

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE ZOOTECNIA

LETÍCIA IANKE

CONTROLE AMBIENTAL DE NEMATÓDEOS GASTRINTESTINAIS UTILIZANDO
FUNGOS NEMATÓFAGOS *DUDDINGTONIA FLAGRANS* EM SISTEMAS DE
PRODUÇÃO DE LEITE AGROECOLÓGICO

PONTA GROSSA

2021

LETICIA IANKE

CONTROLE AMBIENTAL DE NEMATÓDEOS GASTRINTESTINAIS UTILIZANDO
FUNGOS NEMATÓFAGOS *DUDDINGTONIA FLAGRANS* EM SISTEMAS DE
PRODUÇÃO DE LEITE AGROECOLÓGICO

Trabalho de conclusão de curso para
obtenção do título de graduação do curso
de Bacharelado de Zootecnia na
Universidade Estadual de Ponta Grossa,
Área de Zootecnia.

Orientador (a): Raquel Abdallah da Rocha
Oliveira.

PONTA GROSSA

2021

LETICIA IANKE

CONTROLE AMBIENTAL DE NEMATÓDEOS GASTRINTESTINAIS POR MEIO DE
FUNGOS NEMATÓFAGOS *DUDDINGTONIA FLAGRANS* EM SISTEMAS DE
PRODUÇÃO DE LEITE AGROECOLÓGICO

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado para obtenção do título de graduação do curso de Bacharelado de Zootecnia, na Universidade Estadual de Ponta Grossa, Área de Zootecnia.

Ponta Grossa, 24 de setembro de 2021.

Profa. Dra. Raquel Abdallah da Rocha Oliveira – Orientadora
Universidade Estadual de Ponta Grossa

Profa. Dra. Maria Marta Loddi
Universidade Estadual de Ponta Grossa

M.S. Jennifer Mayara Gasparina
Universidade Estadual de Ponta Grossa

Dedico aos meus pais, Orlando e Eliane.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus e a Nossa Senhora Aparecida por me ajudar a ultrapassar todos os obstáculos encontrados ao longo da graduação e por sempre me abençoarem.

Aos meus pais Orlando e Eliane por todo apoio, a toda a minha família por sempre me incentivarem. Ao meu melhor amigo e companheiro de vida por sempre estar ao meu lado.

A Professora e Dra^o Raquel Abdallah da Rocha Oliveira, pelo apoio, orientação e contribuição do seu conhecimento para minha formação acadêmica.

A minha coorientadora Barbara Buss Baiak pela amizade e todo o aprendizado.

Aos meus amigos do curso de Zootecnia, as meninas do laboratório LaPar (Laboratório de Parasitologia Animal).

A todos que de maneira direta ou indiretamente contribuíram para conclusão dessa pesquisa.

RESUMO

O objetivo do trabalho foi avaliar a atividade do fungo *Duddingtonia flagrans* no controle de larvas infectantes (L3) de nematódeos gastrintestinais de novilhas no ambiente e *in vitro* após trânsito gastrintestinal. Foram utilizadas dez novilhas, divididas em dois grupos: tratado recebendo (150g de *pellets* contendo massa micelial do fungo, misturados a 500g de concentrado) e controle recebendo (500g de concentrado e *pellets*, sem fungo). Doze horas após a administração dos fungos, amostras de fezes foram coletadas direto do reto dos animais para os testes *in vitro*. Os animais permaneceram em pastejo e foram selecionados 10 bolos fecais por tratamento. Para avaliação da atividade fúngica cada bolo fecal foi delimitado por meio de estacas e fios, após a delimitação, a unidade experimental foi dividida em 4 subdivisões iguais (D7, D14, D21 e D28) por meio de ligações entre as extremidades. Amostras de pasto, solo e fezes foram coletadas de cada subdivisão correspondente da unidade experimental para recuperação das L3 a cada sete dias. As amostras de pasto foram enroladas em gaze e imersas em cálices de sedimentação presas na parte superior dos cálices, para a recuperação das larvas, as amostras de fezes e solo foram colocadas sobre um lenço de papel, dentro de uma peneira e colocadas em cálice de sedimentação, todas as amostras ficaram submersas por 24 horas. Após esse período, o sobrenadante foi retirado e o sedimento transferido para tubo cônico para posterior quantificação e identificação das L3, e as amostras foram colocadas em estufa para determinação de matéria seca. A atividade *in vitro* demonstrou que os fungos predaram de forma efetiva as L3, obtendo uma redução de 88% nas fezes. Não houve diferença ($P > 0,05$) na recuperação de L3 nas fezes, porém houve uma redução na quantidade de L3 no grupo tratado e um aumento gradativo no grupo controle, demonstrando a atividade fúngica presente nos bolos fecais do grupo tratado. A recuperação de L3 no solo, e no pasto foi semelhante nos dois tratamentos. O fungo *D. flagrans* foi capaz de suportar o trânsito gastrintestinal dos animais reduzindo a quantidade de L3.

Palavras-chave: Profilaxia, controle biológico, verminose.

