fungos *Duddingtonia flagrans* e *Monacrosporium thaumasium*, observaram resultados semelhantes, e atribuíram os achados às características da atuação no ambiente e não no parasitismo clínico destes, pelos fungos nematófagos.

Entre os grupos, observou-se nos meses de fevereiro, maio e julho, valores maiores de OPG no grupo controle em relação ao grupo tratado ($p < 0,05$). É importante ressaltar que os animais, deste estudo, de ambos os grupos, receberam suplementação por ração concentrada a base de milho e soja, perfazendo um total de 12% de proteína bruta. Segundo Molento et al. (2013), mediante tal dieta, é esperado uma resposta imunológica mais eficiente, frente

aos parasitos gastrintestinais, em animais que recebem suplementação nutricional adequada.

4.3. Coprocultura

Os gêneros de parasitos *Haemonchus* sp., *Cooperia* sp. e *Oesophagostomum* sp., identificados neste estudo, foram os mesmos observados por Assis et al. (2013) e (2015), Silva et al. (2014) e Oliveira (2017). Este último autor, utilizou o fungo *Arthrobotrys cladodes* var *macroides*, fornecidos duas vezes na semana, veiculados por peletes a base de alginato de sódio. Porém, a prevalência dos gêneros *Cooperia* sp. foi maior nos trabalhos de Assis et al. (2015) e Silva et al. (2014), diferente do observado durante a realização deste trabalho, onde o *Haemonchus* sp. foi mais prevalente. O *Haemonchus* sp., é um nematoide cosmopolita e, em relação a outros gêneros, é mais resistente a baixas temperaturas e a radiação ultravioleta (Heckler e Borges, 2016), o que pode justificar sua predominância nos resultados obtidos através da coprocultura. Além disso, os dados obtidos com este gênero de parasito foram os únicos a demonstrar diferenças significativamente maiores ($p < 0,05$) no grupo tratado com *Bioverm*[®] em relação ao controle, provavelmente devido a ação predatória do fungo.

O gênero *Oesophagostomum* sp. foi significativamente maior ($p < 0,05$) no grupo controle em abril de 2016, enquanto o gênero *Cooperia* sp., esta diferença foi observada nos meses de janeiro e agosto do mesmo ano. O *Oesophagostomum* sp. é considerado por Heckler e Borges (2016) um parasito robusto e suas características morfológicas diminuem sua capacidade de movimentação, conseqüentemente diminuindo as chances de sobrevivência da larva infectante. Oliveira (2017) ressaltou ainda, que, os gêneros *Cooperia* sp. e *Oesophagostomum* sp. se adaptam melhor em ambientes com baixas precipitações e temperaturas variando entre 13 e 26° C. Tais condições ambientais ocorreram durante o período experimental, o que pode explicar a similaridade entre os resultados encontrados pelos autores supracitados, sendo que as médias de precipitação pluviométrica foi de 82,7% e de temperatura ficou em 21,9°C.

4.4 Larvas por quilo de matéria seca

Apesar do número médio total de larvas recuperadas na pastagem não ter sido estatisticamente diferente ($p < 0,05$), foi possível observar numericamente, uma redução de larvas infectantes no grupo tratado (93,08 larvas/Kg.MS) em relação ao controle (164,86 larvas/Kg.MS), em amostras coletadas a uma distância de 0-20cm do bolo fecal. Reduções significativas foram observadas por Pérez et al. (2017) e Assis et al. (2012 e 2013), sendo 42.5%, 60.5% e 64.5% respectivamente.

A variação climática observada durante o período experimental é característica de um país de clima tropical que, segundo Heckler e Borges (2016), propiciam a multiplicação de nematoides parasitos. Além disso, segundo Verschave et al. (2016), a massa fecal protege e mantém fases larvais infectantes por grandes períodos de tempo, mesmo durante o meses de seca. As temperaturas médias mensais variaram entre 18,5°C em junho de 2016 a 25,3°C em janeiro do mesmo ano. Neste mesmo período, a precipitação pluviométrica variou de zero milímetros em setembro de 2015 a 237,3mm em maio de 2015. A menor média de umidade relativa do ar também foi registrada em setembro de 2015 com 58,8%, e a maior foi em maio de 2016 com 84,69%.

A diferença estatística ($p < 0,05$) observada no valor médio total de larvas do gênero *Oesophagostomum* sp. pode ser atribuído a ação do fungo *D. flagrans* presente na formulação a base de farelo de arroz fornecida aos animais do grupo tratado, associada à menor movimentação deste parasito relatada por Heckler e Borges (2016).

