

UFRRJ

**INSTITUTO DE VETERINÁRIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
VETERINÁRIAS**

DISSERTAÇÃO

Nematóides ciatostomíneos: Avaliação do desenvolvimento de ovos em baixas temperaturas e efeito de extratos de plantas sobre as fases pré-parasíticas.

Luciene Soares de Souza

2011



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

**NEMATÓIDES CIATOSTOMÍNEOS: AVALIAÇÃO DO
DESENVOLVIMENTO DE OVOS EM BAIXAS TEMPERATURAS E
EFEITO DE EXTRATOS DE PLANTAS SOBRE AS FASES PRÉ-
PARASÍTICAS**

LUCIENE SOARES DE SOUZA

Sob a Orientação da Professora
Maria de Lurdes de Azevedo Rodrigues

e Co-orientação do Professor
Helcio Resende Borba

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau **Mestre em Ciências**, no Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Área de concentração em Parasitologia Veterinária.

Seropédica, RJ
Fevereiro de 2011

592.57

S729n

T

Souza, Luciene Soares de, 1977-

Nematóides ciatostomíneos: Avaliação do desenvolvimento de ovos em baixas temperaturas e efeito de extratos de plantas sobre as fases pré-parasíticas / Luciene Soares de Souza - 2011.

96 f. : il.

Orientador: Maria de Lurdes de Azevedo Rodrigues.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias.

Bibliografia: f. 64-73.

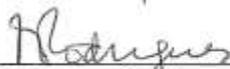
1. Nematoda - Teses. 2. Nematoda - Armazenamento - Teses. 3. Nematoda em plantas - Teses. 4. Parasitologia Veterinária - Teses. I. Rodrigues, Maria de Lurdes de Azevedo, 1955-. II. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias. III. Título.

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

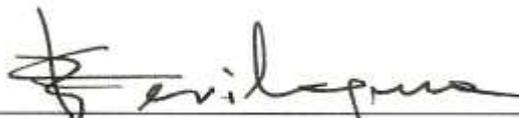
LUCIENE SOARES DE SOUZA

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências** no Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, área de concentração em Parasitologia Animal.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM: 24/02/2011.



Maria de Lurdes de Azevedo Rodrigues (Ph.D.) – UFRRJ
Orientador



Cláudia Maria Leal Bevilaqua (Dr.^a) – UECE



Clélia Christina Corrêa de Mello Silva (Dr.^a) – FIOCRUZ

Ao **SENHOR DEUS**, por ser a base de minhas conquistas!!!
Glórias a Ele sejam dadas!

“Confia ao Senhor a liderança de seu trabalho, e desse modo o que você planejou se realizará.”

(Provérbios 16:3).

Aos **meus pais**, por acreditarem e terem interesse em minhas escolhas, conquistas e realizações, apoiando-me e esforçando-se junto a mim...

Dedico...

Às amigas Fernanda Lira, Marcelle, Gleyce, Aline Mara, Loide Regina, Vivian Suane, Lianna Baltazar, Mônica, Theany, Juliana Tostes e Eva Adriana e que me acompanharam durante essa jornada, dividindo alegrias e tristezas, com ânimo e força.

“Em todo o tempo ama o amigo e na angústia nasce o irmão.”

(Provérbios 17:17).

Meus sinceros agradecimentos!

Eu Amo muito Vocês!!!

AGRADECIMENTOS

“(...) Quando a última cena passou diante de nós, olhei para trás, para as pegadas na areia e notei que muitas vezes, no caminho da minha vida, havia apenas um par de pegadas na areia.

Notei também que isso aconteceu nos momentos mais difíceis e angustiosos do meu viver (...). Notei que durante as maiores atribulações do meu viver, havia apenas um par de pegadas na areia (...).

Então o Senhor me respondeu: - Meu querido filho, jamais eu te deixaria nas horas de provas e de sofrimento. Quando viste, na areia, apenas um par de pegadas, eram as minhas. Foi exatamente neste momento que eu te carreguei nos braços.”

“Pouco conhecimento faz que as criaturas se sintam orgulhosas,

Muito conhecimento, que se sintam humildes.

É assim que as espigas sem grãos erguem desdenhosamente a cabeça para o céu, enquanto que as cheias a baixam para a terra, sua mãe.”

Leonardo da Vinci

- Agradeço primeiramente ao Soberano **SENHOR DEUS**, por ter permitido, fortalecido minha fé e sustentado durante todo o desenvolvimento deste trabalho. A Ele toda a honra e glória!!!
- À professora Maria de Lurdes de Azevedo Rodrigues, pela orientação, apoio, repreensões, conselhos e compreensão.
- Ao Professor Helcio Resende Borba pelo apoio, incentivo e amizade, não medindo esforços para o fornecimento dos extratos de plantas.
- Aos professores Jairo Pinheiro e Wagner Tassinari, pelo apoio na parte estatística deste trabalho.
- Aos meus amados pais, Manoel e Ione, que sempre estiveram ao meu lado, nunca medindo esforços para ajudar-me. Com amor incondicional me apoiaram, compreenderam a minha ausência, dando encorajamento e ânimo nessa caminhada! **Eu amo muito vocês!!!**
- Aos meus amados irmãos, Eduardo e Marcelle, pelo amor, amizade, compreensão e apoio!
- Às minhas tias, vovó, primos e cunhados Gleyce e Rogério pelo carinho, sustento e força em todos os momentos!
- Ao lindo sobrinho Kauã que sempre fortaleceu o meu coração com o seu sorriso e alegria!!!
- Aos meus queridos amigos, e em especial, Claudia Abreu, Loide Regina, Vergínia, Eva Adriana, Juliana Tostes, Geovana, Adriana Marçal, Vanessa Peres, Mônica, Pr. Elias, Allan Karl, Alex Soares, Alex Santos, Alisson Jordão, Arley, Ahmed, André de Souza (Tilé), Alexander Sil, Fabiano Paschoal, Igor de Sousa, Rudson, Oscar, Otoniel, Osmir, Rogério Peres, Tiago Lima Rodrigues, Tiago Carvalho e Victor Torres pelo carinho, compreensão e incentivo durante esta jornada.
- Às amigas que se tornaram como irmãs, Gleyce Ornelas (cunhada), Fernanda Lira, Lianna Baltazar, Aline Mara, Eva Adriana, Theany e Vivian Suane que caminharam comigo e vivenciaram, diariamente, cada expectativa, medos, alegrias e tristezas, não permitindo que eu fraquejasse. **A caminhada se tornou mais leve com a presença de vocês!**
- Ao Pastor Vanderlei Batista Marins e sua esposa Sr^a Rita pela amizade, amor, atenção, orações e palavras de ânimo e fé!
- Aos irmãos da Primeira Igreja Batista em Alcântara e Primeira Igreja Batista em Seropédica pelo carinho e por minha vida.
- Aos estagiários, bolsistas e mestrandos do Laboratório de Helminologia Veterinária que contribuíram para a realização deste projeto. Muito obrigada!!!

- À equipe do laboratório do Prof. Luiz Carlos Massard pelo auxílio com o microscópio.
- Aos professores e funcionários do Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias que contribuíram direta ou indiretamente na elaboração deste trabalho.
- Ao Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, pelo auxílio financeiro para a concretização deste trabalho.
- Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo auxílio financeiro, através da bolsa de iniciação científica CNPq/PIBIC durante o período de graduação, onde todo esse projeto de pesquisa teve início.
- À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Ensino Superior (CAPES) e pelo auxílio financeiro através da bolsa de estudos.

*“Uma vida sem amor é como árvores sem flores e sem frutos.
E um amor sem beleza é como flores sem perfume.
Vida, amor, beleza: eis a minha trindade”.*

“Os que esperam no Senhor renovarão as suas forças, subirão com asas como águias; correrão e não se cansarão, caminharão e não se fadigarão.”

“Para que todos vejam, e saibam e considerem, e juntamente entendam que a mão do Senhor fez isto, e o Santo de Israel o criou”.

(Isaías 40:31; 41:20)

De tudo ficaram três coisas:

*A certeza de que estava sempre começando,
A certeza de que era preciso continuar,
E a certeza de que seria interrompido antes
de terminar.*

*Fazer da interrupção, um caminho novo,
Fazer da queda, um passo de dança,
Do medo, uma escada,
Do sonho, uma ponte,
Da procura, um encontro.*

(Fernando Pessoa)

BIOGRAFIA

LUCIENE SOARES DE SOUZA, filha de Manoel Soares de Souza Filho e Ione da Costa Souza, nasceu em 20 de julho de 1977 na cidade de São Paulo. Reside em São Gonçalo, onde concluiu o Nível Fundamental no Colégio Estadual Dr. Adino Xavier em 1992 e nível médio em 1995 no Instituto de Educação Clélia Nanci.

Ingressou em 2003 no curso de Zootecnia na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), onde obteve o grau de Bacharel em 19 de abril de 2008. Durante o período de graduação foi estagiária do laboratório de Helminologia Veterinária, sendo contemplada com bolsa de Iniciação Científica pelo CNPq/PIBIC, sob a orientação da Dr^a. Maria de Lurdes de Azevedo Rodrigues, no período de agosto de 2004 a julho de 2008. Participou de trabalhos de pesquisa desenvolvidos no laboratório de Helminologia sito à Estação para Pesquisas Parasitológicas W. O. Neitz, Departamento de Parasitologia Animal, Instituto de Veterinária, UFRRJ.

Em março de 2009 iniciou o Mestrado no Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, na área de concentração em Parasitologia Animal sob a orientação da Professora Dr^a. Maria de Lurdes de Azevedo Rodrigues, sendo bolsista pela CAPES.

Durante o período acadêmico registrou-se a participação com envio de trabalhos em congressos e eventos científicos, totalizando 28 publicações em anais de eventos; recebendo Menção Honrosa na XVII Jornada de Iniciação Científica da UFRRJ, como premiação na categoria das cinco melhores apresentações em pôster na área da Vida e Ciência Animal. Foi aceito 1(um) artigo para publicação em revista Nacional e outros 2 (dois) estão em fase de elaboração para posterior submissão às revistas científicas.

Nesta data apresenta e defende esta Dissertação como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências.

RESUMO

SOUZA, Luciene Soares de. **Nematóides Ciatostomíneos: Avaliação do desenvolvimento de ovos em baixas temperaturas e efeito de extratos de plantas sobre as fases pré-parasíticas**. 2011. 96p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias). Instituto de Veterinária, Departamento de Parasitologia Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2011.

Os ciatostomíneos (Cyathostominae) são os nematóides mais abundantes no intestino grosso dos equinos. Devido aos problemas com o aumento da resistência parasitária aos anti-helmínticos, tem crescido o interesse sobre o efeito medicinal das plantas no sentido de encontrar novas alternativas e métodos para controle da prevalência e severidade das infecções por ciatostomíneos. O efeito da temperatura sobre o desenvolvimento de ovos dos ciatostomíneos e o tempo de armazenamento das fezes são pouco estudados, sendo este o primeiro trabalho realizado *in vitro* sob condições de estoque em baixas temperaturas. Este trabalho objetivou avaliar o desenvolvimento de ovos de ciatostomíneos recuperados de fezes mantidas sob diferentes temperaturas e testar o efeito de extratos de plantas sobre as fases pré-parasíticas desse parasito, sendo dividido em dois capítulos. O capítulo I trata da avaliação da influência de baixas temperaturas sobre o desenvolvimento dos ovos até o primeiro estágio larval (L₁) e terceiro estágio larval (L₃), sendo dividido em quatro etapas com modificações na metodologia. Para a execução dos experimentos, fezes foram coletadas diretamente de equinos não vermifugados. Posteriormente, foram realizados a contagem de ovos por grama de fezes (OPG) para estimativa da carga parasitária de cada animal doador e coproculturas para identificação das L₃. A massa total foi homogeneizada e as amostras reservadas foram mantidas armazenadas sob diferentes temperaturas: refrigeração ($\pm 10^{\circ}\text{C}$) e congelamento (-4°C), durante o período de execução de cada experimento. Semanalmente ou quinzenalmente, conforme a metodologia adotada no experimento, ovos (± 300) foram recuperados e mantidos em placas de petri à temperatura ambiente ($\pm 25^{\circ}\text{C}$), sendo observados ao microscópio óptico (40x) após 24h para contagem das diferentes fases de desenvolvimento do ovo até L₁. As L₃ foram recuperadas por meio de coproculturas. O capítulo II tratou da avaliação do efeito do extrato aquoso de duas plantas, *Solanum lycocarpum* e *Curatella americana*, sobre ovos, L₁ e L₃ de ciatostomíneos. Ovos foram recuperados (± 400) de massa fecal fresca, as L₁ (± 400) após 24h, e as L₃ através da técnica de coprocultura. Os experimentos foram conduzidos separadamente, a fim de avaliar o percentual de inibição do desenvolvimento dos ovos (%IDO) e o percentual de eficácia na mortalidade larval (%LM) pela ação dos extratos em três diferentes concentrações (5, 2,5 e 1%) durante 24h. Esse foi o primeiro trabalho realizado com avaliação e observação do desenvolvimento de ovos de ciatostomíneos em baixas temperaturas, durante as estações. Através dos estudos apresentados no capítulo I observou-se variação no desenvolvimento dos ovos até o estágio de L₃ nas diferentes estações, em amostras mantidas sob $\pm 10^{\circ}\text{C}$ e -4°C . No capítulo II, observou-se que os extratos aquosos das plantas avaliadas apresentaram melhor efeito larvicida sobre as L₁ e não apresentaram efeito ovicida sobre os ovos de ciatostomíneos. Conclui-se que a temperatura de congelamento não matou os ovos; as massas fecais podem ser estocadas por um período de 30 dias para diagnósticos e mais estudos precisam ser realizados *in vitro* com extratos aquosos da *Solanum lycocarpum* e *Curatella americana*, a fim de verificar o potencial anti-helmíntico em outras concentrações.

Palavras-chave: ciatostomíneos, armazenamento, extratos vegetais.

ABSTRACT

SOUZA, Luciene Soares de. **Cyathostomin nematode: evaluation of the development of eggs at low temperatures and the effect of plant extracts on the pre-parasitic. 2011. 96p. Dissertação** (Mestrado em Ciências Veterinárias). Instituto de Veterinária, Departamento de Parasitologia Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2011.

The cyathostomin (Cyathostominae) are the most abundant nematodes in the large intestine of horses. Due to problems with increasing parasite resistance to anthelmintics has been growing concern about the effect of medicinal plants in order to find new and alternative methods to control the prevalence and severity of infections cyathostomin. The effect of temperature on egg development of cyathostomin and storage time of the stool are poorly studied, and this is the first study performed in vitro under storage conditions at low temperatures. The aim of this study was evaluated the development of eggs recovered from faeces, kept under different temperatures and test the effect of plant extracts on the eggs, first stage larvae (L₁) and infective larvae (L₃) cyathostomin, divided into two chapters. The first chapter deals with the evaluation of the influence of low temperatures on egg development until the first larval stage (L₁) and third larval stage (L₃), divided into four experiments with changes in the methodology. For the execution of experiments, feces were collected directly from horses not dewormed. Later they were made to count eggs per gram (EPG) to estimate the parasite load of each donor animal and stool cultures for identification of L₃. The total mass was homogenized and samples were kept undisclosed stored under different temperatures: refrigeration ($\pm 10^{\circ}\text{C}$) and congelation (-4°C) during the duration of each experiment. Weekly or fortnightly, depending on the methodology used in the experiment, eggs (± 300) were recovered and kept in petri dishes at room temperature ($\pm 25^{\circ}\text{C}$) and observed under an optical microscope (40x) after 24 hours to count the different stages of development of the egg to L₁. The L₃ were retrieved via coproculture. But the chapter 2 evaluates the effect of aqueous extract of two plants, *Solanum lycocarpum* and *Curatella americana* both from Three Marias-MG, on cyathostomin eggs, L₁ and L₃. Eggs (± 400) were recovered from fresh fecal mass, the L₁ (± 400) after 24 hours of developing eggs, and L₃ using the coproculture. The experiments were conducted separately to assess the percentual of inhibition development eggs (% IDO) and the percentual of reduction larval motility (%RML) by the action of extracts in the concentrations of 5, 2,5 and 1% during 24h. This was the first study performed with assessment and observation of developing eggs cyathostomin at low temperatures during the seasons. The studies presented in chapter I observed variation in egg development until the L₃ stage in different seasons, in samples kept under $\pm 10^{\circ}\text{C}$ and -4°C . In Chapter II, it was observed that the aqueous extracts of the plants showed better evaluated larvicidal effect on L₁ and had no effect on the eggs ovicidal cyathostomin. It follows that the congelation temperature of the eggs not killed; faecal masses can be stored for a period of 30 days for diagnosis and further studies must be performed in vitro with aqueous extracts of *Solanum lycocarpum* and *Curatella american* to verify the potential anthelmintic in other concentrations.

Key words: cyathostomin, storage, plant extracts.

LISTA DE TABELAS

TABELAS	Pág.
CAPÍTULO I	
Experimento I	
1: Diferentes fases de ovo até L ₁ à temperatura de $\pm 10^{\circ}\text{C}$ e -4°C no período de Setembro/2004 a Março/2006.	23
Experimento II	
1: Diferentes fases de ovo a L ₃ sob ação da temperatura de $\pm 10^{\circ}\text{C}$ e -4°C na estação Outono/2005	27
2: Diferentes fases de ovo a L ₃ sob ação da temperatura de $\pm 10^{\circ}\text{C}$ e -4°C na estação Inverno/2005	28
3: Diferentes fases de ovo a L ₃ sob ação da temperatura de $\pm 10^{\circ}\text{C}$ e -4°C na estação Primavera/2005	28
4: Diferentes fases de ovo a L ₃ sob ação da temperatura de $\pm 10^{\circ}\text{C}$ e -4°C na estação Verão/2006	29
Experimento III	
1: Diferentes fases de ovo a L ₃ sob ação da temperatura de $\pm 10^{\circ}\text{C}$ e -4°C na estação Primavera/2006	34
2: Diferentes fases de ovo a L ₃ sob ação da temperatura de $\pm 10^{\circ}\text{C}$ e -4°C na estação Verão/2007	34
3: Diferentes fases de ovo a L ₃ sob ação da temperatura de $\pm 10^{\circ}\text{C}$ e -4°C na estação Outono/2007	35
4: Diferentes fases de ovo a L ₃ sob ação da temperatura de $\pm 10^{\circ}\text{C}$ e -4°C na estação Inverno/2007	35
Experimento IV	
1: Diferentes fases de ovo a L ₃ sob ação da temperatura de $\pm 10^{\circ}\text{C}$ e -4°C na estação Primavera/2007	40
2: Diferentes fases de ovo a L ₃ sob ação da temperatura de $\pm 10^{\circ}\text{C}$ e -4°C na estação Verão/2008	40

3: Diferentes fases de ovo a L ₃ sob ação da temperatura de ±10°C e -4°C na estação Outono/2008.....	41
4: Diferentes fases de ovo a L ₃ sob ação da temperatura de ±10°C e -4°C na estação Inverno/2008.....	41

Capítulo II

Ensaio realizado com a utilização do extrato aquoso da espécie *Solanum lycocarpum* (Lobeira – Três Marias/MG)

1. Efeito do extrato aquoso de <i>Solanum lycocarpum</i> na inibição do desenvolvimento dos ovos de ciatostomíneos	56
2. Efeito do extrato aquoso de <i>Solanum lycocarpum</i> na mortalidade das larvas de primeiro estágio (L ₁) de ciatostomíneos.....	56
3. Efeito do extrato aquoso de <i>Solanum lycocarpum</i> na mortalidade das larvas de terceiro estágio (L ₃) de ciatostomíneos	57

Ensaio realizado com a utilização do extrato aquoso da espécie *Curatella americana* (Lixeira – Três Marias/MG)

1. Efeito do extrato aquoso da <i>Curatella americana</i> na inibição do desenvolvimento dos ovos de ciatostomíneos	58
2. Efeito do extrato aquoso da <i>Curatella americana</i> na mortalidade das larvas de primeiro estágio (L ₁) de ciatostomíneos.....	58
3. Efeito do extrato aquoso da <i>Curatella americana</i> na mortalidade das larvas de terceiro estágio (L ₃) de ciatostomíneos	59

LISTA DE FIGURAS

FIGURAS	Pág.
REVISÃO DE LITERATURA	
1. Ciclo de vida dos ciatostomíneos	2
2. Frutos, folhas e flores da <i>Solanum lycocarpum</i>	8
3. Árvore da <i>Curatella americana</i>	9
4. Estrutura química do Albendazol	10
 CAPÍTULO I	
MATERIAL E MÉTODOS	
1. Recipientes para recuperação de ovos (RODRIGUES; HONER, 1985)	19
Experimento I	
2: Influência do tempo de armazenamento e da temperatura de $\pm 10^{\circ}\text{C}$ (refrigeração) sobre as fases de desenvolvimento dos ovos em mórula e gástrula, no período de 18 meses (Setembro/04 a Março/06)	24
3: Influência do tempo de armazenamento e da temperatura de -4°C (congelamento) sobre as fases de desenvolvimento dos ovos em mórula e gástrula, no período de 18 meses (Setembro/04 a Março/06)	24
4: Variação do OPG mensal, em virtude do tempo de armazenamento e ação das temperaturas de $\pm 10^{\circ}\text{C}$ (refrigeração) e -4°C (congelamento), no período de 18 meses (Setembro/04 a Março/06).....	25
Experimento II	
1. Comparação entre as médias estacionais (Abril/05 a Março/06) para o percentual de ovos em mórula e o tempo de armazenamento das fezes, em amostras processadas semanalmente, mantidas em baixas temperaturas: refrigeração ($\pm 10^{\circ}\text{C}$) e congelamento (-4°C). O= outono; I= inverno; P= primavera; V= verão.....	30
2. Comparação entre as médias estacionais (Abril/05 a Março/06) para o percentual de ovos em gástrula e o tempo de armazenamento das fezes, em amostras processadas semanalmente, mantidas em baixas temperaturas: refrigeração ($\pm 10^{\circ}\text{C}$) e congelamento (-4°C). O= outono; I= inverno; P= primavera; V= verão.....	30