ABSTRACT

The objective of this work was to evaluate the activity of the fungus *Duddingtonia flagrans* in the control of infective larvae (L3) of gastrointestinal nematodes of heifers in the environment and in vitro after gastrointestinal transit. Ten heifers were used, divided into two groups: treated receiving (150g of pellets containing mycelial mass of the fungus, mixed with 500g of concentrate) and control receiving (500g of concentrate and pellets, without fungus). Twelve hours after fungal administration, fecal samples were collected directly from the animals' rectum for in vitro tests. The animals remained in grazing and 10 fecal boules were selected per treatment. To evaluate the fungal activity, each fecal bolus was delimited by means of cuttings and wires, after delimiting, the experimental unit was divided into 4 equal subdivisions (D7, D14, D21 and D28) by means of connections between the ends. Pasture, soil and feces samples were collected from each corresponding subdivision of the experimental unit for L3 recovery every seven days. The pasture samples were wrapped in gauze and immersed in sedimentation cups attached to the top of the cups, to recover the larvae, the feces and soil samples were placed on a tissue, inside a sieve and placed in a cup of sedimentation, all samples were submerged for 24 hours. After this period, the supernatant was removed and the sediment transferred to a conical tube for further quantification and identification of L3, and the samples were placed in an oven for dry matter determination. The in vitro activity demonstrated that the fungi effectively preyed on L3, obtaining an 88% reduction in feces. There was no difference ($P>0.05$) in the recovery of L3 in feces, but there was a reduction in the amount of L3 in the treated group and a gradual increase in the control group, demonstrating the fungal activity present in the fecal bolus of the treated group. The recovery of L3 in soil and in pasture was similar for both treatments. The fungus *D. flagrans* was able to support the gastrointestinal transit of animals by reducing the amount of L3.

Keywords: Prophylaxis, biological control, worms.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Unidade experimental D1, D2, D3 e D4.	15
Figura 2 - Predominância de gêneros de nematódeos gastrintestinais recuperados nas fezes, pasto superior e inferior e solo.	17
Figura 3 - Número médio de larvas infectantes (L3) de <i>Cooperia</i> spp. E <i>Haemonchus</i> spp. Recuperadas vivas e percentual de redução.	18
Figura 4 - Crescimento fúngico em placa de Petri do grupo tratado.	18
Figura 5 - Recuperação de L3/Kg MS nas fezes, pasto superior e inferior e solo dos grupos controle e tratado nos diferentes dias de coleta.	21

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Valores médios \pm desvio padrão (DP) durante o período experimental. ...	19
Tabela 2 - Recuperação de larvas infectantes (L3/Kg MS) nas fezes, solos e pasto dos grupos controle e <i>D. flagrans</i>	20

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	11
2. OBJETIVOS.....	12
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	12
4. MATERIAL E MÉTODOS	13
4.1 Avaliação <i>IN VITRO</i>	13
4.2 Local e área experimental.....	13
4.3 Animais e avaliações parasitológicas.....	14
4.4 Tratamento.....	14
4.5 Unidade Experimental.....	15
4.6 Coletas e amostras experimentais.....	15
4.7 Análises Laboratoriais.....	16
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	16
6. CONCLUSÕES.....	21
7. REFERÊNCIAS	22

1. INTRODUÇÃO

Entre os parasitas que acometem os bovinos, os nematódeos gastrintestinais causam um grande problema na criação de bovinos leiteiros, levando a prejuízos significativos na produção de leite, reduzindo o desempenho dos animais (HONER e BIANCHIN, 1987; WALLER e LARSEN, 1993), provocando distúrbios digestórios, anemia e morte em quadros graves (SOUZA, 2013).

O ciclo de vida do parasita é dividido em duas fases: fase de vida livre que se inicia com a eliminação do ovo nas fezes pelo hospedeiro até as larvas infectantes de terceiro estágio (L3), tendo um período pré-patente de sete a 10 dias. O desenvolvimento e migração da L3 das fezes para o pasto é influenciada pelas condições climáticas e pelo microclima fornecido pela forragem (O'Connor et al., 2006). A temperatura ótima, em geral, para a maioria das espécies é de 26-27 °C, e a umidade relativa do ar devem estar entre 70-100% (RAMOS, 2013). Após a ingestão das L3 pelo hospedeiro, tem início a fase de vida parasitária que se prolonga até larvas de quarto (L4) e quinto estágio (L5) (URQUHART *et al.*, 1996).

O controle das verminoses é um grande desafio nos sistemas agroecológicos de produção devido às restrições no uso de anti-helmínticos. De maneira geral, o manejo sanitário nesse tipo de sistema é à base de produtos homeopáticos e fitoterápicos, além de alternativas de manejo de pastagem e controle biológico (NEVES *et al.*, 2011). O controle biológico através dos fungos nematófagos é uma alternativa promissora no controle de nematódeos gastrintestinais no ambiente (ARAÚJO *et al.*, 2004). Dentre as categorias, os fungos predadores são os mais utilizados, tendo destaque à espécie *Duddingtonia flagrans*. Este fungo depois de fornecido na alimentação aos animais passa intacto através do trato gastrintestinal dos ruminantes, sendo eliminado nas fezes e colonizando o bolo fecal e capturando as larvas de nematódeos gastrintestinais, após o aprisionamento o fungo penetra as hifas na cutícula no nematóide onde ocorre o crescimento das hifas e digestão do conteúdo interno (ARAÚJO; RIBEIRO, 2003). Sendo assim, estudos nesta área de pesquisa se tornam de extrema importância para os sistemas de produção agroecológicos no controle das verminoses. Diante do exposto, o objetivo do trabalho foi avaliar a atividade do fungo nematófago *D. flagrans* no

controle de L3 de nematódeos gastrintestinais de novilhas no ambiente e *in vitro* após trânsito gastrintestinal.

2. OBJETIVOS

Estudar a ação do fungo nematófago *Duddingtonia flagrans* na redução da contaminação ambiental avaliando a recuperação de L3 de nematódeos gastrintestinais nas fezes remanescentes, pasto e solo nos dias 7, 14, 21 e 28.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Sistemas de produção agroecológico vêm crescendo atualmente na sociedade pela demanda dos consumidores que desejam alimentos, saudáveis e livres de resíduos químicos. Contudo, um dos fatores que mais interferem na produção agroecológica é o controle das infecções causadas por nematódeos.