4.5. Influência do clima

Observou-se correlação positiva dos dados de valores médios de OPG do grupo controle em relação a temperatura. Segundo Grønvold et al. (1996), as condições ambientais ideais para o desenvolvimento do *D. flagrans* são, entre 20 e 25°C de temperatura e de 15 a 60 mm de precipitação pluviométrica por semana. A média de temperatura deste estudo foi de 21,9°C, justificando os dados de correlação positiva com o grupo tratado neste quesito, no total de

larvas recuperadas na pastagem a uma distância de 0-20cm do bolo fecal. Durante todo período experimental, a contagem média de larvas recuperadas na pastagem não sofreram alterações significativas e não foi observada correlação com a precipitação pluviométrica. Diferente disto, Jobim (2006) atribuiu um aumento considerável no número de larvas recuperadas na pastagem, ao acumulado de chuva registrado durante o mês de novembro e, mesmo no período mais seco, manteve o crescimento. Já Eysker et al. (2005), utilizando uma dose de 5×10^5 clamidósporos/Kg de peso vivo em ovinos, conseguiram resultados pouco promissores em períodos de seca.

5. CONCLUSÃO

O fungo *D. flagrans* presente no produto *Bioverm*[®], auxiliou no controle biológico de nematóides gastrointestinais de bovinos de corte a campo, se mostrando eficaz no controle dos parasitos, contribuindo para a redução da infestação das pastagens por larvas infectantes. Assim, o presente estudo sugere que a utilização de *D. flagrans* em um programa de controle para as verminoses de bovinos mestiços de corte é plausível.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem por todo apoio recebido do CNPQ, CAPES e FAPEMIG, além da Ghenvet Saúde Animal Ltda, por fornecer o *Bioverm*[®] para realização deste estudo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Amarante, A. F. T. Fatores que afetam a resistência dos ovinos à verminose. In: Cecília José Verfssimo. (Org.). **Alternativas de controle da verminose em pequenos ruminantes**. Nova Odessa: IZ, 2008, p. 15-21.

Araújo, J. V.; Rodrigues, M. L. A.; Silva, W. W.; Vieira, L. S. Controle biológico de nematóides gastrintestinais de caprinos em clima semi-árido pelo fungo

Monacrosporium thaumasium. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 42, n. 8, p. 1177-1181, 2007.

Araújo, J.V.; Gomes, A.P.S.; Guimarães, M.P. Biological control of bovine gastrointestinal nematode parasites in southeastern Brazil by the nematode trapping fungus *Arthrobotrys robusta*. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 7, n. 2, p. 117-122, 1998.

Assis, R.C.L.; Luns, F.D.; Araújo, J.V.; Braga F.R.; Assis, R.L.; Marcelino, J.L.; Freitas, P.C.; Andrade, M.A.S. An isolate of the nematophagous fungus *Monacrosporium thaumasium* for the control of cattle trichostrongyles in southeastern Brazil. **Journal of Helminthology**, v. 89, p.244–249, 2015.

Assis, R.C.L.; Luns, F.D.; Araújo, J.V.; Braga F.R.; Assis, R.L.; Marcelino, J.L.; Freitas, P.C.; Andrade, M.A.S. Comparison between the action of nematode predatory fungi *Duddingtonia flagrans* and *Monacrosporium thaumasium* in the biological control of bovine gastrointestinal nematodiasis in tropical southeastern Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 193, p.134–140, 2013.

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.

Eysker, M.; Bakker, N.; Kooyman, F.N.J.; Van der Linden, D.; Schrama, C.; Ploeger, H.W. Consequences of the unusually warm and dry summer of 2003 in the Netherlands: poor development of free living stages, normal survival of infective larvae and long survival of adult gastrointestinal nematodes of sheep. **Veterinary Parasitology**, v.133, n.4, p.313-321, 2005.

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

Gordon, H.M.; Whitlock, H.V. A new technique for counting nematode eggs in sheep faeces. **Journal of Scientific and Industrial Research**, v.12, n.1, p.50-52, 1939.

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**, n. 64, p.47-64, 1996.

Healey, K.; Lawlor, C.; Knox, M.R.; Chambers, M.; Jane Lamb, J.; Groves, P. Field evaluation of *Duddingtonia flagrans* IAH 1297 for the reduction of worm burden in grazing animals: Pasture larval studies in horses, cattle and goats. **Veterinary Parasitology**, v. 258, p. 124–132, 2018.

Heckler, R.P.; Borges, F.A. Climate variations and the environmental population of gastrointestinal nematodes of ruminants. **Nematoda**, n.3, 2016.

Hernández, J.A.; Sánchez-Andrade, R.; Cazapal-Monteiro, C.F.; Arroyo, F.L.; Sanchís, J.A.; Paz-Silva, A.; Arias, M.S. A combined effort to avoid strongyle infection in horses in an oceanic climate region: rotational grazing and parasitocidal fungi. **Parasites & Vectors** v. 11: 240. 2018

Jobim, M.B.; Santurio, J.M.; De La Rue, M.L. *Duddingtonia flagrans*: controle biológico de nematodeos de bovinos a campo. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 8, p. 2256-2263, Nov. 2008.

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

Larsen, M.; Wolstrup, J.; Henriksen, S.A.; Gronvold, J.; Nansen, P. In vivo passage through calves of nematophagous fungi selected for biocontrol of parasitic nematodes. **Journal of Helminthology**, v.66, n.2, p.137-141, 1992.