3. Comparação entre as médias estacionais (Abril/05 a Março/06) para o percentual de ovos larvados e o tempo de armazenamento das fezes, em amostras processadas semanalmente, mantidas em baixas temperaturas: refrigeração ($\pm 10^{\circ}\text{C}$) e congelamento (-4°C). O= outono; I= inverno; P= primavera; V= verão.....31
4. Comparação entre as médias estacionais (Abril/05 a Março/06) para o percentual de larvas de primeiro estágio (L_1) e o tempo de armazenamento das fezes, em amostras processadas semanalmente, mantidas em baixas temperaturas: refrigeração ($\pm 10^{\circ}\text{C}$) e congelamento (-4°C). O= outono; I= inverno; P= primavera; V= verão31
5. Comparação entre as médias estacionais (Abril/05 a Março/06) para o número de larvas de terceiro estágio (L_3) e o tempo de armazenamento das fezes, em amostras processadas semanalmente, mantidas em baixas temperaturas: refrigeração ($\pm 10^{\circ}\text{C}$) e congelamento (-4°C). O= outono; I= inverno; P= primavera; V= verão.....32
6. Comparação entre as médias estacionais (Abril/05 a Março/06) para o número de ovos por grama de fezes (OPG) e o tempo de armazenamento das fezes, em amostras processadas semanalmente, mantidas em baixas temperaturas: refrigeração ($\pm 10^{\circ}\text{C}$) e congelamento (-4°C). O= outono; I= inverno; P= primavera; V= verão.....32

Experimento III

1. Comparação entre as médias estacionais (Outubro/06 a Setembro/07) para o percentual de ovos em mórula e o tempo de armazenamento das fezes, em amostras processadas quinzenalmente, mantidas em baixas temperaturas: refrigeração ($\pm 10^{\circ}\text{C}$) e congelamento (-4°C). P= primavera; V= verão; O= outono; I= inverno36
2. Comparação entre as médias estacionais (Outubro/06 a Setembro/07) para o percentual de ovos em gástrula e o tempo de armazenamento das fezes, em amostras processadas quinzenalmente, mantidas em baixas temperaturas: refrigeração ($\pm 10^{\circ}\text{C}$) e congelamento (-4°C). P= primavera; V= verão; O= outono; I= inverno36
3. Comparação entre as médias estacionais (Outubro/06 a Setembro/07) para o percentual de ovos larvados e o tempo de armazenamento das fezes, em amostras processadas quinzenalmente, mantidas em baixas temperaturas: refrigeração ($\pm 10^{\circ}\text{C}$) e congelamento (-4°C). P= primavera; V= verão; O= outono; I= inverno37
4. Comparação entre as médias estacionais (Outubro/06 a Setembro/07) para o percentual de larvas de primeiro estágio (L_1) e o tempo de armazenamento das fezes, em amostras processadas quinzenalmente, mantidas em baixas temperaturas: refrigeração ($\pm 10^{\circ}\text{C}$) e congelamento (-4°C). P= primavera; V= verão; O= outono; I= inverno37
5. Comparação entre as médias estacionais (Outubro/06 a Setembro/07) para o número de larvas de terceiro estágio (L_3) e o tempo de armazenamento das fezes, em amostras processadas quinzenalmente, mantidas em baixas temperaturas: refrigeração ($\pm 10^{\circ}\text{C}$) e congelamento (-4°C). P= primavera; V= verão; O= outono; I= inverno38

6. Comparação entre as médias estacionais (Outubro/06 a Setembro/07) para o número de ovos por grama de fezes (OPG) e o tempo de armazenamento das fezes, em amostras processadas quinzenalmente, mantidas em baixas temperaturas: refrigeração ($\pm 10^{\circ}\text{C}$) e congelamento (-4°C). P= primavera; V= verão; O= outono; I= inverno.....	38
--	----

Experimento IV

1. Comparação entre as médias estacionais (Outubro/07 a Novembro/08) para o percentual de ovos em mórula e o tempo de armazenamento das fezes, em amostras processadas semanalmente, mantidas em baixas temperaturas: refrigeração ($\pm 10^{\circ}\text{C}$) e congelamento (-4°C). P= primavera; V= verão; O= outono; I= inverno.....	42
2. Comparação entre as médias estacionais (Outubro/07 a Novembro/08) para o percentual de ovos em gástrula e o tempo de armazenamento das fezes, em amostras processadas semanalmente, mantidas em baixas temperaturas: refrigeração ($\pm 10^{\circ}\text{C}$) e congelamento (-4°C). P= primavera; V= verão; O= outono; I= inverno.....	42
3. Comparação entre as médias estacionais (Outubro/07 a Novembro/08) para o percentual de ovos larvados e o tempo de armazenamento das fezes, em amostras processadas semanalmente, mantidas em baixas temperaturas: refrigeração ($\pm 10^{\circ}\text{C}$) e congelamento (-4°C). P= primavera; V= verão; O= outono; I= inverno.....	43
4. Comparação entre as médias estacionais (Outubro/07 a Novembro/08) para o percentual de larvas de primeiro estágio (L_1) e o tempo de armazenamento das fezes, em amostras processadas semanalmente, mantidas em baixas temperaturas: refrigeração ($\pm 10^{\circ}\text{C}$) e congelamento (-4°C). P= primavera; V= verão; O= outono; I= inverno.....	43
5. Comparação entre as médias estacionais (Outubro/07 a Novembro/08) para número de larvas de terceiro estágio (L_3) e o tempo de armazenamento das fezes, em amostras processadas semanalmente, mantidas em baixas temperaturas: refrigeração ($\pm 10^{\circ}\text{C}$) e congelamento (-4°C). P= primavera; V= verão; O= outono; I= inverno.....	44
6. Comparação entre as médias estacionais (Outubro/07 a Novembro/08) para o número de ovos por grama de fezes (OPG) e o tempo de armazenamento das fezes, em amostras processadas semanalmente, mantidas em baixas temperaturas: refrigeração ($\pm 10^{\circ}\text{C}$) e congelamento (-4°C). P= primavera; V= verão; O= outono; I= inverno.....	44

CAPÍTULO II

MATERIAL E MÉTODOS

1. (A) Folhas ressecadas de <i>C. americana</i> ; (B) Material armazenado em recipiente identificado e com tampa.....	54
2. Ensaios com extrato aquoso: (A) Observação e quantificação com o auxílio do microscópio óptico; (B) Bateria de tubos identificados por ensaio: controle negativo, controles positivo, diferentes concentrações do extrato aquoso.....	55

LISTA DE ABREVIACOES E SÍMBOLOS

Dpt°	Departamento
E.P. P.	Estacao pra Pesquisas Parasitológicas
g	gramas
I	inverno
IV	Instituto de Veterinária
L ₁	larva de primeiro estágio
L ₂	larva de segundo estágio
L ₃	larva infectante ou de terceiro estágio
mg	miligrama
ml	mililitro
N°	número
OPG	ovos por grama de fezes;
O	outono
P	primavera
V	verão
-	
\bar{X}	média
-4°C	temperatura de congelamento
± 10°C	temperatura de refrigerao
% IDO	percentual de inibio do desenvolvimento dos ovos
%LM	percentual de larvas mortas
TEL	teste de eclosão larval
UFRRJ	Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

SUMÁRIO

1 – INTRODUÇÃO	1
2 – REVISÃO DE LITERATURA	2
2.1- Nematóides ciatostomíneos.	2
2.2-Ação da temperatura sobre os ciatostomíneos e influência do armazenamento sob diferentes temperaturas.	3
2.3- Métodos de controle alternativo	5
2.3.1- Controle biológico	5
2.3.2- Utilização de extrato de plantas.	5
a) <i>Solanum lycocarpum</i>	6
b) <i>Curatella americana</i>.	8
2.4- Estudos com avaliação de drogas sintéticas e do efeito do extrato aquoso de plantas sobre ciatostomíneos	9
2.5- O Albendazol como controle negativo	10
3 – JUSTIFICATIVA	12
4 – OBJETIVO GERAL	13
5 – CAPÍTULO I: “AVALIAÇÃO DO DESENVOLVIMENTO DE OVOS EM DIFERENTES TEMPERATURAS NAS ESTAÇÕES DO ANO”	14
RESUMO	15
ABSTRACT	16
5.1 - INTRODUÇÃO	17
5.2 - MATERIAL E MÉTODOS	18
5.2.1- Local	18
5.2.2- Animais doadores	18
5.2.3- Delineamento experimental.	18
5.2.4- Recuperação de ovos e L₃ de nematóides ciatostomíneos.	18
*Técnica de Rodrigues e Honer (1985)	18
*Técnica de Coprocultura (ROBERTS; O`SULLIVAN, 1950)	19
5.2.5- Análise estatística.	19

5.2.6- Metodologia específica apresentada para cada experimento realizado.	20
a) Experimento I: Avaliação do desenvolvimento dos ovos de nematóides ciatostomíneos em duas diferentes temperaturas	20
b) Experimento II: Sobrevivência e desenvolvimento de ovos e larvas de ciatostomíneos em baixas temperaturas, sob condições experimentais.	21
c) Experimento III: Nematóides ciatostomíneos: avaliação quinzenal do efeito da temperatura sobre o desenvolvimento de ovos, L ₁ e L ₃ .	21
d) Experimento IV: Influência de duas diferentes temperaturas no desenvolvimento ovos em diferentes estágios, L ₁ e L ₃ de nematóides ciatostomíneos (Nematoda-Cyathostominae).	21
5.3 - RESULTADOS E DISCUSSÃO	23
5.3.1- Experimento I: Avaliação do desenvolvimento dos ovos de nematóides ciatostomíneos em duas diferentes temperaturas.	23
5.3.2- Experimento II: Análise quinzenal do desenvolvimento de ovos de ciatostomíneos (Nematoda-Cyathostominae) <i>in vitro</i> até os estágios de L₁ e L₃, armazenados em diferentes temperaturas durante as estações do ano.	27
5.3.3- Experimento III: Nematóides ciatostomíneos: avaliação quinzenal do efeito da temperatura sobre o desenvolvimento de ovos, L₁ e L₃.	34
5.3.4- Experimento IV: Influência de duas diferentes temperaturas no desenvolvimento ovos em diferentes estágios, L₁ e L₃ de nematóides ciatostomíneos (Nematoda-Cyathostominae).	40
5.4 - CONCLUSÕES	46
5.5 - ANEXOS.	47
*Representação da Metodologia.	47
6 – CAPÍTULO II: EFEITO DE EXTRATOS DE PLANTAS SOBRE OVOS, L₁ E L₃ DE NEMATÓIDES CIATOSTOSTOMÍNEOS (NEMATODA-CYATHOSTOMINAE)	49
RESUMO.	50
ABSTRACT.	51
6.1 – INTRODUÇÃO.	52
6.2 – MATERIAL E MÉTODOS.	53

6.2.1- Local do experimento.	53
6.2.2- Delineamento experimental.	53
6.2.3- Recuperação de ovos, L ₁ e L ₃ de nematóides ciatostomíneos.	53
6.2.4- Obtenção do material vegetal e identificação taxonômica.	53
6.2.5- Procedimentos para preparo do extrato aquoso das plantas.	54
6.2.6 -Atividade dos diferentes extratos de plantas sobre ovos e larvas (L ₁ e L ₃) de ciatostomíneos.	54
6.3 – RESULTADOS E DISCUSSÃO.	56
6.3.1- Ensaios realizados com a utilização do extrato aquoso da espécie <i>Solanum lycocarpum</i> (Lobeira – Três Marias/MG)	56
6.3.2 - Ensaios realizados com a utilização do extrato aquoso da espécie <i>Curatella americana</i>. (Lixeira – Três Marias/MG)	58
6.4– CONCLUSÕES.	60
6.5- ANEXOS.	61
7 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.	64
8 - PRODUÇÃO CIENTÍFICA NO PERÍODO.	74

1- INTRODUÇÃO

O rebanho equino brasileiro é apontado pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) como sendo o terceiro maior do mundo, formado por mais de 35 milhões de animais. Os ciatostomíneos podem ser encontrados parasitando quase 100% dos equinos com um grande número de parasitas por hospedeiro (CHAPMAN et al., 1999; LYONS et al., 1999; ANJOS; RODRIGUES, 2003; 2006). O ciclo biológico é dividido em duas fases: uma no ambiente, com o desenvolvimento de ovo à larva infectante (L₃), sofrendo influência de temperatura, umidade e tipo de pastagem (DUNCAN, 1974) e outra no hospedeiro, após a ingestão da pastagem contaminada.

É conhecido o problema do aumento da resistência parasitária aos anti-helmínticos, decorrente da sua utilização indiscriminada e/ou decorrente do *refúgium* parasitário, onde os nematóides não entram em contato com a droga. Ensaios de desenvolvimento larval e de motilidade têm sido utilizados para fins de avaliação da resistência anti-helmíntica (JOHANSEN; WALLER, 1989; LACEY et al., 1990; GILL et al., 1995). Neste contexto, ampliou-se o número de pesquisas científicas *in vitro* e *in vivo* avaliando o efeito ovicida e/ou larvicida de extratos de plantas sobre parasitos gastrintestinais.

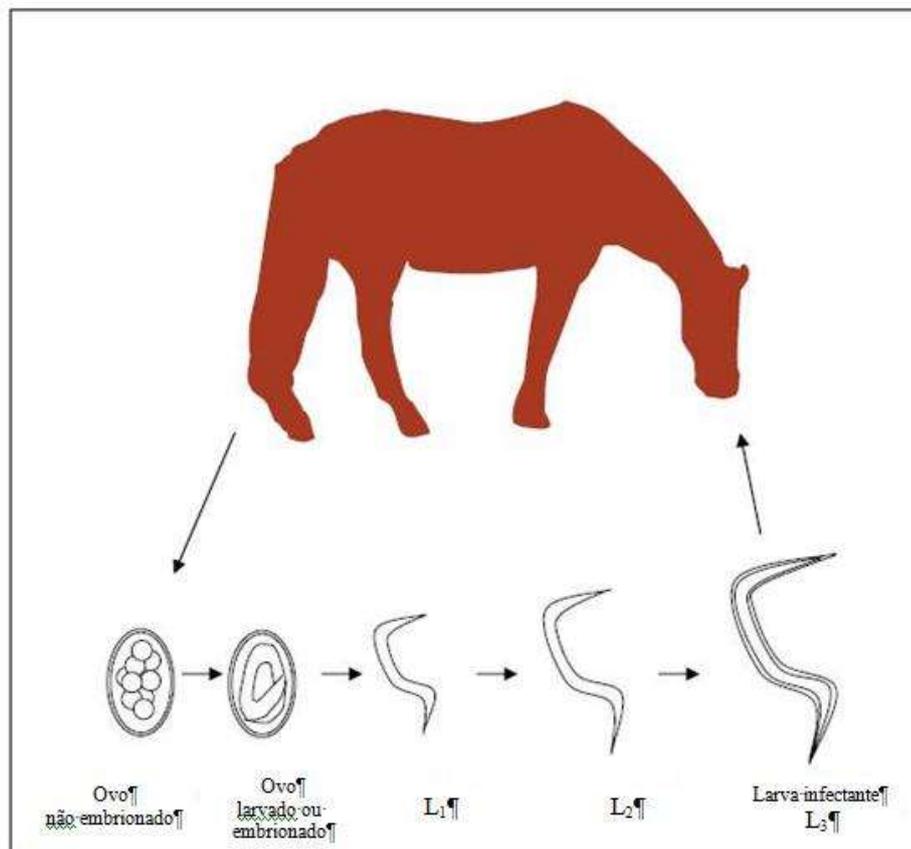
Dentre os métodos de controle, tem-se a coleta manual de fezes presentes na pastagem e a utilização de fungos nematófagos. O controle biológico deve ser utilizado como uma medida profilática, não devendo ser visto como substituto ao tratamento químico tradicional. Ele é uma ferramenta que pode trazer uma alternativa segura e sustentável ao manejo integrado contra o parasitismo (LARSEN, 1999).

Para o diagnóstico das helmintoses gastrintestinais de equinos, fezes são mantidas em geladeira com a finalidade de avaliar o número de ovos por grama de fezes (OPG) e das L₃ para um diagnóstico preciso da espécie. Com este estudo pretendeu-se avaliar por quanto tempo as fezes poderiam ser armazenadas em baixas temperaturas. Portanto, os seguintes experimentos foram avaliados: 1 – observação do desenvolvimento de ovos mantidos sob diferentes temperaturas e 2- análise do efeito de extratos de plantas sobre os ovos, larvas de primeiro estágio (L₁) e L₃ de ciatostomíneos. Este trabalho compreende dois capítulos, sendo o primeiro com quatro fases, comparando diferentes metodologias sobre o desenvolvimento dos ovos, e o segundo capítulo trata da avaliação de dois extratos aquosos de plantas sobre ovos, L₁ e L₃ dos ciatostomíneos.

2 - REVISÃO DE LITERATURA

2.1 - Nematóides ciatostomíneos

Os ciatostomíneos (Nematoda-Cyathostominae) são parasitas gastrintestinais mais abundantes no intestino grosso dos equinos (CHAPMAN et al., 1999; LYONS et al., 1999; ANJOS; RODRIGUES, 2003; 2006). Com cerca de 1,5 cm de comprimento, são parasitos filiformes, brancos ou vermelho-escuros, visíveis no exame minucioso da mucosa ou no conteúdo do intestino grosso desses hospedeiros (URQUHART et al. 1996). No ciclo biológico, o desenvolvimento de ovo até L₃ ocorre no ambiente e devido a uma bainha de proteção a L₃ tem aumentada a sua sobrevivência até o encontro com o hospedeiro através da ingestão da pastagem (OGBOURNE, 1978). No hospedeiro, dar-se-á início à fase histotrófica do parasitismo onde a larva continuará o seu desenvolvimento até a fase adulta (LYONS et al., 1999).



Fonte: Nielsen, et al. (2007).

Figura 1. Ciclo de vida dos ciatostomíneos.

A partir desse momento, os animais poderão apresentar perda de peso, diarreia, cólica, anorexia e retardamento no desenvolvimento, principalmente dos mais jovens (REINEMEYER, 1986; CHURCH et al., 1986; HERD, 1990; OGBOURNE; DUNCAN, 1985), além do aumento nas concentrações de betaglobulina, hipoalbuminemia, anemia e

leucocitose (REINEMEYER, 1986; CHURCH et al., 1986). O ciclo evolutivo é completado no período de dois a cinco meses, dependendo da espécie, e não realizam migrações. A coexistência de numerosas espécies e a preferência destas por determinado compartimento do intestino grosso, tornam estes nematóides alvo de estudos. Em estudos a campo observou-se que os eqüinos adquirem resistência aos ciatostomíneos conforme a idade, porém, esta é uma resposta lenta e não generalizada na maioria nos animais, não tendo relação com a intensidade da carga parasitária apresentada anteriormente (ANJOS; RODRIGUES, 2006).

Anjos e Rodrigues (2003) analisaram 33 amostras do cólon dorsal de eqüinos, no estado do Rio de Janeiro, sendo listadas 23 espécies em 11 gêneros da família Strongylidae, e de 33 amostras examinadas do cólon ventral foram observadas 21 espécies de Cyathostominae e sete de Strongylinae (ANJOS; RODRIGUES, 2006).

As condições climáticas de cada área influenciam no desenvolvimento e na sobrevivência de estágios de vida dos ciatostomíneos, atuando diretamente na carga parasitária dos animais (SALIH, 1981; BEZERRA et al., 2007; COUTO et al., 2008; QUINELATO et al., 2008; RODRIGUES et al., 2008; CORNING, 2009; COUTO et al., 2009; SANTOS, et al., 2011). Essas condições apresentam elevadas variações, podendo ocorrer sazonalmente ou anualmente (STROMBERG, 1997). Há evidência cada vez maior de que muitas L₃ de ciatostomíneos ingeridas durante o outono apresentam um grau de hipobiose e permanecem na mucosa do intestino grosso até a primavera seguinte. “Em algumas ocasiões, maciças infecções por ciatostomíneos ocorrem na primavera causando diarreia grave, e milhares de L₄ de ciatostomíneos podem ser encontradas nas fezes, aparentemente capazes de se instalar.” (URQUHART et al, 1996) e segundo o mesmo grupo de autores, a emergência maciça das larvas resulta em sintomatologia clínica de perda de condições físicas e anemia.

A ovipostura sofre variação de acordo com os períodos estacionais chuvosos e secos nas regiões de clima subtropical e tropical, e ovos inférteis são eliminados, sendo a temperatura do ambiente causa um importante efeito sobre o desenvolvimento de vários estádios de vida livre (CIORDIA; BIZZELL, 1963; CHHABRA; SINGH, 1965). A técnica do OPG (ovos por grama de fezes) possibilita estimar a carga parasitária do animal, sendo utilizada como padrão para observação em diferentes momentos de vida do animal e tratamento, juntamente com o percentual de eclosão das larvas.

Segundo Nielsen et al. (2007), os ovos embrionados são definidos como ovos contendo larvas viáveis; o primeiro estágio larval (L₁) e o segundo (L₂) são designados como larvas pré infectantes e são capazes de se alimentar. Já as larvas de terceiro estágio ou infectantes (L₃) são envoltas por uma dupla camada de cutícula que as protege de condições ambientais desfavoráveis, porém impedindo a alimentação.

2.2 - Ação da temperatura sobre os ciatostomíneos e influência do armazenamento sob diferentes temperaturas.

Dos fatores abióticos, a temperatura do meio é a mais importante, influenciando diretamente o desenvolvimento de vários estádios de vida livre (CIORDIA; BIZZELL, 1963; CHHABRA; SINGH, 1965), atuando na redução do metabolismo larval quando as condições não são favoráveis (SALIH, 1981).