A resistência que os nematódeos gastrintestinais vêm adquirindo ao uso de anti-helmínticos tem sido um grande desafio no controle da verminose. O uso indiscriminado e irregular dos anti-helmínticos no controle de nematoides tem levado ao aparecimento de resistências dos endoparasitas aos químicos, além da presença de resíduo nos alimentos (COSTA *et al.*, 2021). A resistência parasitária é definida como um aumento significativo na habilidade de uma população de parasitos para sobreviver a doses de um determinado composto químico, que elimina a maioria dos indivíduos de uma população suscetível da mesma espécie e (TORRES *et al.*, 2008).

A verminose causa grandes prejuízos aos animais ocorrendo grandes perdas significativas, animais jovens são os mais susceptíveis, em bovinos leiteiros segundo Bullen *et al.* (2016) há uma relação oposta entre a carga parasitária e a produção de leite. Em vacas pós-parto a verminose pode agravar o balanço energético negativo (BEN) que ocorre nas primeiras semanas após o parto (AZEVEDO *et al.*, 2008). A infecção por nematódeos ocorrem muitas vezes de forma silenciosa, mas as perdas são evidentes e alternativas de controle devem ser estudadas.

Em sistemas de produção agroecológica a homeopatia e a fitoterapia são medidas adotadas para o controle das infecções por nematódeos por meio de remédios e pomadas a base de extratos vegetais que tem o objetivo de estimular a

reação imunológica do animal parasitado (LABRE 2001). Outros manejos também são adotados nesses sistemas como rotação de pastagem, pastejo alternado e/ou misto entre diferentes espécies animal, seleção de animais resistentes e manejo adequado na nutrição visando aumentar a imunidade dos animais (ALMEIDA, 2013).

Atualmente novas alternativas no controle de nematódeos vêm sendo estudadas, como o uso de fungos nematófagos que visam diminuir o número de L3 no pasto (GIROTTO *et al.*, 2008). Entre os fungos nematófagos (endoparasitas, ovicidas e predadores), o grupo dos predadores é mais usado no controle biológico, possuem hifas e ao longo das hifas possuem armadilhas que capturam os nematódeos por adesão (VERÍSSIMO, 2008). Dentre os fungos predadores o que mais se destaca é da espécie *Duddingtonia flagrans* que é capaz de passar intacto pelo trato gastrointestinal devido a grande produção de estruturas de resistência esféricas (clamidósporos) que são eliminados junto com as fezes colonizando o bolo fecal (LARSEN *et al.*, 1992).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Avaliação *IN VITRO*

Para avaliar a atividade predatória do fungo, 12 h após o fornecimento dos pellets, foram realizadas a coleta de fezes diretamente do reto. Em laboratório, as fezes de ambos os grupos foram homogeneizadas, e retiradas duas amostras (2 g) de fezes de cada um dos grupos. As mesmas foram acondicionadas em placas de Petri (n=4) contendo ágar-ágar, antibiótico (Chemitril) e 3.000 L3 de *Haemonchus* spp. e *Cooperia* spp. Em seguida, as placas foram colocadas em estufa a 25 °C, por 14 dias. As L3 não predadas foram recuperadas pelo método de Baermann, sendo calculada a redução percentual de L3 através da fórmula:

$$\% \text{ Redução} = \frac{(\text{n}^\circ \text{ larvas controle} - \text{n}^\circ \text{ larvas tratadas})}{\text{N}^\circ \text{ larvas controle}} \times 100$$

Nº larvas controle

4.2 Local e área experimental

Os ensaios foram conduzidos no Centro Paranaense de Referência em Agroecologia (CPRA) no município de Pinhais, região metropolitana de Curitiba. A

área experimental foi composta de um piquete (900 m²), com predominância dos gêneros *Paspalum* sp. e *Trifolium* sp. onde foi fixado um período de descanso da pastagem de 60 dias no piquete antes do início dos testes.

4.3 Animais e avaliações parasitológicas

Foram utilizadas novilhas da raça Jersey (n=10) com peso médio de 230 Kg e idade aproximada de 10 meses. Uma semana antes do início do experimento, foram colhidas amostras fecais de todas as novilhas para obtenção do número de ovos de nematódeos gastrintestinais por grama de fezes (OPG) através da técnica de Gordon e Whitlock (1939) modificada (BUENO; GONÇALVES, 1998) para confirmação de infecção por nematódeos gastrintestinais, e para a realização de coproculturas de acordo com a técnica de Roberts e O'Sullivan (1950) para identificação dos gêneros de parasitas existentes.

4.4 Tratamento

As novilhas foram divididas em dois grupos (tratado e controle) através de colares de identificação. O grupo tratado (n=5) recebeu 150g de *pellets* em dose única contendo massa micelial do fungo *D. flagrans* (0.2g de micélio) misturados a 500g de concentrado (farelo de aveia). O grupo controle (n=5) recebeu 500g de concentrado e *pellets* sem fungo.

O isolado fúngico de *D. flagrans* (AC001) utilizado foi fabricado e cedido pelo Laboratório de Controle Biológico de Fitonematóides (Instituto de Biotecnologia Aplicada à Agropecuária - BIOAGRO) do Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Viçosa (UFV), Minas Gerais, Brasil. Os isolados serão oriundos do solo de Viçosa, MG, Brasil, produzidos pelo método de espalhamento do solo de Duddington (1955), modificado por Santos *et al.* (1991) em Viçosa, Minas Gerais. A obtenção da massa micelial será obtida segundo Braga *et al.* (2006) e os *pelletes* produzidos em matriz de alginato de sódio, descritos por Walker e Connick (1983) e modificado por Lackey *et al.* (1993).