Lima, W., 1989. **Dinâmica das populações de nematóides parasitos gastrintestinais em bovinos de corte, alguns aspectos da relação parasito-hospedeiro e do comportamento dos estágios de vida livre na região do Vale do Rio Doce, MG, Brasil**. Tese (Doutorado) - Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas-Gerais, Belo Horizonte, 78 p.

Maciel, A. S.; Araújo, J. V.; Campos, A. K. Viabilidade sobre larvas infectantes de *Ancylostoma* spp dos fungos nematófagos *Arthrobotrys robusta*, *Duddingtonia flagrans* e *Monacrosporium thaumasium* após esporulação em diferentes meios de cultura. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 15, n. 1, p. 182-187, 2006.

Molento, M.B.; Veríssimo, C.J.; Amarante, A.T.; Wyk, J.A.; Chagas, A.C.S. Araújo, J.V.; Borges, F.A. Alternativas para o controle de nematoides gastrintestinais de pequenos ruminantes. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.80, n.2, p.253-263, 2013.

Nielsen, M.K.; Reinemeyer, C.R.; Donecker, J.M. *et al.* Anthelmintic resistance in equine parasites - Current evidence and knowledge gaps. **Veterinary Parasitology**, v.204, p.55-63, 2014.

Oliveira, I.C. 2017. **Controle biológico de nematoides gastrintestinais de bovinos através da utilização do fungo nematófago *Arthrobotrys cladodes***. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária). – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG. 61f.

Peréz, D.O.O.; Muñoz, B.S.; Toral, J.N.; Zebadúa, M.A.O.; López, J.L.C.; García, M.E.R.; De Gives, P.M. Using *Duddingtonia flagrans* in calves under na organic milk farm production system in the Mexican tropics. **Experimental Parasitology**, v. 175, p. 74-78, 2017.

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

Santos, C.P. 2000. **Isolamento, identificação, produção de fungos nematófagos e avaliação de algumas características biológicas do fungo *Duddingtonia flagrans***. Dissertação (Doutorado em Medicina Veterinária). – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ. 90f.

Silva, M.E.; Braga, F.R.; Borges, L.A.; Oliveira, J.M.; Lima, W.S.; Guimarães, M.P.; Araújo, J.V. Evaluation of the effectiveness of *Duddingtonia flagrans* and *Monacrosporium thaumasium* in the biological control of gastrointestinal nematodes in female bovines bred in the semiarid region. **Veterinary Research Communications**, v.38, p. 101-106, 2014.

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.

Soutello, R.G.; Seno, M.C.; Amarante, A.F. Anthelmintic resistance in cattle nematodes in northwestern São Paulo State, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v.148, p.360-364, 2007.

Stromberg, B.E.; Gasbarre, L.C.; Waite, A.; Bechtol D.T.; Brown, M.S.; Robinson, N.A.; Olson, E.J.; Newcomb, H. *Cooperia punctata*: effect on cattle productivity? **Veterinary Parasitology**, v.183, p.284- 291, 2012.

Urquhart, G. M.; Armour, J.; Duncan, J. L.; Dunn, A. M.; Jennings F. W. Helminthologia Veterinária. In: Urquhart, G. M.; Armour, J.; Duncan, J. L.; Dunn, A. M.; Jennings F. W. **Parasitologia Veterinária**, 2a ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. p. 1-120.

Verschave, S.H.; Charlie, J.; Rose, H.; Claerebout, E.; Morgan, E.R. Cattle and nematodes under global change: transmission models as an ally. **Trends in Parasitology**, v. 32, n. 9, p. 724-738, set. 2016.

Vieira, L. S.; Lôbo, R. N. V.; Cavalcante, A. C. R.; Neves, M. R. M.; Navarro, A. M. C.; Benvenuti, C. L.; Zaros, L. G. Panorama mundial dos métodos de controle de endoparasitoses. **4º Simpósio Internacional Sobre Caprinos e Ovinos de Corte. Feira Nacional do Agronegócio da Caprino-Ovinocultura de Corte**. João Pessoa – Paraíba – Brasil, 22p, 2009.

Vilela, V.L.R.; Feitosa, T.F.; Braga, F.R.; Vieira, V.D.; Lucena, S.C; Jackson Victor Araújo, J.V. Control of sheep gastrointestinal nematodes using the combination of *Duddingtonia flagrans* and Levamisole Hydrochloride 5%. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Jaboticabal, v. 27, n. 1, p. 27-32, jan.-mar. 2018.

Waghorn, T.S.; Leathwick, D.M.; Chen, L.Y.; Skipp, R.A. Efficacy of the nematode-trapping fungus *Duddingtonia flagrans* against three species of gastrointestinal nematodes in laboratory faecal cultures from sheep and goats. **Veterinary Parasitology**, v.118, n.4, p. 227- 234, 2003.

CONCLUSÕES GERAIS

A formulação contendo o fungo nematófago *Duddingtonia flagrans* (isolado AC001), presente no *Bioverm*[®], é capaz de destruir larvas infectantes de strongilídeos nematoides de bovinos e equinos. Além disto, demonstrou ser uma forma prática e eficaz de administração do fungo como estratégia de controle biológico de parasitos gastrintestinais, nas condições testadas.