A temperatura ótima para o desenvolvimento de ovos e larvas de nematóides strongilídeos está na faixa de 25-33°C (OGBOURNE, 1972; MFITILODZE; HUTCHINSON, 1987), com o maior estágio larval admitindo até 28°C. O limite máximo para desenvolvimento vai até os 38°C. A L₃ é a mais resistente às variações climáticas e de temperatura, em seguida as fases embrionárias (PARNELL, 1936; LUCKER, 1941;

CROFTON, 1948a; SILVERMAN; CAMPBELL, 1959). Segundo estudos realizados por Couto et al. (2008), os níveis larvais do pasto aumentam de modo marcante durante os meses de verão, quando as condições são ótimas para o rápido desenvolvimento de ovos até L₃. Temperatura e umidade são fatores importantes no desenvolvimento de ovos e larvas em fezes (MFILODZE; HUTCHINSON, 1987; STROMBERG, 1997; BAUDENA et al., 2000b; LANGROVA et al., 2003; RAMSEY et al., 2004, BEZERRA et al., 2007; COUTO et al., 2008; QUINELATO et al., 2008; RODRIGUES et al., 2008; COUTO et al., 2009; SANTOS, et al. 2011). Segundo Mfilitodze; Hutchinson (1987), em estudos laboratoriais foi observado que ovos de strongilídeos mantidos a temperaturas entre 25-33°C desenvolveram até a eclosão da larva em 24 horas, e que abaixo de 5°C os ovos permaneceram viáveis, porém não houve a eclodibilidade larval. A sobrevivência e o desenvolvimento das larvas de ciatostomíneos foram estudados no estado de Louisiana, EUA, por Baudena et al. (2000a) com observação do aumento no número de ovos por grama de fezes (OPG) durante o final do verão e início do outono.

O efeito da variação da temperatura sobre o desenvolvimento do nematóide é um dado importante para o melhor conhecimento do seu ciclo (DOBSON; CARPER, 1992), sendo a temperatura de 28°C a mais próxima do ideal, ocorrendo morte rápida dos ovos quando esta atinge 40°C. O conhecimento das influências climáticas no desenvolvimento e sobrevivência dos estágios pré-parasíticos é de fundamental importância para a adoção de programas adequados de controle parasitário, reduzindo o desenvolvimento da resistência anti-helmíntica (NIELSEN et al., 2007), e os procedimentos de coleta e estoque de amostras fecais é muito importante para o veterinário a campo e pesquisadores que investigam sobre a resistência anti-helmíntica.

Considerando que há influência dos fatores abióticos sobre o desenvolvimento dos estágios de vida livre dos strongilídeos, em especial a temperatura e umidade, estudos com armazenamento de ovos são importantes para avaliar o seu efeito sobre o desenvolvimento dos diversos estágios (SAUNDERS, 2002) e sobre a eclodibilidade das larvas, para a obtenção de maiores dados sobre a biologia do parasito. Neste contexto, diversos trabalhos têm sido conduzidos para avaliar o efeito de diferentes temperaturas sobre o desenvolvimento de ovos e de larvas de parasitos gastrintestinais.

Fezes estocadas sob várias condições e de diferentes regiões foram avaliadas por Nielsen et al. (2010), levando a conclusão que as fezes podem ser estocadas por até 120h e que a refrigeração é o melhor método para armazenamento.

. Segundo Salih (1981), os ovos mantidos por longos períodos sob congelamento têm o desenvolvimento até o estágio larval significativamente prejudicado. Ovos de *Ostertagia circumcincta* foram avaliados em água destilada a 4, 16, 25 e 35°C e a taxa de eclodibilidade das L₁ aumentou com a elevação da temperatura, e os ovos mantidos a 4°C apresentaram alta sobrevivência durante a primeira semana, diminuindo para 10% após 22 dias de estoque. (PANDEY et al., 1989; 1993). No entanto, ovos de *Trichostrongylus retortaeformis* permaneceram viáveis por até oito meses quando estocados de 10 a 28°C e por quatro meses à temperatura de 8°C (NNOCHIRI, 1950).

Ovos de ciatostomíneos são muito resistentes aos extremos de temperatura antes de estarem embrionados, e quando embrionados tem a sua resistência reduzida e podem morrer rapidamente (PARNELL, 1936; LUCKER, 1941). Este trabalho foi o primeiro realizado avaliando a influência do tempo de armazenamento das fezes de equinos sob condições de baixas temperaturas, para fins de futuros diagnósticos.

2.3 - Métodos de controle alternativo

2.3.1 - Controle biológico

Em estudos com controle biológico, Rodrigues et al. (1996) avaliou *in vitro* a atividade predatória do fungo *Metarhizium anisopliae* sobre L₃ de ciatostomíneos, sendo observado uma redução de 55% a 85% do número de larvas a uma temperatura de $\pm 30^{\circ}\text{C}$. Segundo Santos, et al. (2001) a ação *in vitro* dos fungos *Arthrobotrys oligospora* e *Duddingtoria flagians* foi eficaz na redução do número de L₃ de ciatostomíneos em fezes mantidas sob temperaturas ideais ao seu desenvolvimento (25°C), o mesmo não sendo observado a temperatura de 10°C (zero), $15-20^{\circ}\text{C}$ (3% de redução). Já Braga et. al. (2009), em um estudo *in vivo*, avaliaram a carga parasitária de eqüinos que receberam o fungo *D. flagrans* juntamente com a ração, notando a redução nos valores de OPG e das larvas infectantes por meio de coprocultura após quatro, dos seis meses de tratamento. Em outro estudo, os mesmos autores também notaram uma redução significativa do número de L₃ de ciatostomíneos pela ação dos fungos *D. flagrans* (97,5%), *Monacrosporium thaumasium* (72,5%) e *Arthrobotrys robusta* (85%) sob ação da temperatura de 28°C . Através da exposição destes trabalhos com a ação de fungos como controle biológico de nematóides ciatostomíneos pode ser observado a influência que a temperatura também exerce sobre a atividade predatória dos fungos sob condições térmicas favoráveis ao desenvolvimento do parasito.

2.3.2 - Utilização de extrato de plantas

O controle das helmintoses em animais domésticos é comumente baseado no uso de anti-helmínticos sintéticos (CHARLES et al., 1989), entretanto a eficácia atual dessas drogas tem sido reduzida, decorrente do aumento da população de nematóides resistentes a todas as classes de anti-helmínticos (ECHEVARRIA, 1996; MELO et al., 2003), principalmente pelo uso indiscriminado da droga e/ou decorrente do *refúgium* parasitário, onde os nematóides não entram em contato com a droga. Desde a década de 60, através de vários estudos foi concluído que a resistência dos ciatostomíneos a uma grande variedade de drogas anti-helmínticas aumentou, sendo a resistência aos compostos benzimidazóis muito prevalente no mundo, além da resistência ao pirantel ser cada vez mais comum (KAPLAN, 2002; 2004).

A cada dia cresce mais o interesse sobre o efeito medicinal das plantas como uma fonte alternativa de drogas anti-helmínticas (VIEIRA et al., 1999), visto que possuem mecanismos de defesa contra a ação de patógenos, que se baseiam na produção de compostos específicos, conferindo resistência. (BAR-NUN; MAYER, 1990). A ampliação do conhecimento sobre a epidemiologia dos parasitos e suas interações com os hospedeiros em um determinado ambiente e sistema produtivo são necessárias a fim de se estabelecer um sistema de controle efetivo (CORDEIRO, 2008), incluindo o conhecimento sobre as exigências climáticas para o desenvolvimento dos ovos até a eclosão das larvas e a sua viabilidade (MOTA et al., 2003).

A fitoterapia tem se mostrado eficaz no tratamento das várias enfermidades veterinárias, como por exemplo, as causadas por nematóides gastrintestinais (FOX, 1997; GITHIA et al., 2001), sendo de fundamental importância a experimentação científica na comprovação dos efeitos que os extratos vegetais, usados popularmente, exercem como vermífugos (KRYCHAK-FURTADO, 2006).

Problemas como elevados custos, preocupação com a questão de resíduos nos alimentos e o risco de contaminação ao ambiente têm despertado interesse na utilização das

plantas medicinais. Nesse contexto, ensaios de desenvolvimento larval e de motilidade tem sido realizados (JOHANSEN; WALLER, 1989; LACEY et al., 1990; GILL et al., 1995) *in vitro* e *in vivo*, conduzidos com a utilização de extratos aquosos e/ou alcoólicos obtidos a partir das partes de plantas como folhas, frutos, raízes, a fim de avaliar o potencial anti-helmíntico sobre ovos e larvas de parasitos gastrintestinais.

É de fundamental importância o encontro de alternativas e métodos de controle da prevalência e severidade das infecções por ciatostomíneos, e as pesquisas científicas têm buscado desenvolver produtos baseados em substâncias naturais, que tenham a capacidade de interferir nos processos biológicos dos parasitas, como reguladores de crescimento, no comportamento alimentar e na redução da pressão de resistência parasitária. Acredita-se que o tratamento feito com extrato de plantas possa causar um desenvolvimento mais lento da resistência, além de normalmente atingir somente espécies alvo, serem biodegradáveis, não poluírem o meio ambiente e diminuam o problema de resíduos ambientais (CHAGAS, 2004).

A utilização correta de plantas medicinais ou de seus compostos ativos requer a validação científica dos fitoterápicos, sendo esta, inicialmente, caracterizada pela realização de testes *in vitro*, permitindo reconhecer a existência de propriedades anti-helmínticas nos extratos vegetais e a caracterização dos compostos ativos presentes nos mesmos. Entretanto, faz-se necessário a adequação da dosagem e forma de administração do composto, o que possibilita o seu uso no controle das parasitoses como um medicamento fitoterápico. (KRYCHAK-FURTADO, 2006). Na literatura existem relatos sobre muitas plantas possuidoras de princípios que atuam como anti-helmínticos, por isso seus extratos vêm sendo testados *in vitro* e *in vivo*, com o objetivo de avaliar a eficácia sobre as larvas e adultos (AMORIM et al., 1987; 1999; CUNHA et al., 2003; BORBA et al., 2004; CUNHA et al., 2005, CRUZ et al., 2008) e desta forma controlar as diferentes fases dos helmintos, diminuindo o impacto de produtos químicos no ambiente (PACIORNIK, 1990). Os testes *in vitro* por sua vez apresentam vantagens de serem simples, rápidos, pouco onerosos, utilizados para testar um grande número de plantas sem a utilização de animais nos experimentos (CAMURÇA-VASCONCELOS et al., 2005), além de determinar a ação ovicida e larvicida de extratos vegetais ou óleos essenciais, sendo inicialmente desenvolvidos para identificação da resistência aos compostos anti-helmínticos sintéticos (MONTEIRO, 2010). Esse método foi escolhido por se tratar de uma preparação laboratorial mais simples, a fim de testar o efeito dos extratos vegetais avaliados. Segundo Coles et al. (1992), o teste de eclosão larval (TEL) que foi criado com o objetivo de identificar a resistência aos benzimidazóis, determina a capacidade de substâncias de impedirem as reações mitóticas que ocorrem nos ovos até o estágio larval, por atuarem diretamente na dinâmica microtubular desses ovos.

Diversos estudos têm sido realizados com extratos de plantas, principalmente aqueles mencionados pela população e oriundas da vegetação do cerrado. Dentre as vegetações estudadas da região de cerrado, destacam-se duas espécies de plantas, a *S. lycocarpum* e a *C. americana*. As plantas foram selecionadas em virtude de vários parâmetros, incluindo a fácil obtenção de suas folhas e a quantidade disponível, além do pioneirismo da descoberta de plantas que poderiam apresentar ação anti-helmíntica, apesar de não estarem incluídas em muitas pesquisas científicas. Estudos *in vitro* foram conduzidos utilizando-se o extrato aquoso, obtido a partir de suas folhas, sobre ovos e larvas de ciatostomíneos.

a) *Solanum lycocarpum*

Solanum lycocarpum St. Hil é uma planta que pertence à família Solanaceae), típica do cerrado brasileiro (RIZZINI, 1971), sendo também encontrada em estados de outras regiões, como Minas Gerais, Rio de Janeiro, Pará, Amazonas e Paraná, e pertencente ao maior

e mais complexo gênero das Solanaceas (SILVA et al., 2003). De porte arbustivo, alcança até 5m de altura, com presença de uma copa arredondada e aberta, sendo é um arbusto constituído por folhas simples, alternas, de consistência firme, recobertas por espinhos, margens irregulares, variando de 16-28 cm de comprimento. Seu florescimento ocorre durante todo o ano e suas flores são hermafroditas, com 05 sépalas, sendo a porção soldada unida ao fruto; 05 pétalas de coloração lilás com a base soldada umas às outras; 05 estames com grandes e evidentes anteras amarelas; e seu ovário é súpero, dividido em dois lóculos (compartimentos), característico da família a que pertence.

A *S. lycocarpum*, popularmente conhecida como lobeira ou fruta-de-lobo (CRUZ 1979, SILVA 1996, ALMEIDA et al. 1998), além de jurubebão, beringela-do-campo ou maçã-do-cerrado, é uma espécie que multiplica-se facilmente através de sementes, sendo comum encontrar plântulas em fezes de gado e lobos-guará (*Chrysocyon brachyurus* Illiger, 1811). É encontrada, preferencialmente, em áreas cuja cobertura vegetal foi removida, tal como margens de estradas e terrenos baldios (LORENZI, 1998).

O fruto da *S. lycocarpum* é uma fonte alimentar durante todo o período anual para mamíferos deste ambiente (DIETZ, 1984; LORENZI, 1998), inclusive para o lobo-guará (*Chrysocyon brachyurus* Illiger, 1811) em especial, na estação seca devido à escassez de outros frutos (DALPONTE; LIMA, 1999) e a sua eficiência de absorção de água na fase adulta (GROTA, 1964; MATOS et al., 1968). Em plantas jovens, os mecanismos de tolerância a seca foram constatados por Vidal et al. (1999) e Chaves Filho; Stacciarini-Seraphin (2001) decorrente do aumento da densidade e profundidade do seu sistema radicular.

Existem relatos de ação terapêutica dessa espécie contra o verme-gigante-dos-rins (*Dioctophyme renale*) que são fatais para as populações de lobos-guará (*Chrysocyon brachyurus*) quando privados de consumir os seus frutos, que representam até 50% da dieta alimentar desses lobos. Além disso, é uma espécie que possui propriedades medicinais (CRUZ 1979, ALMEIDA et al.1998), conhecida por possuir uma variedade de atividades biológicas, incluindo atividade antifúngica, moluscicida, teratogênica e embriotóxica (ESTEVEZ-SOUZA et al. 2002). A partir de seus frutos produz-se um polvilho, ao qual é atribuída propriedade terapêutica como hipoglicemiante (DALL'AGNOL; VON-POSER, 2000), além de serem utilizados na alimentação de populações tradicionais para o preparo de geléias e doces (SILVA 1996, ALMEIDA et al. 1998). Medicinalmente, a planta apresenta ação emoliente, antirreumática; podendo ser utilizada no banho e compressa; além de sua ação tônica, contra asma, gripes e resfriados. Segundo Schwarz et al. (2005b), citado por Costa et al. (2008) é conhecido que a *S. lycocarpum* contém glicoalcalóides esteroidais que podem ser transformados em um intermediário para a produção de medicamentos hormonais, como anticoncepcionais orais, deste modo, é possível que a presença destes glicoalcalóides e sua aglicona no hospedeiro após a ingestão de frutos da planta, atuem rompendo com o sistema endócrino, afetando,provavelmente, o sistema reprodutivo de helmintos.

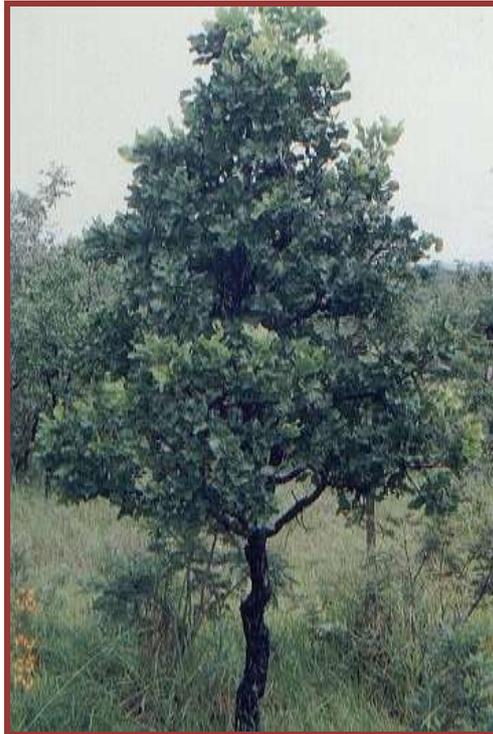


Figura 2. Frutos, folhas e flores da *Solanum lycocarpum*.

b) *Curatella americana*

Curatella americana L. é uma planta da Família Dilleniaceae, que possui cerca de dez gêneros de ampla distribuição nos trópicos e subtropicais (JOLY, 1993). Normalmente de baixo porte, mede de 1 a 12 metros de altura, sendo popularmente conhecida como lixeira, por geralmente apresentar as células epidérmicas impregnadas de sílica, o que lhe confere certa aspereza ao tato (ALMEIDA et. al., 1998; BARROSO et al., 1978) é caracterizada por folhas muito duras e ásperas, o que justifica o seu nome (RESENDE; PINHO, 2010). São encontradas freqüentemente em cerrados, cerradões e capões, sendo também conhecida como caimbé, caju-bravo, cajueiro-bravo-do-campo. De ampla ocorrência na região de cerrados localizados em menores altitudes (FELFILI et al., 1993) e no País, suas folhas podem ser usadas como lixa e apresentam propriedades medicinais contra artrite, diabetes, pressão alta; já suas flores contra tosse, bronquite e resfriado. Estudos fitoquímicos com extrato etanólico de suas folhas revelaram um flavonóide glicosídeo avicularim e ácido gálico (EL-AZIZI, 1980). Investigações fitoquímicas resultaram no isolamento de três compostos através da espectrometria de massas, caracterizadas como ácido ursólico, acetato de ácido ursólico e ácido betulínico (ALEXANDRE-MOREIRA, et al., 1999).

Segundo dados etnobotânicos, determinadas espécies da família Dilleniaceae são empregadas na medicina tradicional com diferentes indicações, sendo a espécie *C. americana* L. empregada como antiinflamatório e antiúlcera (PIO CORRÊA, 1984). Em um estudo realizado por Toletto et al. (2011), dentre as espécies vegetais estudadas, a *C. americana* mostrou-se eficaz contra microorganismos, especialmente como um antifúngico.



Fonte: <http://www.google.com/imgres?imgurl=http://www.arvores.brasil.nom.br/cerrd/lixei2.jpg>

Figura 3. Árvore da *Curatella americana*

2.4- Estudos com avaliação de drogas sintéticas e do efeito do extrato aquoso de plantas sobre ciatostomíneos.

Vários trabalhos já foram conduzidos no laboratório de helmintologia da UFRRJ no sentido de avaliar o real efeito dos extratos vegetais sobre os parasitos gastrintestinais, utilizando as plantas *Curatella americana* e *Solanum lycocarpum*. Ribeiro et al. (2006) avaliaram o extrato aquoso da planta *S. lycocarpum* (Lobeira UFRRJ) e observaram mortalidade das L₁ de nematóides ciatostomíneos de 36,5% e de 48,68% nas concentrações de 5% e de 2,5%, respectivamente.

Souza, et al. (2008) avaliaram *in vitro* o percentual de mortalidade (%LM) das L₁ e das L₃ de ciatostomíneos expostos as concentrações de 5 e 2,5% do extrato aquoso de *S. lycocarpum*, e observaram que essa redução foi de 56,18 e 83,23% nas primeiras 24h, respectivamente. Em 48h o percentual de redução foi de 100% para ambas as concentrações. Em relação as L₃, foi observado que a redução foi de 29,37 e 37,25% em 48h, nas respectivas concentrações.

Em estudos *in vitro* realizados por Ribeiro et al. (2006) com o extrato da *C. americana* (Lixeira Três Marias/MG) foi observado que nas concentrações de 5% e 2,5% houve 100% de mortalidade das L₁. Segundo Souza, et al. (2007) não foi observado inibição do desenvolvimento dos ovos recém-recuperados e ovos larvados com o uso do extrato da *C. americana* a 0,5% e 1%.

Souza, et al. (2008) avaliaram o percentual de inibição do desenvolvimento dos ovos (%IDO) e %LM após a adição do extrato aquoso da *C. americana* sobre as L₁ e L₃, sendo observado 48% de mortalidade das L₁ após o período de 24h pela ação do extrato a 5%, e de 60% decorridos 48h, na concentração de 2,5%. Quanto às L₃, observou-se 50% de mortalidade, pela ação dos concentrados a 2,5% e 5%. Não houve %IDO (SOUZA et al., 2008).

Pela primeira vez estudou-se a avaliação do efeito anti-helmíntico da *C. americana*, *in vitro* e *in vivo*, sendo este o primeiro trabalho conduzido *in vitro* com infusos obtidos a partir das folhas da planta para verificar o efeito sobre ovos, L₁ e L₃ de ciatostomíneos.

Em testes realizados *in vivo* com o extrato aquoso obtido da planta *S. lycocarpum*, obtidas no município de Três Marias/MG e na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), sobre outros tipos de parasitos gastrintestinais, Costa et al. (2008) observaram atividade anti-helmíntica na eliminação de *Vampirolepis nana* de camundongos naturalmente infectados. A diferença foi significativa no percentual de eliminação dos parasitos entre os extratos da *S. lycocarpum* de Três Marias e da coletada na UFRRJ, entretanto não foi significativo entre o extrato da *S. lycocarpum* da UFRRJ e grupo controle.

Em trabalhos realizados *in vitro* com o infuso da erva-de-santa-maria (*Chenopodium ambrosioides* L.) sobre as L₁ e L₃ de ciatostomíneos nas concentrações de 5mg/mL; 2,5mg/mL; 0,625mg/mL e 1,25mg/mL, Amorim et. al. (1998) verificaram um significativo % de mortalidade das L₁ em 24h pela ação do extrato aquoso nas concentrações de 5 e 2,5mg/ml, o mesmo ocorrendo para as L₃, no período de 24 e 48h. A partir da administração do suco da *C. ambrosioides*, nas mesmas concentrações, não foi observado um percentual de mortalidade significativo sobre as L₁ e L₃, em 24 e 48h. Em outro estudo *in vitro*, com o uso do extrato bruto da casca do caule de cipó-cravo (*Tynnanthus fasciculatus* Miers; Bignoniaceae), na forma de infusão e de suco, Amorim et al. (1991a) observaram % de mortalidade das L₁ na faixa de 61 e 100% após 24h de ação do infuso nas concentrações de 0,2 a 5mg/ml, não sendo significativos os percentuais de eliminação sob a ação do suco. Para as L₃, não foi observado percentual de mortalidade significativo após a ação tanto do infuso, quanto do suco no período de 24h.