Doze horas após a administração dos fungos, os animais do grupo tratado e controle foram direcionados ao piquete experimental. As novilhas ficaram em pastejo das 8 h até 14 h. Durante esse tempo, os animais fizeram a deposição dos bolos fecais, os quais foram às unidades experimentais. O observador selecionou ao

acaso 10 bolos fecais de animais tratados e 10 bolos fecais de animais controle, sendo a identificação facilitada devido os colares de identificação de cada grupo.

4.5 Unidade Experimental

Cada bolo fecal foi delimitado por meio de estacas e fios resistentes com a finalidade de isolar a touceira e identificar a unidade experimental. Após a delimitação, a unidade experimental foi dividida em 4 subdivisões iguais (D7,D14,D21 e D28). Devido à informação de que aproximadamente 90% das larvas não migram, lateralmente, mais do que 10 cm de distância das fezes (SKINNER; TODD, 1980) transectas que ultrapassem 10 cm do maior raio do bolo fecal serão utilizadas para demarcar as áreas de coleta (Figura 1). Os animais foram retirados do piquete, já que os mesmos não serão avaliados, e o piquete ficou livre de pastejo até o final de sua avaliação.

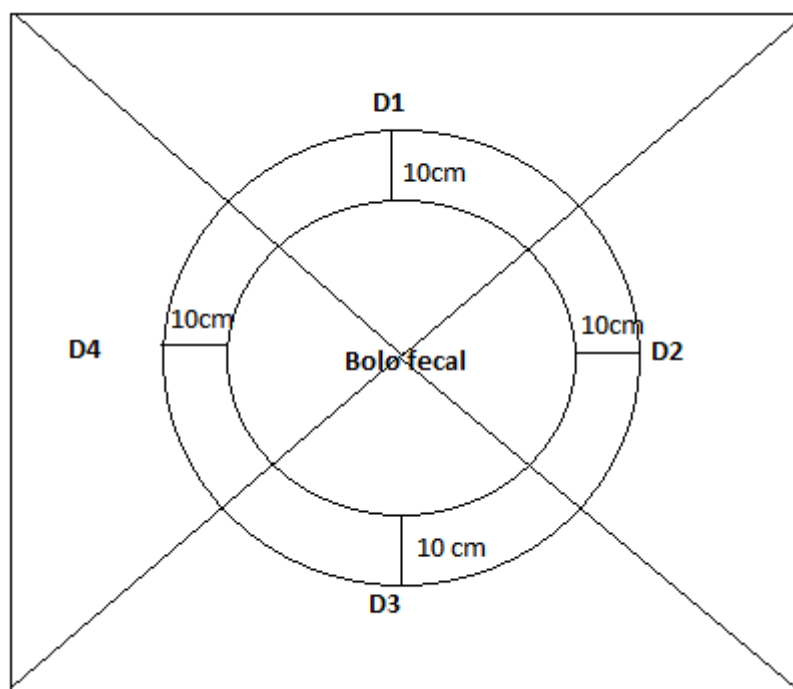


Figura 1 - Unidade experimental D1, D2, D3 e D4.
Fonte: a autora.

4.6 Coletas e amostras experimentais

As amostras foram coletadas a cada sete dias, sendo o D0 o dia da observação e demarcação das unidades experimentais. Foram coletadas amostras

de pasto superior e inferior e fezes de cada subdivisão e as amostras de solo foi coletada na profundidade de 10 cm nas diferentes áreas (bolo fecal e pastagem).

4.7 Análises Laboratoriais

As amostras foram acondicionadas em caixas térmicas, e direcionadas ao Laboratório de Parasitologia Animal da Universidade Estadual de Ponta Grossa. Para recuperação de larvas na pastagem (L3) as amostras de pasto foram enroladas em gaze e imersas em cálices de sedimentação presas na parte superior dos cálices com o auxílio de um arame. As amostras de pasto permaneceram submersas em água por 24 horas. Após este período as amostras de pasto foram retiradas e depois transferidas para uma estufa para determinação da matéria seca. E o sobrenadante do cálice foi desprezado e o sedimento transferido para um tubo cônico graduado com tampa, totalizando aproximadamente 1,5 ml. Este conteúdo foi examinado em microscópio e as larvas infectantes (L3) foram quantificadas de acordo com Keith (1953). Os resultados foram expressos em número de L3 por quilo de matéria seca (L3/kg MS).

Para a recuperação das larvas, nas amostras fecais e solo foram colocadas sobre um lenço de papel, dentro de uma peneira e colocadas em cálice de sedimentação, submersas em água por 24 horas. Após, o sobrenadante foi retirado e o sedimento transferido para tubo cônico para posterior quantificação e identificação das L3. As fezes e solo foram secas em estufa a 60°C por 72 horas para determinação da MS.

O delineamento experimental utilizado foi em blocos inteiramente casualizados com 2 tratamentos e 20 repetições. Para realização das análises estatísticas os valores de L3/Kg de MS serão convertidos pela equação $\text{Log}(x+1)$. Os dados foram submetidos a análise de variância e comparados pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de significância (Minitab, 2017).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em relação aos gêneros encontrados, houve uma predominância no grupo controle e tratado de *Cooperia* spp. e *Haemonchus* spp. (Figura 1). Este fato já foi relatado em inúmeros trabalhos (Fernandes *et al.*, 2017; Assis *et al.*, 2013), demonstrando que em regiões de clima tropical, estes gêneros são corriqueiros em bovinos.

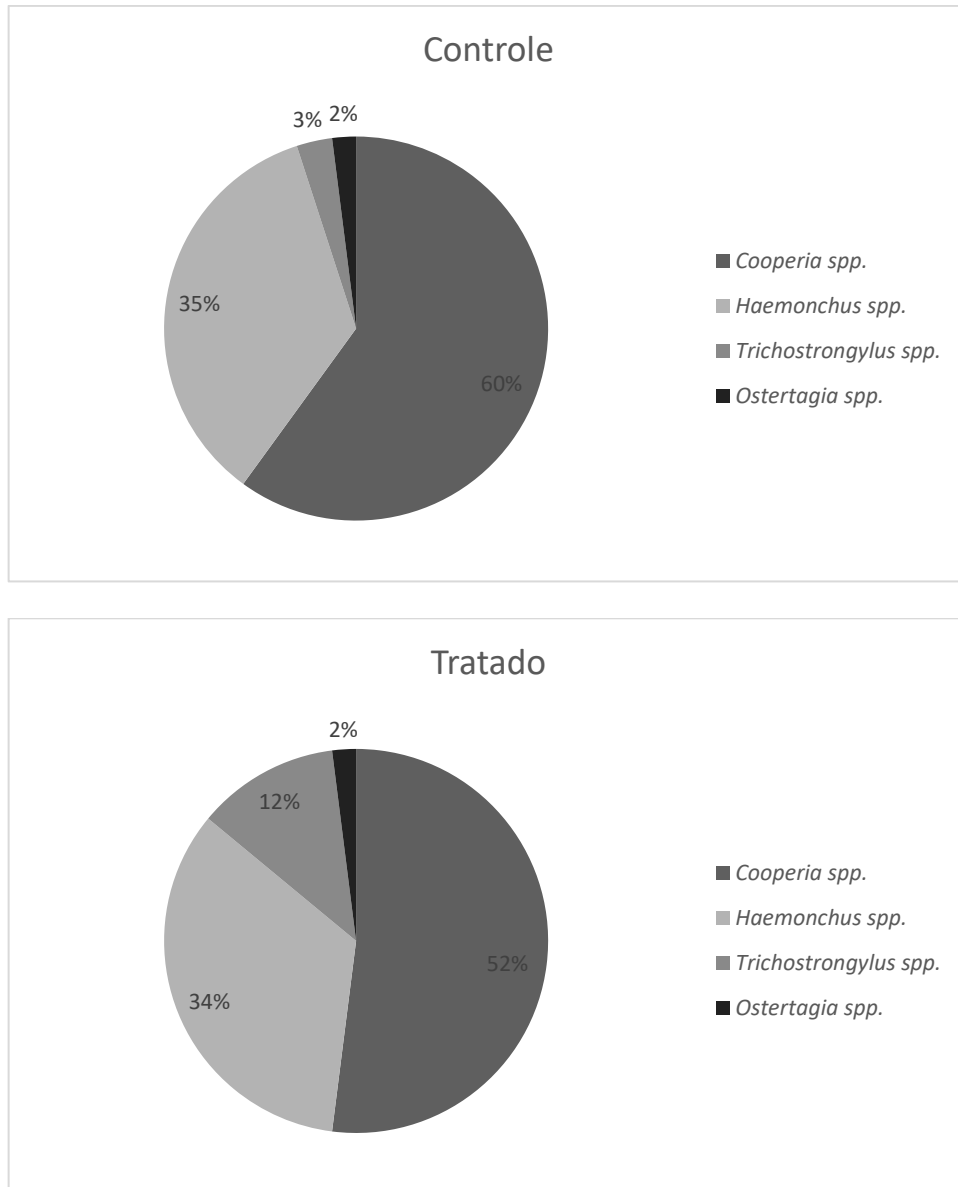


Figura 2 - Predominância de gêneros de nematódeos gastrintestinais recuperados nas fezes, pasto superior e inferior e solo.

No experimento realizado *in vitro* após 14 dias de incubação houve diferença estatística ($P < 0,05$) na recuperação de L3 (Figura 2). Um número maior de L3 foi obtido no tratamento controle (454 L3), enquanto no grupo tratado foram recuperadas apenas 52 L3, sendo o percentual de redução de 88% nas placas incubadas com fezes do animal que recebeu o fungo *D. Flagrans* (AC001).

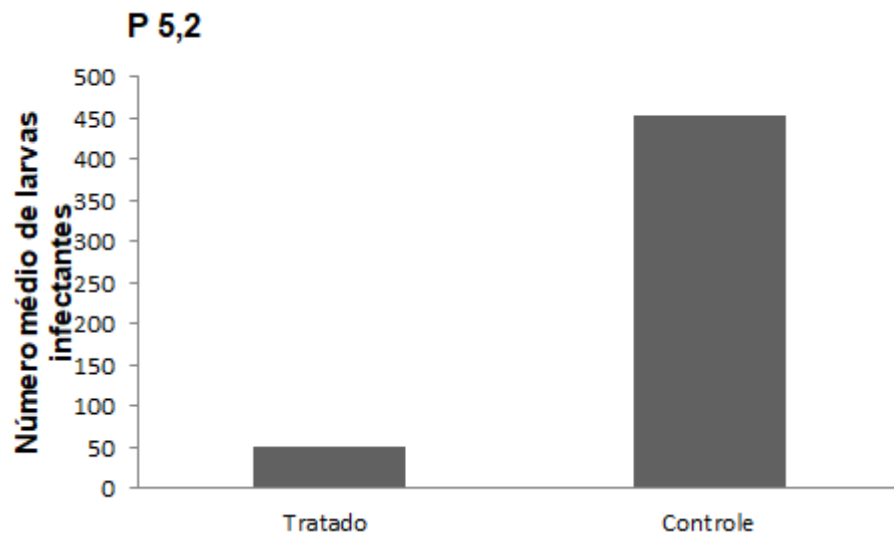


Figura 3 - Número médio de larvas infectantes (L3) de *Cooperia* spp. E *Haemonchus* spp. Recuperadas vivas e percentual de redução.