2.5- Albendazol como controle negativo

As drogas sintéticas benzimidazólicas foram desenvolvidas originariamente de plantas fungicidas e após como anti-helmínticos veterinários, sendo lançados os seguintes princípios ativos: Tiabendazol, Mebendazol, Ubendazole, Albendazol e Triclabendazol (ARAÚJO, 2005).

O Albendazol é um benzimidazólico típico, de amplo espectro, aprovado para o uso humano em 1982, com grande importância na medicina veterinária. Esse composto é representado pelas fórmulas química 5-(5 metilpropil-2-carbamato de benzimidazol), e molecular C₁₂H₁₅N₃O₂S, sendo o peso molecular de 265.34. A estrutura química está abaixo representada.

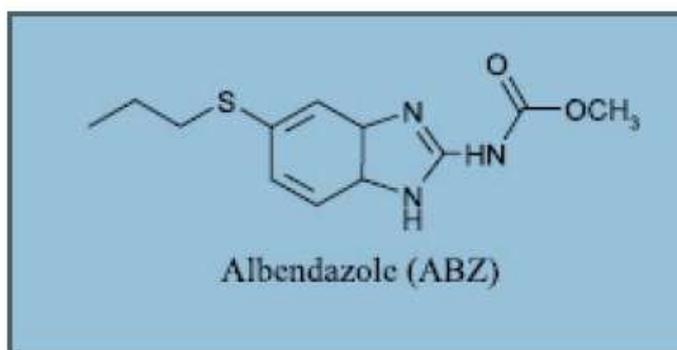


Figura 4. Estrutura química do Albendazol.

Em uma pesquisa realizada e divulgada pela Associação Brasileira de Veterinários de Equídeos (ABRAVEQ), Marconi et al. (2010) avaliaram a eficácia dos antiparasitários

Ivermectina e Pomoato de pirantel, classificando-os como grupo A, e do Albendazol e Triclorf (grupo B) a fim que identificar possível interferência destes na titulação de anticorpos de cavalos soroprodutores, concluindo que os eqüinos tratados com as drogas do grupo A apresentaram redução no número de ovos por grama de fezes (OPG), após novos exames, em relação aos tratados pelos compostos químicos do B. Estes dados demonstram que o fármaco Albendazol é um dos anti-helmínticos administrados em eqüinos, entretanto, a sua eficácia está limitada a resistência parasitária.

“Os registros de resistência ao Albendazol nos helmintos, que são geralmente sensíveis, são escassos e controversos, mas não devem ser ignorados. Em 1970 foi descrito o primeiro caso de resistência aos anti-helmínticos em animais domésticos e durante muitos anos subseqüentes o problema de resistência não recebeu a importância devida. Entretanto, houve uma propagação rápida de resistência a todas as principais classes de anti-helmínticos veterinários e em alguns países esse problema tem se tornado sério e ameaçado o futuro de algumas criações de animais. Um fator importante para o desenvolvimento de resistência nesses animais foi o uso indiscriminado de anti-helmínticos que em alguns casos eram fornecidos juntamente com as rações.” (GEERST; GRYSEELS, 2001, citado por ARAÚJO, 2005).

Há evidências experimentais concernentes ao mecanismo de ação do fármaco sobre o parasito em humanos, por exemplo, mostrando que várias espécies de helmintos intestinais sofrem desregulação metabólica, em vários sítios diferentes que envolvem a produção de energia do parasito, contrastando com os anti-helmínticos não-benzimidazólicos que agem em vias neuromusculares, paralisando o parasito. (HORTON, 2000).

3 - JUSTIFICATIVA

O controle das helmintoses em animais domésticos é comumente baseado no uso de anti-helmínticos sintéticos (CHARLES et al., 1989), entretanto a eficácia atual dessas drogas tem sido reduzida, decorrente do aumento da população de nematóides resistentes a todas as classes de anti-helmínticos (ECHEVARRIA, et al. 1996; MELO et al., 2003). Problemas como elevados custos, somados à preocupação com a questão de resíduos nos alimentos e ao risco de contaminação ao ambiente têm despertado interesse na utilização das plantas medicinais como uma fonte alternativa de drogas anti-helmínticas (VIEIRA et al., 1999). Acredita-se que o tratamento feito com extrato de plantas possa causar um desenvolvimento mais lento da resistência, além de normalmente atingir somente espécies alvo, serem biodegradáveis, não poluírem o meio ambiente e diminuírem o problema de resíduos ambientais (CHAGAS, 2004). O efeito da variação da temperatura sobre o desenvolvimento do nematóide é um dado importante para o melhor conhecimento do seu ciclo (DOBSON; CARPER, 1992), e os procedimentos de coleta e estoque de amostras fecais e a busca do mercado consumidor por fontes de tratamento alternativas, em substituição aos produtos químicos, têm justificado as diversas pesquisas, sendo dados muito importantes para o veterinário a campo e pesquisadores que investigam sobre a resistência anti-helmíntica.

4 -. OBJETIVO GERAL

Avaliar o desenvolvimento de ovos mantidos sob diferentes temperaturas e o efeito de extratos de plantas sobre os ovos, L₁ e L₃ (larva infectante) de nematóides ciatostomíneos (Cyathostominae).

5 - CAPÍTULO I

AVALIAÇÃO DO DESENVOLVIMENTO DE OVOS DE CIATOSTOMÍNEOS EM DIFERENTES TEMPERATURAS NAS ESTAÇÕES DO ANO

RESUMO

Fezes foram coletadas de eqüinos não-vermifugados e os experimentos foram realizados no Laboratório de Helminologia da E.P.P. W.O. Neitz do Deptº. de Parasitologia Animal do I.V. da UFRRJ, no período de outubro de 2004 a novembro de 2008, constando de quatro experimentos e com modificação na metodologia. O objetivo foi avaliar a influência de baixas temperaturas sobre o desenvolvimento dos ovos de nematóides ciatostomíneos até o primeiro estágio larval (L₁) e terceiro estágio larval (L₃). As fezes coletadas, divididas em amostras, foram mantidas sob refrigeração ($\pm 10^{\circ}\text{C}$) e congelamento (-4°C), durante todo o período do experimento. Semanalmente ou quinzenalmente, conforme a metodologia adotada, ovos (± 300) foram recuperados e mantidos em placas de Petri à temperatura ambiente ($\pm 25^{\circ}\text{C}$), sendo observados ao microscópio óptico (10x e 40x) após 24h para contagem das diferentes fases de ovo até L₁, e as L₃ recuperadas de coproculturas. Os resultados foram tabelados e analisados descritivamente e estatisticamente. No experimento I, sob a temperatura de $\pm 10^{\circ}\text{C}$, 75% dos ovos encontravam-se na fase de mórula e 20% em gástrula; a -4°C , 90% em mórula e 10% em gástrula. Houve diferença significativa no número de ovos em mórula, gástrula e para o OPG entre as temperaturas. Os ovos resistiram a -4°C , desenvolveram-se até a fase seguinte e o tempo até ovo larvado foi maior que 24h a $\pm 25^{\circ}\text{C}$. As diferentes fases foram observadas no experimento II, a $\pm 10^{\circ}\text{C}$, maior percentual de mórula e gástrula nas estações do outono e verão; ovo larvado no outono e primavera, e a -4°C no inverno e primavera; estágios de L₁ e L₃, e OPG no inverno e primavera a $\pm 10^{\circ}\text{C}$; e L₃ e OPG no outono e inverno a -4°C . Ocorreu variação entre as estações e entre as diferentes fases de desenvolvimento ($p < 0,05$) no experimento III com destaque para a fase de mórula entre as médias das estações da primavera e outono e para gástrula e ovos larvados ($p < 0,05$). Não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre as médias das estações para os estágios de L₁, L₃ e OPG e a -4°C para ovos larvados e estágio de L₁. No experimento IV, as fases de mórula e gástrula têm destaque no verão ($\pm 10^{\circ}\text{C}$) e inverno; gástrula na primavera (-4°C); ovo larvado no inverno ($\pm 10^{\circ}\text{C}$) e no outono (-4°C); L₁ no verão ($\pm 10^{\circ}\text{C}$) e no outono (-4°C); L₃ no verão ($\pm 10^{\circ}\text{C}$) e no outono (-4°C); OPG na primavera ($\pm 10^{\circ}\text{C}$) e no inverno (-4°C). Nas duas temperaturas ocorreu variação entre as estações ($p < 0,05$) para vários estágios de desenvolvimento.

Palavras-chave: ciatostomíneos, ovos, larvas, temperatura, armazenamento.

ABSTRACT

Feces were collected from horses non-wormed and experiments were performed at the Helminthology Laboratory in E.P.P. W.O. Neitz's Dept°. Animal Parasitology IV, UFRRJ, Brazil, from October 2004 to November 2008, consisting of four experiments and changes in methodology. The objective was to evaluate the influence of low temperatures on egg development of cyathostomin nematode until the first larval stage (L₁) and third larvae stage (L₃). The feces collected, divided into samples, were kept under refrigeration ($\pm 10^{\circ}\text{C}$) and congelation (-4°C) throughout the experimental period. Weekly or fortnightly, depending on the methodology, eggs (± 300) were recovered and kept in Petri dishes at room temperature ($\pm 25^{\circ}\text{C}$) were observed under an optical microscope (10x and 40x) after 24 hours to count the different stages from egg to L₁ and L₃ recovered from stool cultures. The results were tabulated and analyzed descriptively and statistically. In experiment I, with temperature of $\pm 10^{\circ}\text{C}$, 75% of the eggs were in the morula stage and 20% in gastrula; to -4°C , 90% in morula and 10% in gastrula. There were significant differences in the number of eggs in morula, gastrula and for temperatures between EPG. The eggs survived to -4°C , developed to the next phase and the time until embryonated egg was greater than 24h at $\pm 25^{\circ}\text{C}$. The different phases were observed in experiment II, the $\pm 10^{\circ}\text{C}$, a higher percentage of morula and gastrula in the seasons of autumn and summer, egg in autumn and spring, and -4°C in winter and spring; stages of L₁ and L₃, and EPG in winter and spring at $\pm 10^{\circ}\text{C}$, and L₃ and EPG in the fall and winter at -4°C . There has been variation between seasons and between different stages of development ($p < 0.05$) in experiment III with emphasis on the morula stage between the means of the spring and autumn and gastrula and embryonated eggs ($p < 0.05$) There was no significant difference ($p > 0.05$) between the averages of stations for stages L₁, L₃ and EPG and -4°C to embryonated eggs and L₁ stage. In experiment IV, the stages of morula and gastrula are highlighted in the summer ($\pm 10^{\circ}\text{C}$) and winter; gastrula in the spring (-4°C); to embryonated eggs in winter ($\pm 10^{\circ}\text{C}$) and autumn (-4°C), L₁ in the summer ($\pm 10^{\circ}\text{C}$) and autumn (-4°C) L₃ in summer ($\pm 10^{\circ}\text{C}$) and autumn (-4°C) EPG in the spring ($\pm 10^{\circ}\text{C}$) and winter (-4°C). In the two temperature variation occurred between seasons ($p < 0.05$) for various stages of development.

Key words: cyathostomin, eggs, larvae, temperature, storage.

5.1 - INTRODUÇÃO

O equino é hospedeiro habitual de um grande número de parasitos nematóides e dentre outros, os ciatostomíneos (Subfamília: Cyathostominae) (OGBOURNE, 1976; CHAPMAN et al., 1999). O ciclo biológico é dividido em duas fases: uma no ambiente, com o desenvolvimento de ovo à larva infectante (L₃), sofrendo influência de temperatura, umidade e tipo de pastagem (DUNCAN, 1974) e outra no hospedeiro, após a ingestão da pastagem contaminada. A oviposição sofre variação de acordo com os períodos chuvosos e secos nas regiões de clima subtropical e tropical, e a temperatura do ambiente é um fator abiótico importante para o desenvolvimento dos ovos até o estágio de vida livre (CIORDIA; BIZZELL, 1963, CHHABRA; SINGH, 1965). Ovos de espécies diferentes e até de mesma espécie de estrongilídeos diferem em relação à temperatura para desenvolvimento até a eclodibilidade das larvas, e temperaturas de freezer ou à 40°C destroem os ovos da maioria dos nematóides estrongilídeos, a menos que outros fatores de proteção adicional estejam disponíveis durante a exposição. (SALIH, 1981).

A temperatura ótima para o desenvolvimento de ovos e larvas de nematóides estrongilídeos está na faixa de 25-33°C (OGBOURNE, 1972; MFITILODZE; HUTCHINSON, 1987), com o maior estágio larval admitindo até 28°C. O limite máximo para desenvolvimento é até 38°C, ocorrendo a morte rápida a temperatura de 40°C. A larva infectante (L₃) é a mais resistente às variações climáticas e de temperatura, seguida pelos ovos, segundo e primeiro estágios larvais (L₂ e L₁), respectivamente (PARNELL, 1936; LUCKER, 1941; CROFTON, 1948a; SILVERMAN; CAMPBELL, 1959).

Considerando a influência dos fatores abióticos sobre o desenvolvimento dos estágios de vida livre dos estrongilídeos, em especial a temperatura e umidade, estudos com armazenamento de ovos são importantes para avaliar o seu efeito sobre o desenvolvimento dos diversos estágios (SAUNDERS, 2002) e sobre a eclodibilidade das larvas, para a obtenção de maiores dados sobre a biologia do parasito. Neste contexto, diversos trabalhos têm sido conduzidos no sentido de avaliar o efeito de diferentes temperaturas sobre o desenvolvimento de ovos e de larvas de parasitos gastrintestinais, sendo este o primeiro estudo realizado avaliando-se a influência do tempo de armazenamento das fezes de equinos mantidas sob condições de baixas temperaturas.

Pouco se conhece sobre a influência que baixas temperaturas exercem sobre os ciatostomíneos, e com o objetivo de ampliar este conhecimento iniciou-se o trabalho para avaliar o desenvolvimento de ovos de ciatostomíneos recuperados de fezes mantidas à temperatura de ±10°C (refrigeração) e de -4°C (congelamento), sendo executado através de quatro diferentes procedimentos.

5.2- MATERIAL E MÉTODOS

5.2.1- Local

Os estudos foram realizados no Laboratório de Helminologia da Estação para Pesquisas Parasitológicas W. O. Neitz do Departamento de Parasitologia Animal do Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ).

5.2.2- Animais doadores

Foram utilizados equinos não vermifugados e naturalmente infectados por nematóides strongilídeos intestinais como doadores de fezes, coletadas no início do período de execução de cada um dos experimentos. Esses animais são mantidos estabulados durante a parte da manhã para manejo e recebimento de suplementação alimentar com ração farelada, sendo soltos a pasto na parte da tarde e noite, não recebendo nenhum tratamento anti-helmíntico.

5.2.3- Delineamento experimental

Massas fecais foram coletadas diretamente do reto de eqüinos, não vermifugados e naturalmente infectados com nematóides ciatostomíneos. Um pool de fezes foi homogeneizado, sendo retirada uma alíquota de quatro gramas para a avaliação do OPG (GORDON; WHITLOCK, 1939) com a finalidade de estimar a carga parasitária dos animais utilizados e realização de coprocultura (ROBERTS; O'SULLIVAN, 1950) para confirmar o diagnóstico de ciatostomíneos, através da morfologia das larvas infectantes. Para a recuperação de ovos, visando avaliar e contar as diferentes fases de desenvolvimento, nas primeiras 24h, utilizou-se a técnica de Rodrigues; Honer (1985). Os dados obtidos com o processamento da massa fresca foram registrados para comparação posterior com os resultados das massas mantidas sob diferentes temperaturas. Amostras de fezes foram mantidas, separadamente, sob refrigeração ($\pm 10^{\circ}\text{C}$) e congelamento (-4°C) durante todo o período de estudo. Semanalmente ou quinzenalmente, conforme o estudo, uma alíquota de cada amostra foi processada para recuperação de ovos, mantidos em placa de Petri, à temperatura ambiente ($\pm 25^{\circ}\text{C}$) para observação após 24h e contagem das diferentes fases de desenvolvimento: mórula, gástrula e ovo larvado, estágio de L_1 , ao microscópio óptico. As L_3 foram recuperadas das coproculturas e identificadas de acordo com a chave de Bevilaqua et al. (1993). Os resultados foram tabelados com a utilização do *software* Excel e analisados descritivamente e estatisticamente.

5.2.4- Recuperação de ovos e L_3 de nematóides ciatostomíneos

*Técnica de Rodrigues e Honer (1985)

Ovos foram recuperados (± 300 ovos) de fezes frescas, conforme figura a seguir, para observação e contagem das diferentes fases de desenvolvimento até o primeiro estágio larval (L_1) após 24 horas. Os procedimentos desta técnica consistiram na homogeneização de quatro gramas de fezes com 56 ml de solução saturada de açúcar (densidade de 1.250g/ml) com posterior filtração do conteúdo em tamiz com gaze. O filtrado foi adicionado ao frasco e completado com solução saturada até o preenchimento total, tampado com rolha de cortiça e

após 30 minutos de repouso, o conteúdo foi cuidadosamente desprezado sem o contato com a parte superior interna do frasco, onde os ovos estão aderidos. Em seguida, a parte interior do frasco foi lavada, tomando o cuidado para não afetar os ovos aderidos que foram recuperados, lavando-se a parte superior recolhida em placas de Petri divididas em alíquotas de acordo com cada experimento e observadas após 24 horas para contagem dos ovos e das L₁.

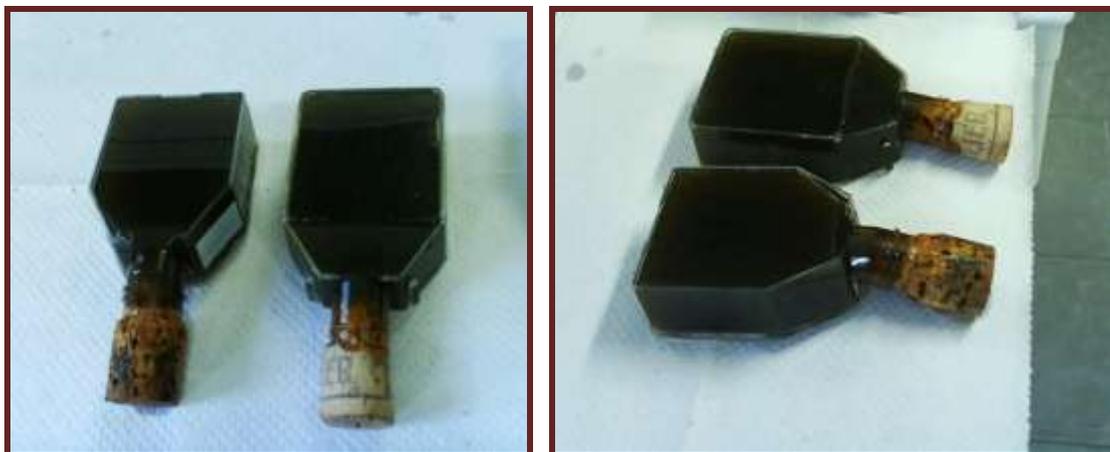


Figura 1. Recipientes para recuperação de ovos (RODRIGUES; HONER, 1985).

*Técnica de Coprocultura (ROBERTS; O`SULLIVAN, 1950)

Através desta técnica foram recuperadas larvas de terceiro estágio (L₃) e identificadas com base na chave de Bevilaqua et al. (1993).

5.2.5- Análise estatística

Através do programa estatístico GraphPad InStat, versão 3.00, analisou-se a normalidade dos dados pelo teste de Kolmogorov Smirnov e este teste demonstrou que os dados são não-paramétricos.

No experimento I, foi utilizado o teste de Wilcoxon ($p < 0,05$) (ZAR, 1999) para comparar os valores médios obtidos para as diferentes fases de desenvolvimento dos ovos e temperaturas, durante os 18 meses do estudo.

Para os experimentos II, III e IV, em cada ambiente térmico: refrigeração ($\pm 10^{\circ}\text{C}$) e congelamento (-4°C), todos os valores percentuais obtidos das alíquotas foram comparados para:

- 1) avaliar se as diferentes temperaturas influenciaram no desenvolvimento do ovo, L₁, L₃ e na variação do OPG;
- 2) observar como os ovos recuperados de fezes colhidas nas diferentes estações do ano são influenciados pela temperatura de refrigeração e congelamento, e por quanto tempo podem ser armazenados para diagnóstico.

No experimento II utilizou-se o teste de Wilcoxon ($p < 0,05$) (ZAR, 1999) para comparar os valores percentuais dos ovos e L₁, número das L₃ e valores do OPG entre si, obtidos dentro de cada estação e temperatura. O teste ANOVA ($p < 0,05$) (ZAR, 1999) foi

utilizado para analisar os valores percentuais mensais dos ovos, L₁, L₃ e do OPG, entre si, em cada estação e temperatura, precedido pelo teste de comparações múltiplas de Tukey-Kramer (p<0,05) (ZAR, 1999). Por ANOVA (p<0,05) foram analisados os dados das estações entre si, em cada temperatura e fase de desenvolvimento do ovo e OPG, seguido do teste de Tukey-Kramer (p<0,05). Através do teste de Mann-Whitney (p<0,05) foram comparadas as médias percentuais das temperaturas entre si, para cada fase do desenvolvimento do ovo e OPG.

No experimento III utilizou-se o teste T (p<0,05) (ZAR, 1999) para comparar os valores percentuais dos ovos e L₁, número das L₃ e valores do OPG entre si, obtidos dentro de cada estação e temperatura. O teste de Kruskal-Wallis (p<0,05) (ZAR, 1999) foi utilizado para analisar os valores percentuais dos ovos, L₁, L₃ e valores do OPG entre si, em cada estação e temperatura, precedido pelo teste de comparações múltiplas de Dunn's (p<0,05) (ZAR, 1999). Por ANOVA (p<0,05) foram analisados os valores das estações entre si, em cada temperatura e fase de desenvolvimento do ovo e OPG, e a comparação foi realizada pelo teste de Tukey-Kramer (p<0,05). Através do teste de Mann-Whitney (p<0,05) foram comparadas as médias percentuais das temperaturas tratamentos entre si, para cada fase do desenvolvimento do ovo e OPG.