Trabalhos *in vitro* são importantes para mostrar a capacidade dos fungos em preda as larvas de nematódeo. O fungo nematófago *D. flagrans* preda os nematódeos por meio de hifas adesivas e possui destaque devido a sua grande produção de clamidósporos que são altamente resistentes a condições adversas (Sanyal *et al.*, 2004). As estruturas fúngicas nas placas de Petri podem ser observadas na Figura 3.



Figura 4 - Crescimento fúngico em placa de Petri do grupo tratado.
Fonte: a autora.

Resultados semelhantes a este estudo foram relatados por Araújo *et al.* (2006) avaliando a capacidade predatória *in vitro* do *D. flagrans* (AC001) para diferentes nematódeos (*Haemonchus* spp. e *Strongyloides* spp.). Observaram redução significativa no número de L3 de ambas as espécies de nematódeos em comparação aos grupos controle. Silva *et al.* (2013) obtiveram eficácia superior a 81,2% após 72 horas da administração oral de 150 g de *pellets* contendo massa micelial de *D. flagrans* ou *Monacrosporium thaumasium* em fêmeas bovinas.

Não houve diferença estatística ($P>0.05$) na recuperação de L3 nas fezes entre os tratamentos. Mas, houve diferença estatística na recuperação de L3 nos diferentes dias para os tratamentos (Tabela 2). No D0 e D7 a recuperação foi nula em ambos os tratamentos. Este fato ocorre porque existe um tempo variável para desenvolvimento das larvas no bolo fecal, média de sete dias em temperatura de 25 °C (Amarante, 2014). No entanto, este período não foi suficiente devido às médias de temperatura no período ser de 19°C (Tabela 1).

Tabela 1 - Valores médios \pm desvio padrão (DP) durante o período experimental.

Variáveis	1° Coleta		2° Coleta		3° Coleta		4° Coleta	
	Média	Faixa	Média	Faixa	Média	Faixa	Média	Faixa
TA (°C)	18,75 \pm 0,71	16,50-21,00	18,58 \pm 1,17	13,67-23,50	19,71 \pm 1,18	14,57-24,86	20,00 \pm 1,10	16,86-23,14
UR (°C)	80,72 \pm 9,05	71,00-92,25	80,21 \pm 8,72	65,75-90,25	78,89 \pm 5,83	72,50-86,75	85,05 \pm 5,51	73,00-91,00
RF (mm)	2,92	-	0,00	-	0,02	-	0,34	-

TA: temperatura ambiente.

UR: umidade relativa do ar.

RF mm: precipitação.

O D14 e D21 não diferiram entre si, mas diferiu das demais coletas. No tratamento controle houve uma maior recuperação de L3 no D21, enquanto no *D. flagrans* a maior recuperação foi no D14. Neste período ocorreu um aumento da temperatura para 23°C. No entanto houve uma redução na quantidade de L3 no

grupo tratado, e um aumento gradativo na quantidade de L3 no grupo controle (Figura 4).

Tabela 2 - Recuperação de larvas infectantes (L3/Kg MS) nas fezes, solos e pasto dos grupos controle e *D. flagrans*.

Controle					<i>D. flagrans</i>				
Fezes									
Dias	N	L3/Kg MS	DP	P	Dias	N	L3/Kg MS	DP	P
0	10	0 ^b	0,00	0,00	0	10	0 ^b	0,00	0,00
7	10	0 ^b	0,00		7	10	0 ^b	0,00	
14	10	3865 ^a	1,94		14	10	20545 ^a	1,41	
21	10	12286 ^a	1,76		21	10	7070 ^a	0,49	
Solo									
0	10	0 ^b	0,00	0,02	0	10	0 ^b	0,00	0,00
7	10	0 ^b	0,00		7	10	0 ^b	0,00	
14	10	48 ^{ab}	0,99		14	10	0 ^b	0,00	
21	10	611 ^a	1,55		21	10	210 ^a	1,18	
Pasto Superior									
0	10	0 ^b	0,00	0,01	0	10	223,6 ^b	1,37	0,00
7	10	75 ^{ab}	1,04		7	10	191,4 ^b	1,35	
14	10	3204 ^{ab}	1,70		14	10	785,8 ^{ab}	1,42	
21	10	7349 ^a	2,04		21	10	6069,9 ^a	1,26	
Pasto inferior									
0	10	0 ^b	0,00	0,00	0	10	135	1,12	0,06
7	10	57 ^{ab}	1,09		7	10	88	1,18	
14	10	809 ^a	1,43		14	10	1368	1,61	
21	10	1777 ^a	1,73		21	10	2146	1,58	

N: número de amostras.

DP: desvio padrão.

P: diferença estatística, a 5%.

O comportamento de recuperação de L3 no solo, e nos diferentes estratos do pasto foi semelhante nos dois tratamentos, tendo um aumento da terceira para quarta e última avaliação em ambos os grupos. Isso mostra que as larvas que não foram predadas no bolo fecal, seguiram seu crescimento e desenvolvimento, resultando em um maior número de L3 na última avaliação. Segundo Baiak *et al.*, (2021) isso se deve a quantidade de ovos que foram eliminados pelos animais

atraves das fezes. Isso porque o fungo *D. flagrans* teve pouco crescimento além do bolo fecal e na superfície do solo (Faedo *et al.*, 2002).

A maior quantidade de larvas recuperadas no ápice das plantas do D21 nos diferentes grupos se deve as condições elevadas de umidade devido às chuvas que ocorreram durante a noite no período de avaliação. Esta umidade fez um filme de água na planta fazendo com que grandes quantidades de L3 conseguissem migrar para o ápice da forrageira (Santos *et al.*, 2012).

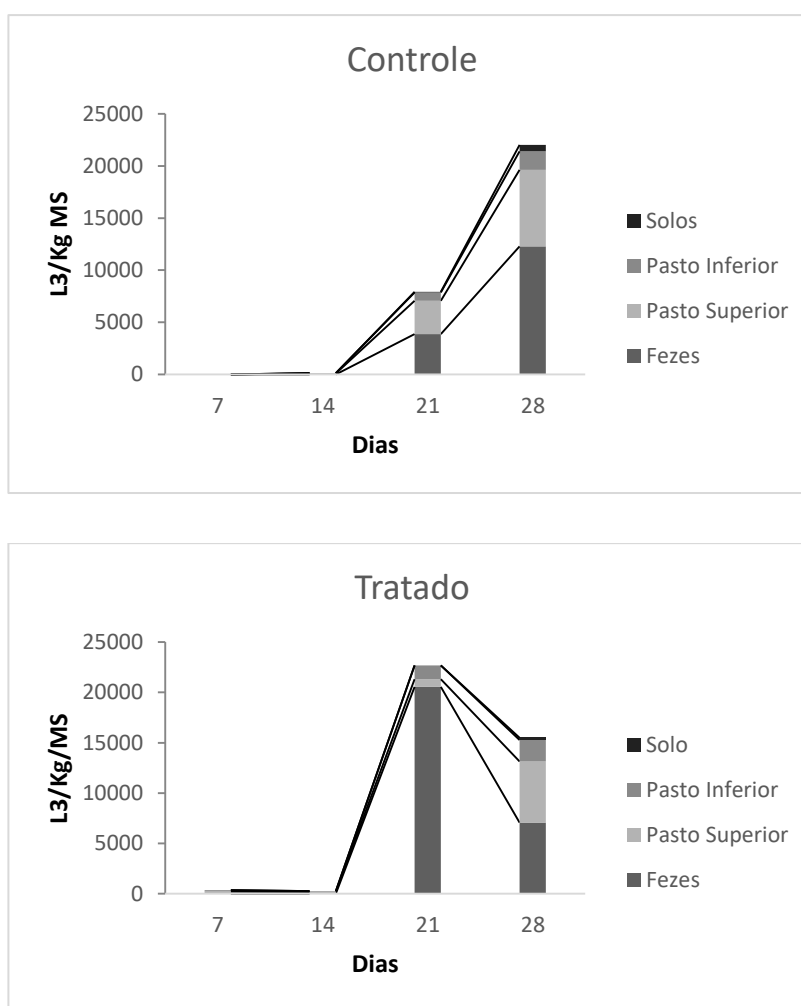


Figura 5 - Recuperação de L3/Kg MS nas fezes, pasto superior e inferior e solo dos grupos controle e tratado nos diferentes dias de coleta.

6. CONCLUSÕES

O fungo *D. flagrans* demonstrou ser capaz de suportar o transito gastrintestinal dos animais, e reduzir a quantidade de L3 no teste *In Vitro*, sendo uma alternativa promissora no controle de nematódeos gastrintestinais. Desta forma

o controle biológico com o uso de fungos nematófagos tende a se tornar uma alternativa promissora nos centros agroecológicos.

7. REFERÊNCIAS

ALMEIDA, L. R. Manejo de parasitoses em sistema orgânico de produção de leite. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 80, n. 1, p. 129–134, 2013.

AMARANTE, A. F. T. Classe nematoda. In: Os parasitas de ovinos [online]. São Paulo: Editora UNESP, 2014, pp. 13-97. ISBN 978-85-68334-42-3.

Araújo, J. V. e Ribeiro, R. R. Atividade predatória sobre larvas de tricostrongilídeos (Nematoda: Trichostrongyloidea) de isolados fúngicos do gênero *Monacrosporium* após a passagem pelo trato gastrointestinal de bovinos. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v 12, p.76-81, 2003.

Araújo, J. V.; Assis, R. C. L.; Campos, A. K. e Mota, M. A. Efeito antagônico de fungos predadores dos gêneros *Monacrosporium*, *Arthrobotrys* e *Duddingtonia* sobre larvas infectantes de *Cooperia* sp. e *Oesophagostomum* sp. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 58, p. 373–380, 2006.

Araújo, J. V.; Mota, M. A.; Campos, A. K. Controle Biológico de Helmintos Parasitos de Animais por Fungos Nematóforos. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.13, p. 65-71, 2004.

ASSIS, R.C.L.; LUNS, F.D.; ARAÚJO, J.V. et al. 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.

AZEVEDO, Danielle Maria Machado Ribeiro; ALVES, Arnaud Azevedo; SALES, Ronaldo de Oliveira. Principais Ecto e Endoparasitas que Acometem Bovinos Leiteiros no Brasil: Uma Revisão. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, Ceará, v. 2, n. 4, p. 43-55, abr. 2008.

BAIAK, Barbara Haline Buss; GASPARINA, Jennifer Mayara; IANKE, Letícia; SOUSA, Karolini Tenffen de; DENIZ, Matheus; PEREIRA, Leticia Macedo; ARAÚJO, Jackson Victor; ROCHA, Raquel Abdallah da; DITTRICH, João Ricardo. Predatory activity of nematophagous fungus *Duddingtonia flagrans* in infective larvae after gastrointestinal transit: biological control in pasture areas and in vitro. **Journal Of Helminthology**, [S.L.], v. 95, n. 31, p. 1-8, abr. 2021.