No experimento IV - Utilizou-se o teste de Wilcoxon (p<0,05) (ZAR, 1999) para comparar os valores percentuais dos ovos e L₁, número das L₃ e valores do OPG entre si, obtidos dentro de cada estação e temperatura. O teste de Kruskal-Wallis (p<0,05) (ZAR, 1999) foi utilizado para análise dos valores percentuais mensais dos ovos, L₁, L₃ e valores do OPG entre si, em cada estação e temperatura, precedido pelo teste de comparações múltiplas de Dunn's (p<0,05) (ZAR, 1999). Por ANOVA (p<0,05) foram analisados os valores das estações entre si, em cada temperatura e fase de desenvolvimento do ovo e OPG, e a comparação foi realizada pelo teste de Tukey-Kramer (p<0,05). Através do teste de Mann-Whitney (p<0,05) foram comparadas as médias percentuais das temperaturas tratamentos entre si, para cada fase do desenvolvimento do ovo e OPG.

5.2.6- Metodologia específica apresentada para cada experimento realizado.

a) Experimento I: Avaliação do desenvolvimento dos ovos de nematóides ciatostomíneos em duas diferentes temperaturas.

O experimento foi realizado no período de outubro de 2004 a março de 2006. Com o objetivo de avaliar o efeito da temperatura sobre o desenvolvimento dos ovos, seis amostras de 1 kg cada foram individualizadas em sacos plásticos, mantendo condições anaeróbicas, sendo três mantidas sob condições de refrigeração ($\pm 10^{\circ}\text{C}$) e identificadas com as letras 1a, 1b e 1c e as outras três mantidas sob congelamento (-4°C) e nomeadas como 2a, 2b e 2c. Semanalmente, uma alíquota de quatro gramas da amostra 1a e da 1b foi processada, durante os 18 meses de estudo, seguindo os procedimentos constantes no item 6.2, tópico 'Recuperação de ovos e L₃ de nematóides ciatostomíneos'. Após o período de 24h sob temperatura ambiente ($\pm 25^{\circ}\text{C}$), os ovos recuperados (± 300 ovos) em placas de Petri foram observados com o auxílio do microscópio óptico (aumento de 40x) e contados para registro das diferentes fases de mórula, gástrula, girno e ovo larvado. Semanalmente, de cada amostra (1a e 2a) foi retirada uma alíquota de 4g de fezes para avaliação do OPG, 5g para coprocultura e 4g para recuperação dos ovos. Antes da realização do processamento da massa congelada, a mesma foi mantida em temperatura ambiente por cerca de 2 (duas) horas para descongelamento e posterior obtenção das alíquotas.

Os resultados obtidos com o processamento das fezes frescas foram comparados com os obtidos posteriormente das amostras 1a (Refrigeração) e 2a (Congelamento).

Os valores percentuais, de cada leitura foram registrados, tabelados e agrupados para análise descritiva e estatística.

b) Experimento II: Sobrevivência e desenvolvimento de ovos e larvas de ciatostomíneos em baixas temperaturas, sob condições experimentais.

Este experimento foi realizado no período de abril de 2005 a março de 2006, compreendendo as estações de Outono a Verão. Após a coleta de fezes (1 kg), no início de cada estação, foram realizados os procedimentos constantes no item 6.2, tópico 'Recuperação de ovos e L₃ de nematóides ciatostomíneos'. Posteriormente, a massa total foi homogeneizada e dividida em duas amostras de 500g cada, reservada em sacos plásticos, mantendo condições anaeróbicas, sendo a amostra 1a mantida a $\pm 10^{\circ}\text{C}$ e a 2a mantida a -4°C , durante o período estacional de execução do trabalho. Semanalmente, duas alíquotas de fezes da amostra 1a e duas da amostra 2a foram processadas para recuperação dos ovos e realização de coproculturas, segundo a técnica de Rodrigues e Honer (1985). A massa mantida a -4°C permanecia em temperatura ambiente ($\pm 25^{\circ}\text{C}$) por cerca de 2 horas para descongelamento e posterior processamento. Dos ovos recuperados (± 300) retirou-se uma alíquota de 100, para observação das fases de mórula, gástrula, ovo larvado, girino e estágio de L₁, após o período de 24h. Após 10 dias do processamento das alíquotas, as L₃ foram recuperadas das coproculturas, sendo identificadas e contadas em 1 mL de água.

Os resultados obtidos com o processamento da alíquota de fezes frescas foram utilizados para comparação com os dados posteriormente obtidos das massas mantidas sob diferentes temperaturas: $\pm 10^{\circ}\text{C}$ e -4°C até o final do estudo.

Os resultados tabelados foram analisados descritivamente e estatisticamente.

c) Experimento III: Nematóides ciatostomíneos: avaliação quinzenal do efeito da temperatura sobre o desenvolvimento de ovos, L₁ e L₃.

Esse trabalho foi realizado no período de outubro de 2006 a setembro de 2007, e a massa fecal coletada (1,5kg) foi dividida em duas amostras ($\pm 700\text{g}$ cada) após a realização dos procedimentos laboratoriais iniciais descritos no item 6.2, sendo uma amostra mantida em saco plástico, mantendo-se condições anaeróbicas sob temperatura de refrigeração e a outra sob congelamento, durante o período estacional. Quinzenalmente, duas alíquotas de fezes da amostra 1a e da amostra 2a foram processadas para recuperação dos ovos, como descrito no experimento II. Os ovos foram contados até 100, com posterior extração de um valor médio.

d) Experimento IV: Influência de duas diferentes temperaturas no desenvolvimento ovos em diferentes estágios, L₁ e L₃ de nematóides ciatostomíneos (Nematoda-Cyathostominae).

Este estudo, e último, foi executado no período de outubro de 2007 a novembro de 2008. Após a coleta da massa fecal (1,5kg) e realização dos procedimentos iniciais descritos no item 6.2, 20 amostras de 20g cada foram reservadas sacos plásticos, mantendo condições anaeróbicas, sendo 10 mantidas sob temperatura de $\pm 10^{\circ}\text{C}$ e as outras 10 sob -4°C , durante cada período estacional. Semanalmente, duas réplicas de 4g cada das massas armazenadas foram processadas, avaliando-se os parâmetros anteriormente expostos. Os ovos recuperados (± 300 em 2 mL de água) permaneceram em placas de Petri por 24h, sob temperatura

ambiente, para observação do desenvolvimento dos ovos e contagem das fases de mórula a ovo larvado, e estágio de L₁ até o limite de 100. Juntamente, duas réplicas de 5g cada foram reservadas de cada amostra para as coproculturas.

5.3- RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.3.1- Experimento I: Avaliação do desenvolvimento dos ovos de nematóides ciatostomíneos em duas diferentes temperaturas.

Na tabela 1 estão apresentados os resultados de análise comparativa para os valores médios percentuais de ovos nas diferentes fases de desenvolvimento até o primeiro estágio larval (L₁) e para o OPG, nas temperaturas de armazenamento: refrigeração ($\pm 10^{\circ}\text{C}$) e congelamento (-4°C) por até 18 meses.

Tabela 1: Diferentes fases de ovo até L₁ à temperatura de $\pm 10^{\circ}\text{C}$ e -4°C no período de Setembro/2004 a Março/2006.

Ovo à L ₁	$\pm 10^{\circ}\text{C}$ ($X \pm EP^{**}$)	-4°C ($X \pm EP^{**}$)
Mórula	76,5 \pm 2,35 ^a	88,22 \pm 2,28 ^b
Gástrula	18,44 \pm 2,67 ^a	9,44 \pm 1,63 ^b
Ovo larvado	0,94 \pm 0,37 ^a	0,89 \pm 0,30 ^a
Ovo inviável e/ou infértil	5,22 \pm 1,51 ^a	4,28 \pm 2,05 ^a
OPG	315,22 \pm 114,82 ^a	584,11 \pm 44,03 ^b

*Médias **Erro Padrão

Médias na mesma linha seguidas por letras distintas (a e b) diferem entre si pelo teste de Mann-Whitney ($p < 0,05$).

A influência do tempo de armazenamento no desenvolvimento de ovos de ciatostomíneos, para as fases de mórula e gástrula, mantidos sob a temperatura de $\pm 10^{\circ}\text{C}$ e -4°C , respectivamente, por até 18 meses de estocagem das fezes (Outubro/04 a Março/06), está demonstrado nas figuras 1 e 2. Na figura 3 observa-se a variação do OPG mensal, e o tempo de armazenamento à temperatura de $\pm 10^{\circ}\text{C}$ -4°C para o mesmo período.

Observou-se diferença significativa no desenvolvimento dos ovos nas fases de mórula, gástrula e para o OPG entre os ambientes térmicos, destacando-se o valor de 88% na fase de mórula a -4°C (Tabela 1), sendo esta, a fase inicial, seguida de gástrula. Na temperatura de $\pm 10^{\circ}\text{C}$ foi observado menor percentual de mórula (76,5), quando comparado com de -4°C (88,22%), porque na geladeira o desenvolvimento para a fase seguinte (gástrula) foi maior.

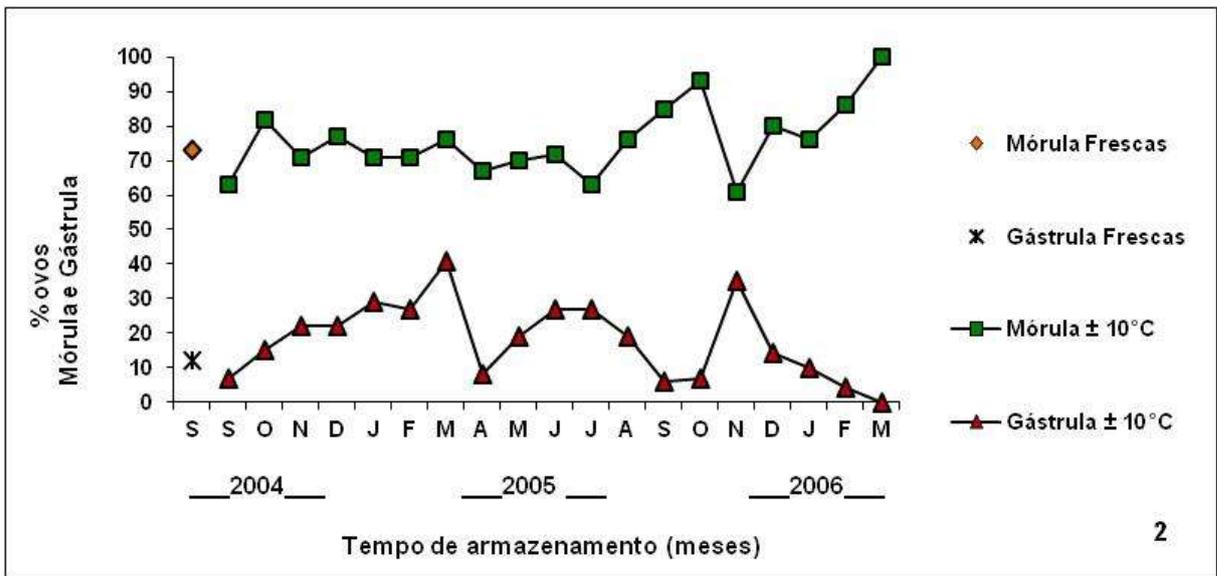


Figura 2: Influência do tempo de armazenamento e da temperatura de $\pm 10^{\circ}\text{C}$ (refrigeração) sobre as fases de desenvolvimento dos ovos em mórula e gástrula, no período de 18 meses (setembro/2004 a março/2006).

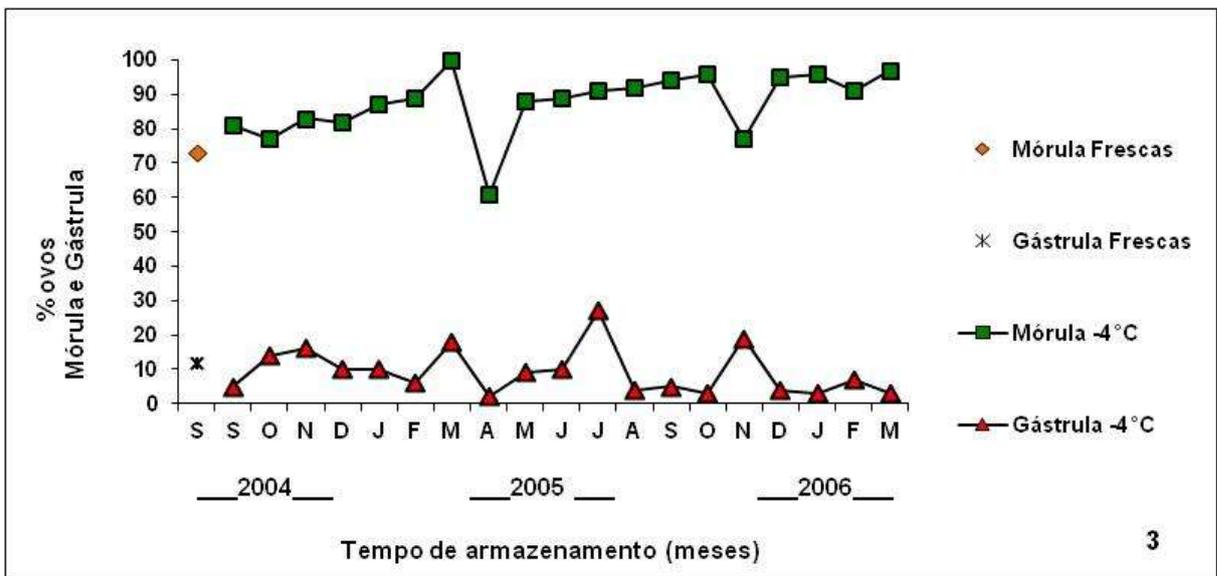


Figura 3: Influência do tempo de armazenamento e da temperatura de -4°C (congelamento) sobre as fases de desenvolvimento dos ovos em mórula e gástrula, no período de 18 meses (setembro/2004 a março/2006).

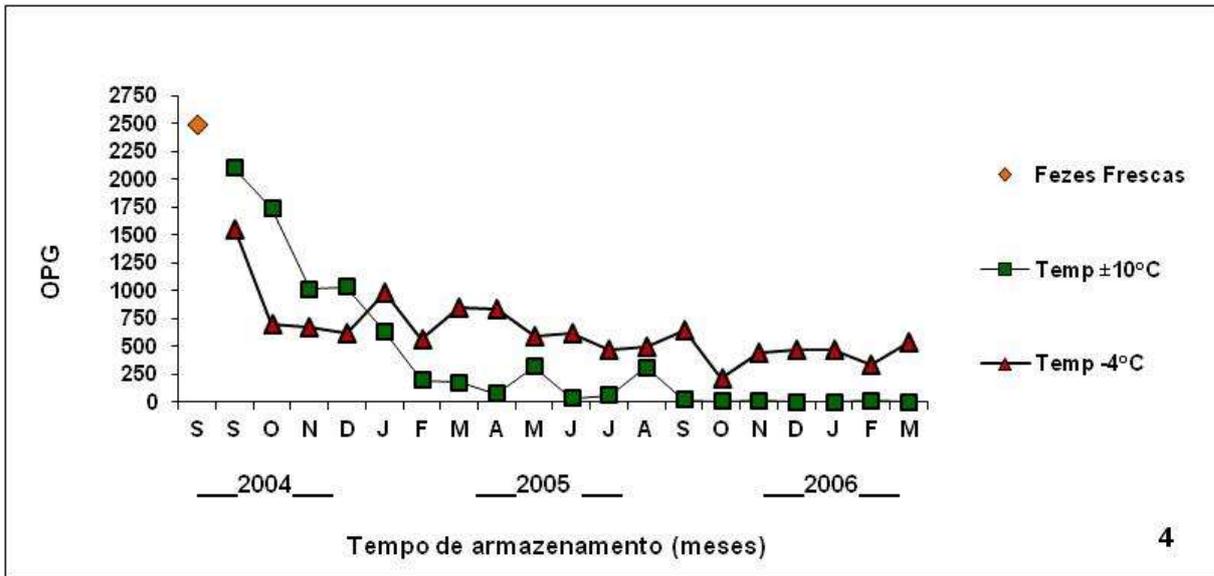


Figura 4: Variação do OPG mensal, em virtude do tempo de armazenamento e ação da temperatura de $\pm 10^{\circ}\text{C}$ (refrigeração) e -4°C (congelamento), no período de 18 meses (setembro/2004 a março/2006).

No presente estudo foi observado que os ovos resistiram à ação das temperaturas de $\pm 10^{\circ}\text{C}$ (refrigeração) e -4°C (congelamento) durante os 18 meses. Os ovos na fase de girino foram pouco observados e contados, por se tratar de uma fase intermediária e curta entre gástrula e ovo larvado, não sendo possível analisar estatisticamente com os resultados obtidos.

Os valores para a fase de mórula oscilaram de 60 a 100% em ambas as amostras de fezes armazenadas e para gástrula foi de 10 a 35% na massa refrigerada (a $\pm 10^{\circ}\text{C}$) e de 5 a 25% para a massa congelada (-4°C) (Figuras 2 e 3). Durante três meses a $\pm 10^{\circ}\text{C}$ e dois meses a -4°C o OPG manteve-se em 1000 (Figura 4). As L_3 obtidas, da coprocultura, foram identificadas como pertencentes à subfamília Cyathostominae.

O menor valor para o OPG foi observado a $\pm 10^{\circ}\text{C}$ (refrigeração) em comparação com o mantido a -4°C (congelamento), o que pode ser justificado, pela visualização macroscópica da grande presença de fungos na massa refrigerada (Figura 4). Fungos se desenvolvem em fezes de diferentes animais e podem destruir ovos e larvas (SANTOS et al. 2001; BRAGA et al. 2009a; 2009b), neste estudo não se identificou a espécie de fungo. Além disso, o OPG pode variar em função da amostra de fezes, porque a distribuição de ovos nas fezes não apresenta um padrão de normalidade e a redução nos valores do OPG (Figura 4), foi decorrente do tempo de estoque, o que também foi observado por Nielsen et al. (2010) e Van Wyk e Van Wyk (2002).

Quanto ao desenvolvimento dos ovos, o efeito da variação da temperatura sobre o desenvolvimento dos nematóides é um dado importante para o melhor conhecimento do seu ciclo (DOBSON; CARPER, 1992), sendo a temperatura de 28°C a mais próxima do ideal, e com 40°C ocorre morte rápida dos ovos. Segundo Young et al. (1980) a variação brusca da temperatura influencia no tempo de desenvolvimento dos ovos de *Ostertagia circumcincta* até estágio larval. Observou-se percentual reduzido de ovos na fase de girino, provavelmente por ser uma fase curta. Após a recuperação dos ovos observou-se ao microscópio óptico (40x) que aproximadamente 80% dos ovos estavam na fase de mórula (inicial). Algumas horas, após a eliminação dos ovos em estágio de mórula nas fezes, o desenvolvimento continua para a fase de gástrula e em seguida girino, fase muito rápida e ovo larvado, culminando com a eclosão da larva no tempo aproximado de 24h; o desenvolvimento da maioria dos nematóides da Super família Strongyloidea ocorre desta forma (BIRD, 1971; BOWMAN, 2006). Segundo

Nielsen et al. (2007), os ovos não-embrionados são definidos como ovos que não contém larvas viáveis ao contrário dos ovos embrionados. Não houve diferença significativa ($p>0,05$) para ovos inviáveis e/ou inférteis e para ovos larvados mantidos a $\pm 10^{\circ}\text{C}$ e -4°C . O efeito da temperatura sobre ovos de ciatostomíneos e o conhecimento das diferentes fases de desenvolvimento vem sendo pouco estudados e assim comparou-se com nematóides que apresentam fases de desenvolvimento semelhantes (PANDEY et al. 1989; 1993). Nas temperaturas estudadas o desenvolvimento dos ovos foi mais lento, porém ocorreu desenvolvimento, sendo diferenciado entre os ambientes térmicos para uma mesma fase, demonstrando que os ovos resistiram a baixas temperaturas. Concluiu-se que, a massa fecal pode ficar armazenada por até 90 dias sob $\pm 10^{\circ}\text{C}$ e até dois meses sob -4°C para fins de diagnóstico, uma vez que os ovos dos ciatostomíneos sobreviveram à refrigeração e congelamento.

5.3.2- Experimento II: Análise *in vitro* do desenvolvimento de ovos de ciatostomíneos (Nematoda-Cyathostominae) até os estágios de L₁ e L₃, obtidos de fezes coletadas no início de cada estação e armazenadas em baixas temperaturas.

Nas tabelas de 1 a 4 estão apresentados os resultados da análise comparativa entre os valores médios percentuais mensais de ovos nas diferentes fases de desenvolvimento até L₁, para as L₃ e OPG, nas temperaturas de armazenamento: refrigeração ($\pm 10^{\circ}\text{C}$) e congelamento (-4°C), nas estações de Outono/2005 a Verão/2006.

Tabela 1: Valores médios para as diferentes fases de ovo até L₃ e OPG nas temperaturas de $\pm 10^{\circ}\text{C}$ e -4°C no Outono/2005.

OUTONO/2005						
Ovo à L₃	$\pm 10^{\circ}\text{C}$ ($X \pm EP^{**}$)			-4°C ($X \pm EP^{**}$)		
	04/05	05/05	06/05	04/05	05/05	06/05
M	15 \pm 3,92 ^{bc}	25 \pm 1,89 ^b	50,9 \pm 2,94 ^a	24,62 \pm 3,86 ^c	39,25 \pm 2,01 ^b	54,3 \pm 3,062 ^a
G	5,5 \pm 2,31 ^{ab}	13,75 \pm 2,92 ^a	16,5 \pm 2,19 ^a	11,12 \pm 3,77 ^a	10,87 \pm 1,53 ^a	8,7 \pm 1,02 ^a
OL	2 \pm 0,46 ^b	11,25 \pm 1,86 ^a	8,8 \pm 1,38 ^a	0,62 \pm 0,26 ^a	5,87 \pm 1,86 ^a	6,6 \pm 2,07 ^a
I	6,375 \pm 1,69 ^a	16,25 \pm 2,51 ^a	11,5 \pm 3,81 ^a	8,25 \pm 1,53 ^a	3,75 \pm 1,03 ^b	1,6 \pm 0,60 ^{bc}
L₁	71 \pm 7,54 ^a	33,62 \pm 4,14 ^b	11,6 \pm 1,52 ^c	55,12 \pm 8,78 ^a	40,25 \pm 2,86 ^a	24,9 \pm 4,73 ^{ab}
L₃	1097,5 \pm 465,28 ^a	57,5 \pm 9,73 ^b	18,5 \pm 6,37 ^{bc}	866,87 \pm 255,21 ^a	180,62 \pm 26,80 ^b	69 \pm 10,87 ^{bc}
OPG	1425 \pm 305,16 ^a	531,25 \pm 120,62 ^b	465 \pm 91,9 ^{bc}	2575 \pm 387,76 ^a	1781,25 \pm 219,16 ^a	1591 \pm 266,23 ^a

*Médias **EP – Erro Padrão

Médias da mesma linha seguidas por letras distintas diferem entre si, através da Análise de Variância (ANOVA) ($p < 0,05$)

M= mórula; G= gástrula; OL= ovo larvado; I = inviável.

Tabela 2: Valores para as diferentes fases de ovo até L₃ e OPG nas temperaturas de ±10°C e -4°C no Inverno/2005.

INVERNO/2005						
Ovo à L ₃	±10°C (X*±EP**)			-4°C (X*±EP**)		
	07/05	08/05	09/05	07/05	08/05	09/05
M	2,87±0,67 ^b	13,12±2,93 ^{ab}	26,87±6,95 ^a	11,87±2,76 ^b	24,37±1,91 ^a	32,0±3,79 ^a
G	1,5±0,27 ^a	1±0,267 ^a	9±5,09 ^a	4,25±0,98 ^a	3,37±0,98 ^a	8,25±2,27 ^a
OL	8,12±1,86 ^a	7,5±1,93 ^a	7,87±0,87 ^a	15,25±3,38 ^a	7,5±1,94 ^{ab}	5,75±1,88 ^b
I	1,12±0,23 ^b	5,25±0,73 ^a	7,5±1,39 ^a	1,5±0,38 ^a	2,5±0,93 ^a	2,87±0,69 ^a
L ₁	86,37±1,80 ^a	73±5,18 ^a	48,75±5,12 ^b	67,25±4,55 ^a	62±2,72 ^{ab}	51,12±1,73 ^b
L ₃	805±146,52 ^a	321,87±49,70 ^b	178,75±31,38 ^{bc}	625,62±104,37 ^a	230,62±42,76 ^b	126,25±36,52 ^{bc}
OPG	2350±218,35 ^a	2206,25±114,34 ^a	2200±137,91 ^a	1162,5±136,52 ^a	837,50±41,99 ^a	875±106,07 ^a

*Médias **EP – Erro Padrão

Médias da mesma linha seguidas por letras distintas diferem entre si, através da Análise de Variância (ANOVA) (p<0,05)

M= mórula; G= gástrula; OL= ovo larvado; I = inviável.

Tabela 3: Valores médios para as diferentes fases de ovo até L₃ e OPG nas temperaturas de ±10°C e -4°C na Primavera/05.

PRIMAVERA/2005						
Ovo à L ₃	±10°C (X*±EP**)			-4°C (X*±EP**)		
	10/05	11/05	12/05	10/05	11/05	12/05
M	3,12±0,58 ^{bc}	14,25±3,47 ^b	49,50±6,06 ^a	20,75±4,62 ^b	34,75±8,44 ^{ab}	52,62±4,17 ^a
G	1,75±0,70 ^a	3,25±0,98 ^a	6,87±2,44 ^a	6,25±2,66 ^a	4,62±1,86 ^a	3,25±1,08 ^a
OL	2,87±0,58 ^{bc}	7,25±2,12 ^b	18,62±4,37 ^a	3,25±0,37 ^b	5,5±1,59 ^{ab}	10,5±2,54 ^a
I	0,5±0,27 ^a	0,5±0,327 ^a	0,13±0,12 ^a	2,37±0,53 ^a	0,87±0,44 ^b	0,25±0,16 ^{bc}
L ₁	91,75±1,13 ^a	74,75±3,93 ^b	24,87±5,95 ^c	67,37±3,93 ^a	54,25±6,63 ^a	33,37±4,59 ^b
L ₃	755,62±129,33 ^a	431,25±69,98 ^b	58,12±27,63 ^c	398,12±73,77 ^a	170,62±31,92 ^b	62,5±13,63 ^{bc}
OPG	2106,25±261,59	2081,25±340,29 ^a	1112,5±255,26 ^a	1250±224,01 ^a	987,5±194,28 ^{ab}	368,7±93,99 ^b

*Médias **EP – Erro Padrão

Médias da mesma linha seguidas por letras distintas diferem entre si, através da Análise de Variância (ANOVA) (p<0,05)

M= mórula; G= gástrula; OL= ovo larvado; I = inviável.

Tabela 4: Valores médios para as diferentes fases de ovo até L₃ e OPG nas temperaturas de ±10°C e -4°C no Verão/06.

VERÃO/2006						
Ovo à L ₃	±10°C (X*±EP**)			-4°C (X*±EP**)		
	01/06	02/06	03/06	01/06	02/06	03/06
M	13,83±3,93 ^b	48,75±10,27 ^a	76,17±3,48 ^a	20,33±2,64 ^c	51±7,81 ^b	78,67±2,91 ^a
G	2,50±0,43 ^a	9,75±4,16 ^a	11,5±2,72 ^a	2,83±0,48 ^a	9,5±3,07 ^a	8±1,83 ^a
OL	4,67±1,38 ^{ab}	6,875±0,91 ^a	2,83±0,83 ^b	2,5±0,76 ^a	4,5±1,77 ^a	2,33±1,08 ^a
I	0±0 ^a	4,25±2,79 ^a	0,67±0,49 ^a	0±0 ^a	1,12±0,74 ^a	0,5±0,22 ^a
L ₁	79±5,19 ^a	30,37±4,01 ^b	8,83±2,24 ^c	74,33±3,44 ^a	33,75±5,61 ^b	10,5±2,20 ^c
L ₃	82,33±26,96 ^a	22,5±5,34 ^b	0±0 ^{bc}	17,5±5,44 ^b	65,62±11,08 ^a	2,5±1,71 ^{bc}
OPG	1401,66±318,65 ^a	662,5±154,62 ^b	291,66±47,29 ^{bc}	716,67±260,34	512,5±134,88 ^a	191,67±49,02 ^a

*Médias **EP – Erro Padrão

Médias da mesma linha seguidas por letras distintas diferem entre si, através da Análise de Variância (ANOVA) (p<0,05)

M= mórula; G= gástrula; OL= ovo larvado; I = inviável.

Observou-se variação entre os valores percentuais de ovos que se mantiveram na fase de mórula, e para os que alcançaram as fases de gástrula; ovo larvado; estágios de L₁ e L₃; e para o OPG (p<0,05) (Tabela 1). Já na massa a -4°C, a diferença foi observada para as fases de mórula, estágios de L₁ e L₃. Em ambos os ambientes térmicos, registrou-se um número de L₃ e OPG reduzidos do primeiro ao terceiro mês, entretanto, na massa congelada observou-se maior recuperação das L₃ e valores do OPG se comparado com a massa refrigerada.

Na tabela 2 notou-se variação entre os meses da estação inverno à temperatura de ±10°C com manutenção dos ovos em mórula, e desenvolvimento até os estágios de L₁ e L₃ e a -4°C para as fases de mórula, ovo larvado, para as L₁ e L₃(p<0,05). Notou-se que, em média, no terceiro mês de cada estação 50% dos ovos alcançou o estágio de L₁ e em ambos os ambientes de estoque o número reduzido de L₃ foi reduzido no segundo e terceiro meses; também se observou redução dos valores do OPG, com destaque para -4°C.

Observou-se variação entre os valores percentuais de ovos que se mantiveram em mórula, para os que alcançaram a fase de ovo larvado, estágios de L₁ e L₃ a ±10°C (p<0,05) (Tabela 3). Já na massa a -4°C, a diferença foi observada para mórula, ovo larvado, para as L₁, L₃ e OPG. Houve um decréscimo do OPG e L₃ recuperadas do primeiro ao terceiro mês, em ambos os ambientes térmicos, sendo os valores da massa refrigerada superiores aos da massa congelada.

Na tabela 4 observou-se variação no desenvolvimento dos ovos em mórula, ovo larvado, para as L₁ e L₃, e para o OPG na massa sob ±10°C (p<0,05). Na massa a -4°C a diferença foi observada para as fases de mórula, estágios de L₁ e L₃. Até o terceiro mês notou-se acentuada redução no número das L₃ recuperadas na massa a ±10°C, chegando à zero. Na massa a -4°C maior número das L₃ foi recuperada no segundo mês. Do primeiro ao terceiro mês houve redução dos valores do OPG em ambos os ambientes de armazenamento.

Por meio deste estudo, há evidência da influência das temperaturas de ±10°C e -4°C no tempo de armazenamento dos ovos e das demais fases de desenvolvimento, dentro das diferentes estações; e que os ovos resistem às condições de baixas temperaturas com subsequentemente desenvolvimento em condições favoráveis, concordando com Salih (1981),

e desta forma demonstrou-se que as fezes podem ficar armazenadas por até 30 dias a $\pm 10^{\circ}\text{C}$. Pela primeira vez, estes delineamentos experimentais foram realizados, tornado difícil fazer uma ampla discussão.

Nas figuras de 1 a 6 estão representados graficamente a comparação, entre as estações de Outono/2005 a Verão/2006, das médias percentuais para os ovos nas diferentes fases de desenvolvimento até L_1 , para as L_3 e OPG, nas temperaturas de armazenamento: refrigeração ($\pm 10^{\circ}\text{C}$) e congelamento (-4°C).

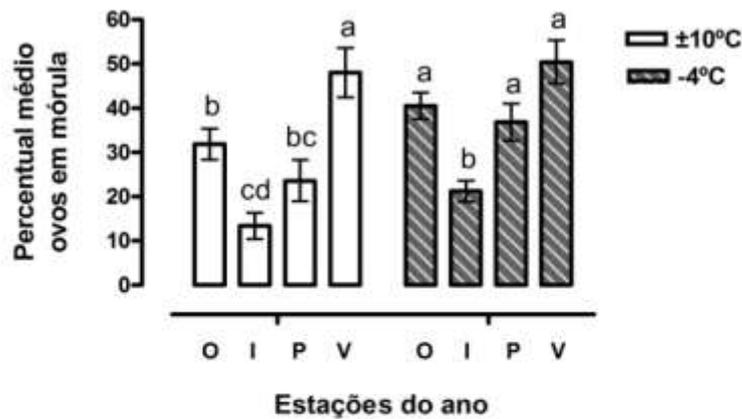


Figura 1. Comparação entre as médias estacionais (Abril/05 a Março/06) para o percentual de ovos em mórula e o tempo de armazenamento das fezes, em amostras processadas semanalmente, mantidas em baixas temperaturas: refrigeração ($\pm 10^{\circ}\text{C}$) e congelamento (-4°C).

O= outono; I= inverno; P= primavera; V= verão.

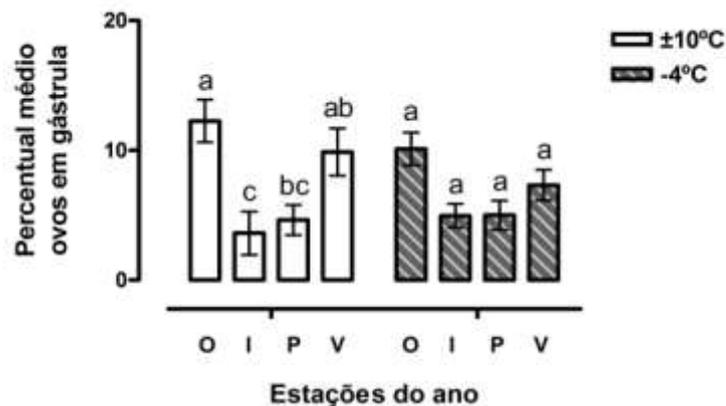


Figura 2. Comparação entre as médias estacionais (Abril/05 a Março/06) para o percentual de ovos em gástrula e o tempo de armazenamento das fezes, em amostras processadas semanalmente, mantidas em baixas temperaturas: refrigeração ($\pm 10^{\circ}\text{C}$) e congelamento (-4°C).

O= outono; I= inverno; P= primavera; V= verão.



Figura 3. Comparação entre as médias estacionais (Abril/05 a Março/06) para o percentual de ovo larvado e o tempo de armazenamento das fezes, em amostras processadas semanalmente, mantidas em baixas temperaturas: refrigeração ($\pm 10^{\circ}\text{C}$) e congelação (-4°C).

O= outono; I= inverno; P= primavera; V= verão.

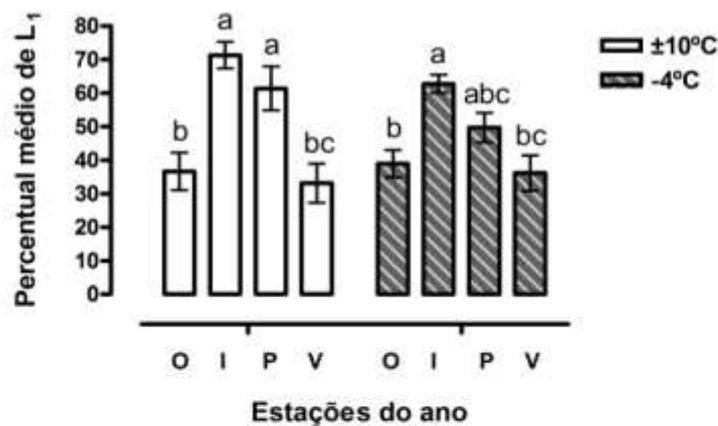


Figura 4. Comparação entre as médias estacionais (Abril/05 a Março/06) para o percentual de larvas de primeiro estágio (L₁) e o tempo de armazenamento das fezes, em amostras processadas semanalmente, mantidas em baixas temperaturas: refrigeração ($\pm 10^{\circ}\text{C}$) e congelação (-4°C).

O= outono; I= inverno; P= primavera; V= verão.

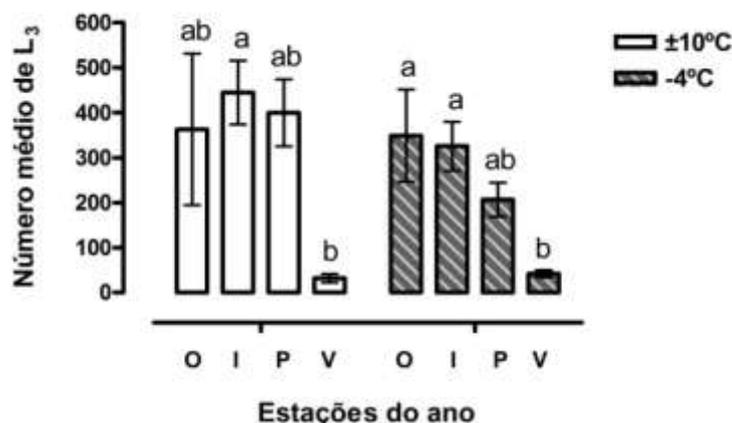


Figura 5. Comparação entre as médias estacionais (Abril/05 a Março/06) para o número de larvas de terceiro estágio (L_3) e o tempo de armazenamento das fezes, em amostras processadas semanalmente, mantidas em baixas temperaturas: refrigeração ($\pm 10^\circ\text{C}$) e congelamento (-4°C).

O= outono; I= inverno; P= primavera; V= verão.

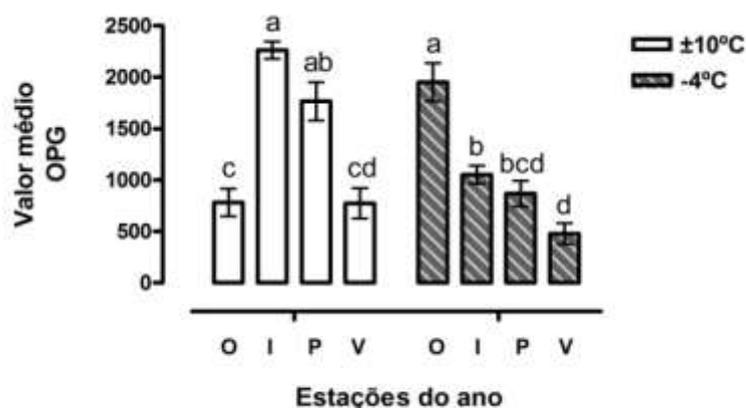


Figura 6. Comparação entre as médias estacionais (Abril/05 a Março/06) para o número de ovos por grama de fezes (OPG) e o tempo de armazenamento das fezes, em amostras processadas semanalmente, mantidas em baixas temperaturas: refrigeração ($\pm 10^\circ\text{C}$) e congelamento (-4°C).

O= outono; I= inverno; P= primavera; V= verão.

A $\pm 10^\circ\text{C}$, observou-se maior percentual de mórula (Fig. 1) e gástrula (Fig. 2) nas estações do outono e verão; ovo larvado (Fig. 3) no outono e primavera, e a -4°C no inverno e primavera; estágios de L_1 (Fig. 4) e L_3 (Fig. 5), e OPG (Fig. 6) no inverno e primavera a $\pm 10^\circ\text{C}$; e L_3 e OPG no outono e inverno a -4°C (Figs. 5 e 6). Ocorreu variação entre as estações e entre as diferentes fases de desenvolvimento ($p < 0,05$). A estação do inverno concentrou maior número dos ovos que alcançaram o estágio de L_3 , o que demonstra uma resistência a baixas temperaturas, concordando com Salih (1981). Notou-se que os maiores

valores de OPG foram concentrados nas estações do outono e inverno, podendo ser justificado pela maior postura de ovos férteis e/ou viáveis pelas fêmeas adultas de ciatostomíneos nestas estações, provavelmente, devido a uma programação biológica, por se tratar de estações que apresentam a temperatura e umidade reduzida que contribui para o maior tempo nas pastagens, e conseqüentemente, maiores oportunidades de contato com os seus hospedeiros, o que também foi observado por Quinelato et al. (2008) em estudo sobre disponibilidade de L₃ na pastagem.

5.3.3- Experimento III: Nematóides ciatostomíneos: avaliação quinzenal do efeito da temperatura sobre o desenvolvimento de ovos, L₁ e L₃.

Nas tabelas de 1 a 4 são apresentados os resultados da análise comparativa entre os valores médios percentuais mensais de ovos nas diferentes fases de desenvolvimento até L₁, para as L₃ e OPG, nas temperaturas de armazenamento: refrigeração ($\pm 10^{\circ}\text{C}$) e congelamento (-4°C), nas estações de Primavera/2006 a Inverno/2007.

Tabela 1: Valores médios para as diferentes fases de ovo até L₃ e OPG nas temperaturas de $\pm 10^{\circ}\text{C}$ e -4°C na Primavera/2006.

PRIMAVERA/2006						
Ovo à L ₃	$\pm 10^{\circ}\text{C}$ (X* \pm EP**)			-4°C (X* \pm EP**)		
	10/06	11/06	12/06	10/06	11/06	12/06
M	14,5 \pm 2,50 ^{ab}	33 \pm 6,77 ^a	6,5 \pm 2,53 ^b	36 \pm 2,00 ^a	39,25 \pm 3,50 ^a	74,5 \pm 1,55 ^a
G	2 \pm 1,00 ^{ab}	6,75 \pm 1,89 ^a	1,5 \pm 0,64 ^b	10 \pm 2,00 ^a	13,25 \pm 2,50 ^a	8 \pm 1,87 ^a
OL	1,5 \pm 0,50 ^a	1 \pm 1,00 ^a	0,75 \pm 0,48 ^a	9 \pm 3,00 ^a	3,5 \pm 0,87 ^a	2 \pm 0,41 ^a
L ₁	80,5 \pm 0,50 ^a	37,50 \pm 13,85 ^{ab}	1,75 \pm 0,48 ^b	43 \pm 4,00 ^{ab}	44 \pm 3,94 ^a	14,75 \pm 1,93 ^b
L ₃	582,5 \pm 467,50 ^a	126,25 \pm 33,75 ^a	18,75 \pm 9,43 ^b	219,5 \pm 39,50 ^a	30,5 \pm 8,25 ^{ab}	6,75 \pm 2,14 ^b
OPG	1100 \pm 200 ^a	187,5 \pm 74,65 ^a	37,5 \pm 23,94 ^a	975 \pm 125,00 ^a	312,5 \pm 80,04 ^a	312,5 \pm 139,01 ^a

*Médias **EP – Erro Padrão

Médias da mesma linha, seguidas por letras distintas, diferem entre si pelo do teste de Kruskal-Wallis ($p < 0,05$).
M= mórula; G= gástrula; OL= ovo larvado.

Tabela 2: Valores médios para as diferentes fases de ovo até L₃ e OPG nas temperaturas de $\pm 10^{\circ}\text{C}$ e -4°C no Verão/2007.