BUENO, H.; GONÇALVES, P.C. Manual para diagnóstico das helmintoses de ruminantes. 4.ed. JICA, 1998. 166p.

BULLEN, Si; BEGGS, Ds; MANSELL, Pd; RUNCIMAN, Dj; MALMO, J; PLAYFORD, Mc; PYMAN, Mf. Anthelmintic resistance in gastrointestinal nematodes of dairy cattle in the Macalister Irrigation District of Victoria. **Australian Veterinary Journal**, [S.L.], v. 94, n. 1-2, p. 35-41, jan. 2016.

COSTA, V, M, M.; SIMÕES, S. V. D; CORREA, F. R. Controle das parasitoses gastrintestinais em ovinos e caprinos na região semiárida do Nordeste do Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, vol. 31, nº 1, p. 65-71, Janeiro de 2021.

Faedo, M, Larsen, M, Dimander, SO, Yeates, GW, Höglund, J and Waller. Growth of the fungus *Duddingtonia flagrans* in soil surrounding feces deposited by cattle or sheep fed the fungus to control nematode parasites. **Biological Control** 23, 64–70, 2002.

FERNANDES, F. M.; AGUIAR, A. R.; SILVA, L. P. C.; SENNA, T.; MELLO, I. N. K.; OLIVEIRA, T.; FREITAS, S. G.; SILVEIRA, W. F.; BRAGA, F. R.; ARAÚJO, J. V. Biological control on gastrointestinal nematodes in cattle with association of nematophagous fungi. **Biocontrol Science And Technology**, [S.L.], v. 27, n. 12, p. 1445-1453, 22 nov. 2017.

GIROTTO, Marcos José; AQUINO, Luiz Fernando Bueno; PEREZ, Renato Belei; NEVES, Maria Francisca; SACCO, Soraya Regina. O uso de fungos nematófagos no controle biológico de nematóides parasitas: revisão de literatura. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, Garça, v. 4, n. 10, p. 1-7, jan. 2008.

GORDON, H.; WHITLOCK, H.V. A new technique for counting nematode eggs in sheep faeces. **Journal of Commn Wealth Science Industry Organization**. v. 12, p. 50-52, 1939.

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

KEITH, R.K. Differentiation of infective larval of some common nematode parasites of cattle. **Australian Journal of Zoology**, v.1, n. 2, p.223-235, 1953.

LABRE, P. Homéopathie vétérinaire chez les ovins, bovins et caprins. Villeurbanne: **Formation et Edition en Médecines Naturelles Vétérinaires**, 2001. 280p.

LARSEN, M.; WOLSTRUP, J.; HENRIKSEN, S. A.; GRØNVOLD, J.; NANSEN, P. In vivo passage through calves of nematophagous fungi selected for biocontrol of parasitic nematodes. **Journal Of Helminthology**, [S.L.], v. 66, n. 2, p. 137-141, jun. 1992.

NEVES, H. H.; HOTZEL, M. J.; HONORATO, L. A.; FONSECA, C. E. M.; MATA, M. G. F.; SILVA, J. B.. Controle de verminose gastrintestinais em caprinos utilizando preparados homeopáticos. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 1, n. 7, p.145-151, 2011.

RAMOS, S. C. J. **Avaliação das parasitoses gastrintestinais em bovinos de raça brava durante a primavera e verão**. 2013. 102 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Técnica de Lisboa - Faculdade de Medicina Veterinária. 2013.

ROBERTS, F. H. S.; O'SULLIVAN, P. J. Methods for egg counts and larval cultures for strongyles infecting the gastro-intestinal tract of cattle. **Australian Journal of Agricultural Research**, v.1, p.99-102, 1950.

SANTOS, M. C.; SILVA, B. F.; AMARANTE, A. F. T. Environmental Factors Influencing the Transmission of *Haemonchus contortus*. **Veterinary Parasitology**, v.188, p.277-84, 2012.

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

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

SKINNER, W. D.; TODD, K. S. Lateral migration of *Haemonchus contortus* larvae on pasture. **American Journal of Veterinary Research**, v. 41, p. 395-398, 1980.

SOUZA, M. F. **Recuperação de larvas infectantes, carga parasitária e desempenho de cordeiros terminados em pastagens com distintos hábitos de crescimento**. 2013. 107 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2013.

TORRES ACOSTA, J. F. L.; HOSTE, H. Alternative or improved methods to limit gastro intestinal parastism in grazing sheep and goats. **Small Ruminant Research, Amsterdam**, v. 77, n. 2-3, p. 159-173, July 2008.

URQUART, G. M.; ARMOUR, J.; DUNCAN, J. L.; DUNN, A. M.; JENNINGS, F. W. **Parasitologia Veterinária**. Santa Maria: Guanabara Koog, p. 272 1996. Odessa: Instituto de Zootecnia, 2008.

URQUART, G. M.; ARMOUR, J.; DUNCAN, J. L.; DUNN, A. M.; JENNINGS, F. W. **Parasitologia Veterinária**. Santa Maria: Guanabara Koog, p. 272 1996. WALLER, P. J.; LARSEN, M. The role of nematophagous fungi in the biological control of nematode parasites of livestock. **International Journal Parasitology**, v.23, p.539-546, 1993.

VERÍSSIMO, Cecília José. **Alternativas de controle da verminose em pequenos ruminantes**. Nova Odessa: Instituto de Zootecnia, 2008.

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