VERÃO/2007						
Ovo à L ₃	$\pm 10^{\circ}\text{C}$ (X* \pm EP**)			-4°C (X* \pm EP**)		
	01/07	02/07	03/07	01/07	02/07	03/07
M	38,75 \pm 7,05 ^a	56,5 \pm 13,50 ^a	68,75 \pm 11,71 ^a	37,5 \pm 1,90 ^b	40 \pm 4,00 ^{ab}	68 \pm 7,68 ^a
G	11,5 \pm 1,71 ^a	8,5 \pm 5,50 ^a	10,75 \pm 3,50 ^a	11,5 \pm 3,28 ^a	15 \pm 3,00 ^a	7,75 \pm 3,15 ^a
OL	2,75 \pm 0,85 ^a	2 \pm 0,00 ^a	2,5 \pm 2,50 ^a	11,75 \pm 6,55 ^a	1,5 \pm 1,50 ^a	1 \pm 0,71 ^a
L ₁	45 \pm 7,47 ^a	33 \pm 8,00 ^{ab}	12,25 \pm 3,90 ^b	31,5 \pm 10,24 ^a	43 \pm 3,00 ^a	23 \pm 6,90 ^a
L ₃	258 \pm 114,97 ^a	15 \pm 4,00 ^b	21 \pm 4,42 ^b	287,50 \pm 115,92 ^a	52,50 \pm 17,50 ^a	89,50 \pm 23,57 ^a
OPG	2437,5 \pm 815,57	750 \pm 450,00 ^a	625 \pm 183,14 ^a	1087,50 \pm 115,92 ^a	675 \pm 25,00 ^a	375 \pm 92,42 ^a

*Médias **EP – Erro Padrão

Médias da mesma linha, seguidas por letras distintas, diferem entre si pelo do teste de Kruskal-Wallis ($p < 0,05$).
M= mórula; G= gástrula; OL= ovo larvado.

Tabela 3: Valores médios para as diferentes fases de ovo até L₃ e OPG nas temperaturas de ±10°C e -4°C no Outono/2007.

OUTONO/2007						
Ovo à L ₃	±10°C (X*±EP**)			-4°C (X*±EP**)		
	04/07	05/07	06/07	04/07	05/07	06/07
M	10±2,00 ^a	19,25±5,41 ^a	9,25±0,48 ^a	12,5±2,50 ^b	55,25±6,06 ^a	21±2,12 ^{ab}
G	2,5±1,50 ^a	3±0,71 ^a	1,5±0,29 ^a	7,5±1,50 ^a	7,5±1,26 ^a	3,5±1,32 ^a
OL	2±0,00 ^a	2±0,71 ^a	0,25±0,25 ^a	1±0,00 ^b	2±0,41 ^{ab}	4±0,41 ^a
L ₁	85,5±0,50 ^a	46,50±9,78 ^{ab}	19,5±3,07 ^b	79±4,00 ^a	38,25±4,25 ^{ab}	14,5±0,87 ^b
L ₃	1192,5±792,50 ^a	131,25±71,22 ^{ab}	3,75±2,40 ^b	815±735,00 ^a	190±133,74 ^a	15±2,04 ^b
OPG	975±75,00 ^a	437,5±198,30 ^{ab}	62,50±12,50 ^b	650±50,00 ^a	175±32,27 ^{ab}	12,5±12,50 ^b

*Médias **EP – Erro Padrão

Médias da mesma linha, seguidas por letras distintas, diferem entre si pelo do teste de Kruskal-Wallis (p<0,05).

M= mórula; G= gástrula; OL= ovo larvado.

Tabela 4: Valores médios para as diferentes fases de ovo até L₃ e OPG nas temperaturas de ±10°C e -4°C no Inverno/07.

INVERNO/2007						
Ovo à L ₃	±10°C (X*±EP**)			-4°C (X*±EP**)		
	07/07	08/07	09/07	07/07	08/07	09/07
M	28±1,00 ^a	47,25±5,22 ^a	48,5±2,18 ^a	34,5±7,50 ^a	42,75±7,00 ^a	34,75±2,75 ^a
G	8,5±1,50 ^a	16±3,56 ^a	27,25±3,04 ^a	13±0,00 ^a	10,5±1,26 ^a	10,75±1,55 ^a
OL	4,5±1,50 ^a	4,5±1,55 ^a	3,5±1,55 ^a	1,5±0,50 ^a	0,75±0,48 ^a	1±0,41 ^a
L ₁	59±1,00 ^a	33±8,76 ^a	19,5±1,94 ^a	51±8,00 ^a	46±6,23 ^a	19,75±1,44 ^a
L ₃	300±50,00 ^a	80±6,45 ^{ab}	47,5±7,21 ^b	117,50±17,50 ^a	76,25±16,50 ^a	63,75±14,05 ^a
OPG	1500±200,00 ^a	1050±35,35 ^a	825±112,73 ^a	650±50,00 ^a	100±35,35 ^a	75±25,00 ^a

*Médias **EP – Erro Padrão

Médias da mesma linha, seguidas por letras distintas, diferem entre si pelo do teste de Kruskal-Wallis (p<0,05).

M= mórula; G= gástrula; OL= ovo larvado.

Este experimento (III), com análise de 15 em 15 dias, seguiu-se basicamente o experimento II, com destaque para redução de L₁ e L₃ na primavera, no verão. Notou-se diferenças entre os experimentos II e III devido a estes terem sido realizados em anos diferentes, o que leva a varias alterações, epidemiologicamente, uma vez que não há repetição de fatos biológicos,

Nas figuras de 1 a 6 estão representados graficamente a comparação das médias percentuais para os ovos nas diferentes fases de desenvolvimento até L₁, para as L₃ e OPG entre as estações de Primavera/2006 a Inverno/2007, nas temperaturas de armazenamento: refrigeração (±10°C) e congelamento (-4°C).

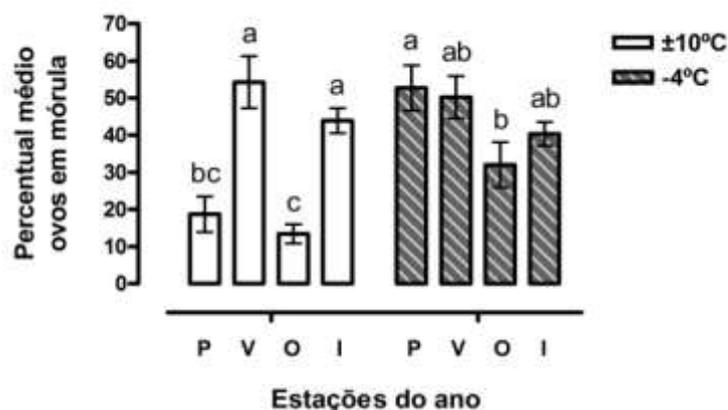


Figura 1. Comparação entre as médias estacionais (Outubro/06 a Setembro/07) para o percentual de ovos em mórula e o tempo de armazenamento das fezes, em amostras processadas quinzenalmente, mantidas em baixas temperaturas: refrigeração ($\pm 10^{\circ}\text{C}$) e congelação (-4°C).

P= primavera; V= verão; O= outono; I= inverno.

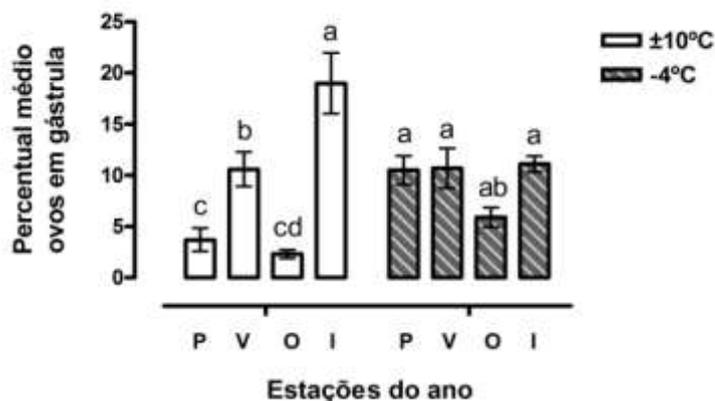


Figura 2. Comparação entre as médias estacionais (Outubro/06 a Setembro/07) para o percentual de ovos em gástrula e o tempo de armazenamento das fezes, em amostras processadas quinzenalmente, mantidas em baixas temperaturas: refrigeração ($\pm 10^{\circ}\text{C}$) e congelação (-4°C).

P= primavera; V= verão; O= outono; I= inverno.

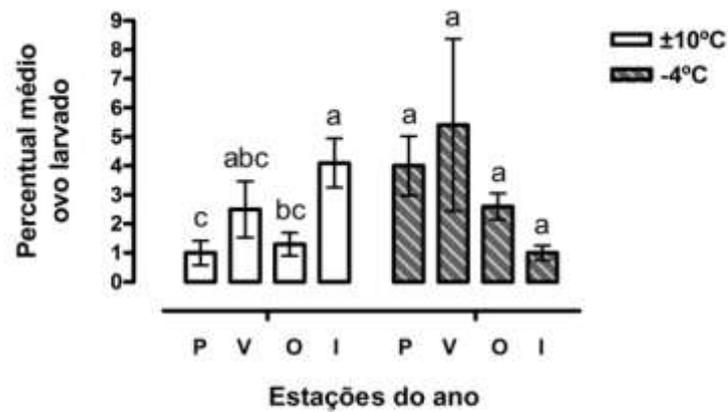


Figura 3. Comparação entre as médias estacionais (Outubro/06 a Setembro/07) para o percentual de ovo larvado e o tempo de armazenamento das fezes, em amostras processadas quinzenalmente, mantidas em baixas temperaturas: refrigeração ($\pm 10^{\circ}\text{C}$) e congelação (-4°C).

P= primavera; V= verão; O= outono; I= inverno.



Figura 4. Comparação entre as médias estacionais (Outubro/06 a Setembro/07) para o percentual de larvas de primeiro estágio (L_1) e o tempo de armazenamento das fezes, em amostras processadas quinzenalmente, mantidas em baixas temperaturas: refrigeração ($\pm 10^{\circ}\text{C}$) e congelação (-4°C).

P= primavera; V= verão; O= outono; I= inverno.



Figura 5. Comparação entre as médias estacionais (Outubro/06 a Setembro/07) para o número de larvas de terceiro estágio (L_3) e o tempo de armazenamento das fezes, em amostras processadas quinzenalmente, mantidas em baixas temperaturas: refrigeração ($\pm 10^\circ\text{C}$) e congelação (-4°C).

P= primavera; V= verão; O= outono; I= inverno.



Figura 6. Comparação entre as médias estacionais (Outubro/06 a Setembro/07) para o número de ovos por grama de fezes (OPG) e o tempo de armazenamento das fezes, em amostras processadas quinzenalmente, mantidas em baixas temperaturas: refrigeração ($\pm 10^\circ\text{C}$) e congelação (-4°C).

P= primavera; V= verão; O= outono; I= inverno.

Nas figuras de 1 a 6, a $\pm 10^\circ\text{C}$, observou-se maior percentual de mórula (Fig. 1) e gástrula (Fig. 2) e ovo larvado (Fig. 3) nas estações do verão e inverno e a -4°C na primavera e verão; estágio de L_1 (Fig. 4) na primavera e outono e a -4°C outono e inverno; estágio de L_3 (Fig. 5) no verão e outono e OPG (Fig. 6) no outono e inverno e a -4°C primavera e verão. Ocorreu variação no desenvolvimento dos ovos em mórula entre as médias das estações da primavera e outono e para gástrula e ovos larvados ($p < 0,05$). Não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre as médias das estações para os estágios de L_1 , L_3 e OPG e -4°C para ovos larvados (Fig. 3) e estágio de L_1 (Fig. 4) ($p > 0,05$).

Durante este estudo, avaliou-se o efeito de duas diferentes temperaturas (-4°C e $\pm 10^{\circ}\text{C}$) sobre os ovos de nematóides ciatostomíneos (Nematoda-cyathostominae) durante as estações do ano e ficou demonstrada diferença significativa para o desenvolvimento dos ovos até os estágios larvais de L_1 e L_3 ; e para o OPG entre as diferentes temperaturas e estações do ano. A faixa de temperatura mínima para eclodibilidade das L_1 dos nematóides estrongilídeos está entre $7,5-10^{\circ}\text{C}$ (OGBOURNE, 1972) e através deste trabalho constatamos que ovos dos pequenos estrôngilos sobreviveram, sob condições laboratoriais, a -4°C . O efeito da congelamento e refrigeração sobre os ovos, a eclodibilidade das L_1 , o desenvolvimento até L_3 associados ao tempo de estoque, são fatores que contribuem para o melhor conhecimento da biologia dos nematóides ciatostomíneos, o que também foi relatado por Nielsen et al, (2007) que a temperatura inferior a 4°C prejudica os ovos e reduz o número de L_3 . No presente estudo, observou-se desenvolvimento dos ovos até L_1 em amostras fecais coletadas no Outono e Inverno, mantidas por 180 dias, na temperatura de -4°C e $\pm 10^{\circ}\text{C}$, discordando do trabalho de Nielsen et al. (2007). Os ovos mantidos em baixas temperaturas e depois mantidos a $\pm 25^{\circ}\text{C}$, podem utilizar esta alteração como estímulo para o rápido desenvolvimento, o que foi observado por Salih (1981). Ovos não-embrionados aparentemente resistem melhor à geada do que ovos embrionados, já as larvas de L_1 e L_2 são muito susceptíveis ao frio (Lucker, 1941), o que também foi constatado por Ober-Blöbaum (1932) onde as L_3 não foram afetadas pela congelamento de 30 minutos a 72 horas, porém, com redução da sobrevivência se mantidas por 5 a 8 meses sob congelamento constante.

No verão o desenvolvimento até L_3 foi mais rápido, porém a mortalidade foi maior, o que já foi constatado em trabalhos a campo por Bezerra et al. (2007) que recuperou mais L_3 no período chuvoso na região subtropical, demonstrando a influência da temperatura e da chuva sobre o desenvolvimento e a transmissão das L_3 , entretanto, maior longevidade ocorreu no período seco(outono e inverno) onde as larvas permaneceram por mais tempo nas massas fecais intactas que serviram de reservatório natural dos ovos e das larvas de ciatostomíneos (HUTCHINSON, et al., 1989)

5.3.4- Experimento IV: Influência de duas diferentes temperaturas no desenvolvimento ovos em diferentes estágios, L₁ e L₃ de nematóides ciatostomíneos (Nematoda-Cyathostominae).

Nas tabelas de 1 a 4 são apresentados os resultados da análise comparativa entre os valores médios percentuais mensais de ovos nas diferentes fases de desenvolvimento até L₁, para as L₃ e OPG, nas temperaturas de armazenamento: refrigeração ($\pm 10^{\circ}\text{C}$) e congelamento (-4°C), nas estações de Primavera/2007 a Inverno/2008.

Tabela 1: Valores médios para as diferentes fases de ovo até L₃ e OPG nas temperaturas de $\pm 10^{\circ}\text{C}$ e -4°C na Primavera/2007.

PRIMAVERA/2007						
Ovo à L ₃	$\pm 10^{\circ}\text{C}$ (X* \pm EP**)			-4°C (X* \pm EP**)		
	10/07	11/07	12/07	10/07	11/07	12/07
M	6 \pm 0,71 ^{ab}	17 \pm 3,65 ^a	5,5 \pm 0,81 ^b	61,75 \pm 8,64 ^a	41,7 \pm 2,33 ^a	55,83 \pm 5,02 ^a
G	3 \pm 0,58 ^a	11,2 \pm 2,68 ^a	3,83 \pm 1,38 ^a	13,75 \pm 5,70 ^b	40,3 \pm 1,70 ^a	32,17 \pm 2,79 ^{ab}
OL	9,5 \pm 2,18 ^a	2 \pm 0,88 ^b	1,67 \pm 0,49 ^{ab}	6 \pm 1,73 ^a	1,3 \pm 0,62 ^b	0,33 \pm 0,21 ^{bc}
L ₁	81,25 \pm 3,38 ^a	13,5 \pm 5,43 ^b	3,17 \pm 1,08 ^{bc}	18 \pm 3,42 ^a	16,6 \pm 2,28 ^a	6,83 \pm 2,41 ^a
L ₃	107,25 \pm 66,27 ^a	13,4 \pm 8,98 ^{ab}	1,5 \pm 0,85 ^b	41 \pm 10,07 ^a	12,8 \pm 2,34 ^{ab}	3,17 \pm 0,65 ^b
OPG	1250 \pm 73,60 ^a	200 \pm 66,67 ^b	166,67 \pm 55,78 ^{bc}	537,5 \pm 65,75 ^a	340 \pm 60,92 ^a	325 \pm 71,59 ^a

*Médias **EP – Erro Padrão

Médias da mesma linha, seguidas por letras distintas, diferem entre si pelo do teste de Kruskal-Wallis ($p < 0,05$).
M= mórula; G= gástrula; OL= ovo larvado.

Tabela 2: Valores médios para as diferentes fases de ovo até L₃ e OPG nas temperaturas de $\pm 10^{\circ}\text{C}$ e -4°C no Verão/2008.

VERÃO/2008						
Ovo à L ₃	$\pm 10^{\circ}\text{C}$ (X* \pm EP**)			-4°C (X* \pm EP**)		
	03/08	04/08	05/08	03/08	04/08	05/08
M	10,17 \pm 0,79 ^b	42,12 \pm 5,37 ^a	22,83 \pm 2,17 ^{ab}	35,83 \pm 3,53 ^b	57,25 \pm 6,06 ^{ab}	67,83 \pm 2,53 ^a
G	6,17 \pm 1,40 ^a	12,5 \pm 3,46 ^a	7,33 \pm 2,36 ^a	17,5 \pm 2,09 ^a	20,5 \pm 2,51 ^a	17,67 \pm 2,03 ^a
OL	1,17 \pm 0,31 ^a	1,25 \pm 0,49 ^a	0,67 \pm 0,33 ^a	1,33 \pm 0,42 ^a	1,12 \pm 0,35 ^a	1,67 \pm 0,48 ^a
L ₁	81,67 \pm 1,08 ^a	24,62 \pm 6,56 ^b	10,5 \pm 1,15 ^{bc}	44,33 \pm 4,33 ^a	20,75 \pm 5,02 ^b	12,33 \pm 1,50 ^{bc}
L ₃	146,83 \pm 91,13 ^a	16,62 \pm 4,26 ^b	4,33 \pm 1,31 ^b	48,33 \pm 32,43 ^a	33,37 \pm 4,41 ^a	25 \pm 7,63 ^a
OPG	525 \pm 96,39 ^a	243,75 \pm 65,08 ^{ab}	91,67 \pm 15,36 ^b	1016,67 \pm 199,03 ^a	418,75 \pm 55,85 ^{ab}	100 \pm 18,26 ^b

*Médias **EP – Erro Padrão

Médias da mesma linha, seguidas por letras distintas, diferem entre si pelo do teste de Kruskal-Wallis ($p < 0,05$).
M= mórula; G= gástrula; OL= ovo larvado.

Tabela 3: Valores médios para as diferentes fases de ovo até L₃ e OPG nas temperaturas de ±10°C e -4°C no Outono/08.

OUTONO/2008						
Ovo à L ₃	±10°C (X*±EP**)			-4°C (X*±EP**)		
	06/08	07/08	08/08	06/08	07/08	08/08
M	28,5±4,33 ^a	6,25±0,80 ^a	1,87±0,51 ^b	27,75±3,57 ^b	51,37±3,87 ^a	46,5±4,91 ^{ab}
G	3,5±0,87 ^a	2,5±0,33 ^a	1,62±0,50 ^a	8,5±0,87 ^{ab}	12,25±2,66 ^a	4,25±1,32 ^b
OL	3±1,08 ^a	2,12±0,40 ^a	0,25±0,16 ^b	4,75±2,25 ^a	8,75±3,47 ^a	1,62±0,18 ^a
L ₁	66,25±3,50 ^a	6,37±1,81 ^{ab}	11,25±0,35 ^b	59,5±6,51 ^a	31,5±2,17 ^{ab}	15,37±3,65 ^b
L ₃	23,75±9,27 ^a	3,62±1,46 ^{ab}	1±0,42 ^b	104,5±23,41 ^a	43,12±6,87 ^a	2±0,53 ^b
OPG	162,50±55,43	37,5±15,67 ^a	53,45±18,90 ^a	200±45,64 ^a	143,75±30,53 ^{ab}	62,5±18,30 ^b

*Médias **EP – Erro Padrão

Médias da mesma linha, seguidas por letras distintas, diferem entre si pelo do teste de Kruskal-Wallis (p<0,05).

M= mórula; G= gástrula; OL= ovo larvado.

Tabela 4: Valores médios para as diferentes fases de ovo até L₃ e OPG nas temperaturas de ±10°C e -4°C no Inverno/08.

INVERNO/2008						
Ovo à L ₃	±10°C (X*±EP**)			-4°C (X*±EP**)		
	09/08	10/08	11/08	09/08	10/08	11/08
M	5,25±1,25 ^a	22,87±6,71 ^a	4,75±0,67 ^a	13,75±0,95 ^b	65,87±5,82 ^a	65,75±7,96 ^a
G	5,25±1,84 ^a	7,17±25,35 ^a	14,14±0,50 ^a	53±0,91 ^a	25,87±4,64 ^{ab}	19±8,52 ^b
OL	17,75±1,80 ^a	7,25±3,18 ^{ab}	1±0,27 ^b	5,5±0,87 ^a	2±0,65 ^b	1,75±0,49 ^{bc}
L ₁	69,25±2,25 ^a	17,37±6,33 ^{ab}	0,12±0,12 ^b	26,75±1,50 ^a	6,5±1,12 ^{ab}	1,87±0,67 ^b
L ₃	22,75±16,51 ^a	6±2,50 ^a	0,25±0,16 ^a	14,25±8,52 ^a	6,75±2,99 ^a	2,87±2,31 ^a
OPG	1475±165,20 ^a	93,75±27,45 ^{ab}	12,5±8,18 ^b	1137,50±94,37	643,75±72,23 ^a	168,75±60,46 ^b

*Médias **EP – Erro Padrão

Médias da mesma linha, seguidas por letras distintas, diferem entre si pelo do teste de Kruskal-Wallis (p<0,05).

M= mórula; G= gástrula; OL= ovo larvado.

Nas tabelas 1; 2, 3 e 4, observou-se variação no desenvolvimento dos ovos em mórula, ovo larvado, para os estágios de L₁ e L₃, para o OPG, entre os meses da estação Primavera, na massa sob ±10°C (p<0,05) e a -4°C para as fases de mórula, gástrula, ovos larvados, L₁, L₃ e OPG (p<0,05), respectivamente.

Nas figuras de 1 a 6 estão representadas as médias percentuais para os ovos nas diferentes fases de desenvolvimento até L₁, L₃ e OPG, entre as estações de Primavera/2007 a Inverno/2008, nas temperaturas $\pm 10^{\circ}\text{C}$ e -4°C .

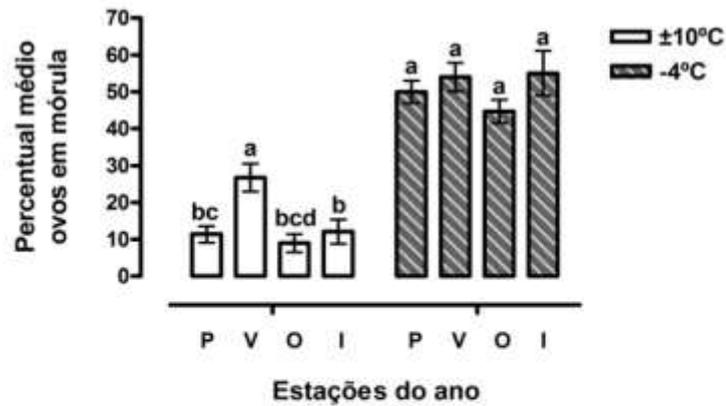


Figura 1. Comparação entre as médias estacionais (Outubro/07 a Novembro/08) para o percentual de ovos em mórula e o tempo de armazenamento das fezes, em amostras processadas semanalmente, mantidas em baixas temperaturas: refrigeração ($\pm 10^{\circ}\text{C}$) e congelamento (-4°C).

P= primavera; V= verão; O= outono; I= inverno.

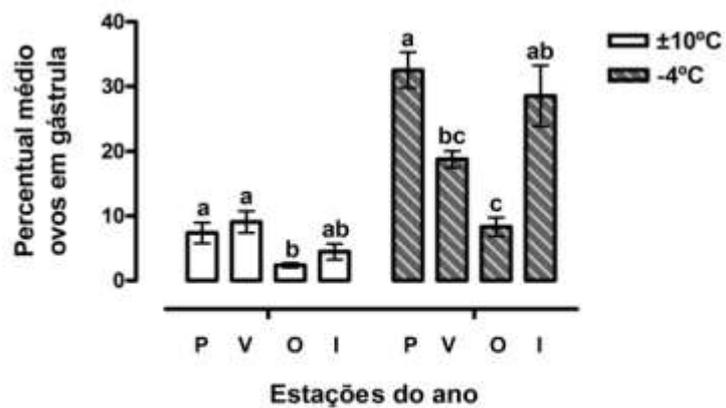


Figura 2. Comparação entre as médias estacionais (Outubro/07 a Novembro/08) para o percentual de ovos em gástrula e o tempo de armazenamento das fezes, em amostras processadas semanalmente, mantidas em baixas temperaturas: refrigeração ($\pm 10^{\circ}\text{C}$) e congelamento (-4°C).

P= primavera; V= verão; O= outono; I= inverno.

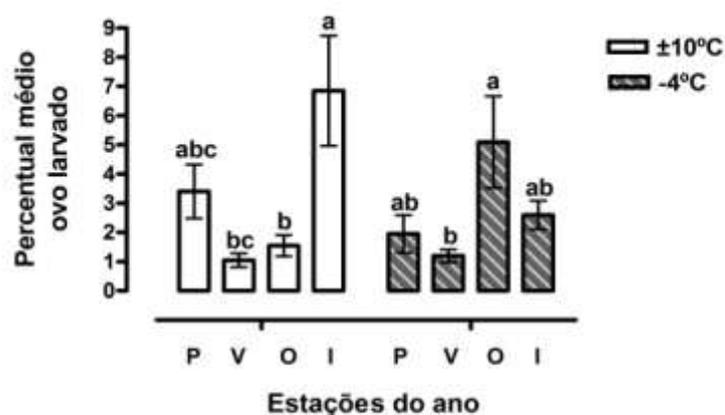


Figura 3. Comparação entre as médias estacionais (Outubro/07 a Novembro/08) para o percentual de ovo larvado e o tempo de armazenamento das fezes, em amostras processadas semanalmente, mantidas em baixas temperaturas: refrigeração ($\pm 10^{\circ}\text{C}$) e congelação (-4°C).

P= primavera; V= verão; O= outono; I= inverno.

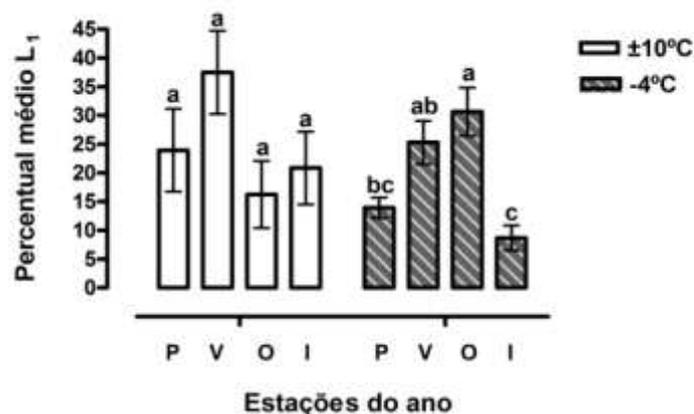


Figura 4. Comparação entre as médias estacionais (Outubro/07 a Novembro/08) para o percentual de larvas de primeiro estágio (L₁) e o tempo de armazenamento das fezes, em amostras processadas semanalmente, mantidas em baixas temperaturas: refrigeração ($\pm 10^{\circ}\text{C}$) e congelação (-4°C).

P= primavera; V= verão; O= outono; I= inverno.



Figura 5. Comparação entre as médias estacionais (Outubro/07 a Novembro/08) para o número de larvas de terceiro estágio (L_3) e o tempo de armazenamento das fezes, em amostras processadas semanalmente, mantidas em baixas temperaturas: refrigeração ($\pm 10^\circ\text{C}$) e congelação (-4°C).

P= primavera; V= verão; O= outono; I= inverno.

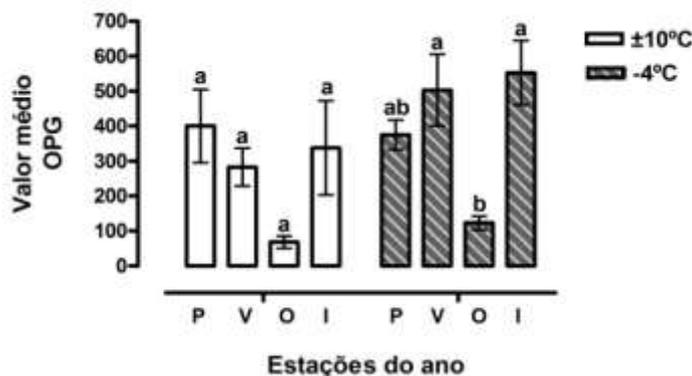


Figura 6. Comparação entre as médias estacionais (Outubro/07 a Novembro/08) para o número de ovos por grama de fezes (OPG) e o tempo de armazenamento das fezes, em amostras processadas semanalmente, mantidas em baixas temperaturas: refrigeração ($\pm 10^\circ\text{C}$) e congelação (-4°C).

P= primavera; V= verão; O= outono; I= inverno.

As fases de mórula (Fig. 1), e gástrula (Fig. 2) tiveram destaque no verão (10°C) e inverno (-4°C); gástrula na primavera; ovo larvado (Fig. 3) no inverno ($\pm 10^\circ\text{C}$) e no outono (-4°C); L_1 (Fig 4) no verão ($\pm 10^\circ\text{C}$) e no outono (-4°C); L_3 no verão ($\pm 10^\circ\text{C}$) (Fig. 5) e no outono (-4°C); OPG na primavera (Fig. 6) e no inverno (-4°C). Nas duas temperaturas ocorreu variação entre as estações ($p < 0,05$) para vários estágios de desenvolvimento (Figs. 1 a 6), assim com nos experimentos anteriores, entretanto, este foi o primeiro realizado com as amostras semanais individualizadas, mantidas em ambiente de refrigeração e de congelamento. Observou-se maior variação no desenvolvimento dos ovos armazenados em baixas temperaturas e depois mantidos a $\pm 25^\circ\text{C}$, até o estágio de L_3 , e esta alteração pode ter

sido utilizada como estímulo para o rápido desenvolvimento, concordando com observações feitas por Salih (1981). Ovos não-embrionados aparentemente resistem melhor à geada do que ovos embrionados, já as larvas de L₁ e L₂ são muito susceptíveis ao frio (Lucker, 1941), o que também foi constatado por Ober-Blöbaum (1932) onde as L₃ não foram afetadas pelo congelamento de 30 minutos a 72 horas, porém, com redução da sobrevivência se mantidas por 5 a 8 meses sob congelamento constante. No verão o desenvolvimento até L₃ foi mais rápido, porém a mortalidade foi maior, o que já foi constatado em trabalhos a campo por Bezerra et al.(2007) que recuperou mais L₃ no período chuvoso na região subtropical, demonstrando a influência da temperatura e da chuva sobre o desenvolvimento e a transmissão das L₃, entretanto, maior longevidade ocorreu no período seco (outono e inverno) onde as larvas permaneceram por mais tempo nas massas fecais intactas que serviram de reservatório natural dos ovos e das larvas de ciatostomíneos (HUTCHINSON, et al., 1989).

5.4- CONCLUSÕES

- O tempo e as temperaturas de influenciaram o armazenamento no desenvolvimento do ciatostomíneo durante as estações do ano;
- Os fatores abióticos exercem influência na biologia dos ciatostomíneos durante as diferentes estações.
- A -4°C mantém-se a fase de mórula e ocorre desenvolvimento até L_3 e a $\pm 10^{\circ}\text{C}$ mantém-se mais a fase de gástrula
- Ovos férteis e viáveis de ciatostomíneos ocorreram em todas as estações.
- O diagnóstico e análise do OPG podem ser realizados até 30 dias com as fezes mantidas a $\pm 10^{\circ}\text{C}$ e -4°C .

5.5 – ANEXOS

* Representação da Metodologia



Figura 1. Coleta de massa fecal.



Figura 2. (A) Fezes coletadas identificadas por animal; (B e C) Realização do OPG; (D) Homogeneização do material coletado.



Figura 3. (A e B) Preparo de coproculturas – Técnica de Roberts; O'Sullivan (1950).



Figura 4. Ovos recuperados (fases: mórula, gástrula, ovo larvado; estágio de L₁ e L₃). A identificação das L₃ foi realizada com base na chave Bevilaqua et al. (1993).

6 - CAPÍTULO II

EFEITO DE EXTRATOS DE PLANTAS SOBRE OVOS, L₁ E L₃ DE NEMATÓIDES CIATOSTOSTOMÍNEOS (NEMATODA- CYATHOSTOMINAE)

RESUMO

Os estudos foram realizados no Laboratório de Helmintologia da Estação para Pesquisas Parasitológicas W. O. Neitz do Departamento de Parasitologia Animal do Instituto de Veterinária da UFRRJ e eqüinos não-vermifugados foram utilizados como doadores de fezes. Neste trabalho buscou-se avaliar do efeito do extrato aquoso de duas plantas, *Solanum lycocarpum* e *Curatella americana*, sobre ovos, L₁ e L₃ de ciatostomíneos. Ovos foram recuperados (± 400) de massa fecal fresca, as L₁ (± 400) após 24h e as L₃ através da técnica de coprocultura. Os experimentos foram conduzidos no período de 2010, separadamente, a fim de avaliar o percentual de inibição do desenvolvimento dos ovos (%IDO) e do percentual de mortalidade larval (%ML) pela ação dos extratos em três diferentes concentrações (5%, 2,5% e 1%) em 24h. Os resultados demonstraram que os extratos aquosos das plantas avaliadas tiveram melhor efeito larvicida sobre as larvas de primeiro estágio (L₁) e não apresentaram efeito ovicida sobre os ovos de ciatostomíneos. Entretanto, mais estudos precisam ser realizados *in vitro* com extratos aquosos dessas duas plantas, a fim de verificar a ação anti-helmíntica com outras concentrações.

Palavras-chave: ciatostomíneos, eqüinos, extrato de plantas.

ABSTRACT

The studies were conducted at the laboratory of Helminthology Station for parasitological W. O. Neitz, Department of Animal Parasitology of the Veterinary Institute of UFRRJ and not dewormed horses were used as donors of feces. This study was carried in year 2010, and by two experiments, with aim to evaluates the effect of aqueous extract of two plants, *Solanum lycocarpum* and *Curatella americana* both from Three Marias-MG, on cyathostomin eggs, L₁ and L₃. Eggs (± 400) were recovered from fresh fecal mass, the L₁ (± 400) after 24 hours of developing eggs, and L₃ using the coproculture. The experiments were conducted during 2010, separately, to assess the percentage of inhibition of development of eggs (%IDO) and percentage of larval mortality (%LM) by the action of the extracts in three different concentrations (5%, 25% and 1%) at 24 hours. The results demonstrated that aqueous extracts of plants evaluated had better larvicidal effect on the first larvae stage (L₁) and showed no ovicidal effect on eggs cyathostomin. However, more studies must be performed *in vitro* with aqueous extracts of these two plants, in order to check the action of anthelmintic with other concentrations

Keys words: cyathostomin, equine, plants extract.

6.1 - INTRODUÇÃO

Os nematóides ciatostomíneos (Cyathostominae) são os parasitos gastrintestinais mais prevalentes nos eqüinos (CHAPMAN et al., 1999; LYONS et al., 1999; ANJOS; RODRIGUES, 2003; 2006). O controle das helmintoses em animais domésticos é comumente baseado no uso de anti-helmínticos sintéticos (CHARLES et al., 1989), porém o seu uso indiscriminado e a ausência de estratégias adequadas de controle resultaram no desenvolvimento de uma resistência por parte dos ciatostomíneos, principalmente no que se refere aos benzimidazóis (BORGSTEEDE, et al., 1997; KAPLAN, 2002; MATTHEWS et al., 2004). Contudo, essa resistência não foi desenvolvida em relação às avermectinas/milbemicinas (KAPLAN, 2002). Neste contexto, pesquisas têm sido realizadas no sentido de desenvolver produtos baseados em substâncias naturais, que tenham a capacidade de interferir nos processos biológicos dos parasitas, como reguladores de crescimento, no comportamento alimentar e na redução da pressão de resistência parasitária, e a cada dia cresce mais o interesse sobre o efeito medicinal das plantas como uma fonte alternativa de drogas anti-helmínticas (VIEIRA et al., 1999).

A fitoterapia tem se mostrado eficaz no tratamento das várias enfermidades veterinárias, como por exemplo, as causadas por nematóides gastrintestinais (FOX, 1997, GITHIA et al., 2001), sendo de fundamental importância a experimentação científica na comprovação dos efeitos que os extratos vegetais, usados popularmente, exercem como vermífugos (KRYCHAK-FURTADO, 2006). Vários estudos *in vitro* e *in vivo* têm sido conduzidos utilizando-se extratos aquosos, alcoólicos obtidos a partir das partes de plantas como folhas, frutos, raízes, para avaliar o potencial anti-helmíntico sobre ovos e larvas de parasitos gastrintestinais. Os testes *in vitro* servem como uma indicação inicial da atividade que está sendo pesquisada, permitindo selecionar os extratos vegetais que apresentem um melhor efeito anti-helmíntico, com diminuição de gastos, perda de tempo e uso indiscriminado de animais de experimentação.

Acredita-se que o tratamento feito com extrato de plantas possa causar um desenvolvimento mais lento da resistência, além de normalmente atingir somente espécies alvo, serem biodegradáveis, não poluírem o meio ambiente e diminuam o problema de resíduos ambientais (CHAGAS, 2004). Segundo BALANDRIN et al. (1985) muitas plantas acumulam substâncias orgânicas que podem ser extraídas em quantidade suficiente para serem economicamente utilizadas para as mais variadas aplicações científicas, tecnológicas e comerciais, sendo de fundamental importância o encontro de alternativas e métodos de controle da prevalência e severidade das infecções por ciatostomíneos.

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito ovicida e larvicida dos extratos aquosos das plantas *Solanum lycocarpum* e *Curatella americana*, nas concentrações de 5; 2,5 e 1%, no período de 24h.

6.2 - MATERIAL E MÉTODOS

6.2.1 - Local do experimento

Os experimentos foram conduzidos no laboratório localizado na Estação para Pesquisas Parasitológicas W. O. Neitz, Laboratório de Helmintologia, do Departamento de Parasitologia Animal do Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ).

6.2.2 - Delineamento experimental

As amostras de fezes foram obtidas diretamente do reto de equínos não vermifugados e naturalmente infectados com nematóides ciatostomíneos. Após homogeneização total das fezes foram realizados o OPG (GORDON; WHITLOCK, 1939), coprocultura (ROBERTS; O'SULLIVAN, 1950). Ovos, L₁ e L₃ foram recuperados da massa fresca para a execução dos testes com extratos aquosos das plantas: *Solanum lycocarpum* e *Curatella americana*, em três diferentes concentrações (5, 2,5 e 1%) no período de 24h (as larvas que não apresentaram motilidade após 24h foram consideradas mortas) em temperatura ambiente ($\pm 25^{\circ}\text{C}$). Para efeito da análise considerou-se os valores obtidos em 24h para obtenção de um valor médio. Como controle negativo foi utilizada a água e como positivo o fármaco Albendazole® nas concentrações de 0,03 mg/mL e 0,06 mg/mL, sendo valores escolhidos com base na referência de Maciel et al. (2006). A mortalidade observada no grupo controle foi levada em consideração para a avaliação do percentual de eficácia da planta. O percentual de inibição do desenvolvimento dos ovos (%IDO) e da mortalidade larval (%LM), foi calculado a partir das fórmulas abaixo, com base em Braga et al. (2009), a fim de verificar o percentual de eficácia obtido com os extratos aquosos:

$$\% \text{ Eficácia sobre os ovos} = \frac{\text{N}^{\circ} \text{ de ovos inibidos do grupo tratado (concentração)}}{\text{N}^{\circ} \text{ de ovos e larvas do grupo tratado (concentração)}} \times 100$$

$$\% \text{ Eficácia sobre as larvas} = \frac{\text{N}^{\circ} \text{ de larvas mortas do grupo tratado}}{\text{N}^{\circ} \text{ total de larvas do grupo tratado}} \times 100$$

6.2.3 - Recuperação de ovos, L₁ e L₃ de nematóides ciatostomíneos

Ovos foram recuperados (± 400 ovos) de fezes frescas pela técnica de Rodrigues; Honer (1985) para observação e contagem das diferentes fases de desenvolvimento até o primeiro estágio larval (L₁) após 24 horas. Através da técnica de larvacultura (ROBERTS; O'SULLIVAN, 1950) foram recuperadas as larvas de terceiro estágio (L₃), sendo identificadas com base na chave de Bevilaqua et al. (1993).

6.2.4 - Obtenção do material vegetal e identificação taxonômica.

As folhas das plantas *Solanum lycocarpum* St. Hil e *Curatella americana*

6.2.5 - Procedimentos para preparo do extrato aquoso das plantas.

As folhas secas das plantas utilizadas foram picadas e armazenadas em recipientes com tampas, envolvidos com papel laminado e identificados, conforme demonstrado na figura 1. O extrato vegetal foi obtido através de processo de infusão ($\pm 96^{\circ}\text{C}$) com 5g de folhas secas fragmentadas, do material vegetal armazenado para 100 mL de água destilada. A partir da concentração inicial de 5%, as demais concentrações de 2,5% e 1% foram obtidas por diluição com água destilada.

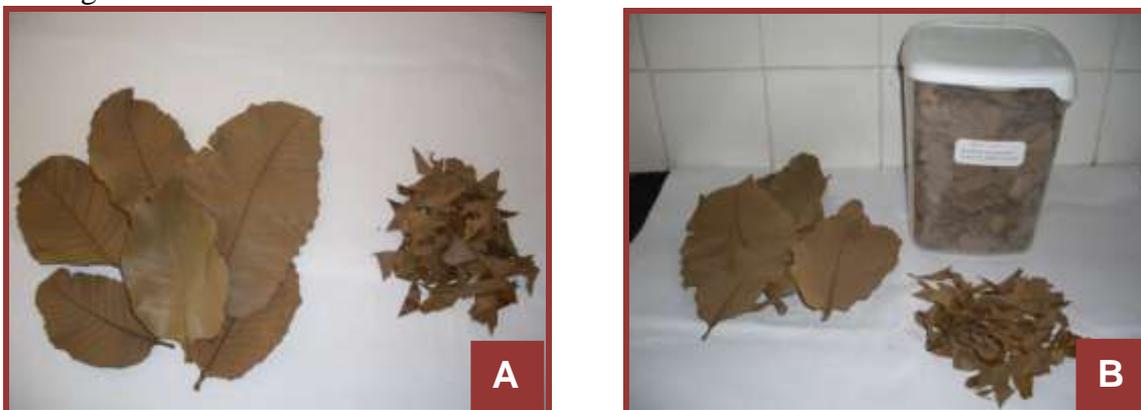


Figura 1. (A) Folhas ressecadas de *C. americana*; (B) Material armazenado em recipiente identificado e com tampa.

6.2.6 - Atividade dos diferentes extratos de plantas sobre ovos e larvas (L_1 e L_3) de ciatostomíneos

Para a execução dos testes, ovos recuperados de fezes frescas foram transferidos para bateria de tubos de ensaios (10 mL de capacidade) utilizando pipetas de escoamento rápido em volumes de 1 mL, contendo cerca de 300 ovos. O volume de 1 mL do extrato aquoso da planta foi adicionado à suspensão de ovos nas concentrações de 5%; 2,5% e 1%, ajustando-se o volume final à 2 mL. Para cada concentração foram preparadas quatro réplicas. O mesmo procedimento foi realizado para as L_1 , obtidas após 24h do desenvolvimento dos ovos recuperados, e para as L_3 , através de coprocultura após 10 dias.

O grupo controle negativo recebeu 1 mL contendo ovos, L_1 ou L_3 , respectivamente, e 1 mL de água, ajustando-se o volume final. Procedeu-se de forma semelhante para o grupo controle positivo, sendo adicionado 1 mL da solução diluída de Albendazole®, nas concentrações de 0,03 mg/mL ou 0,06 mg/mL.

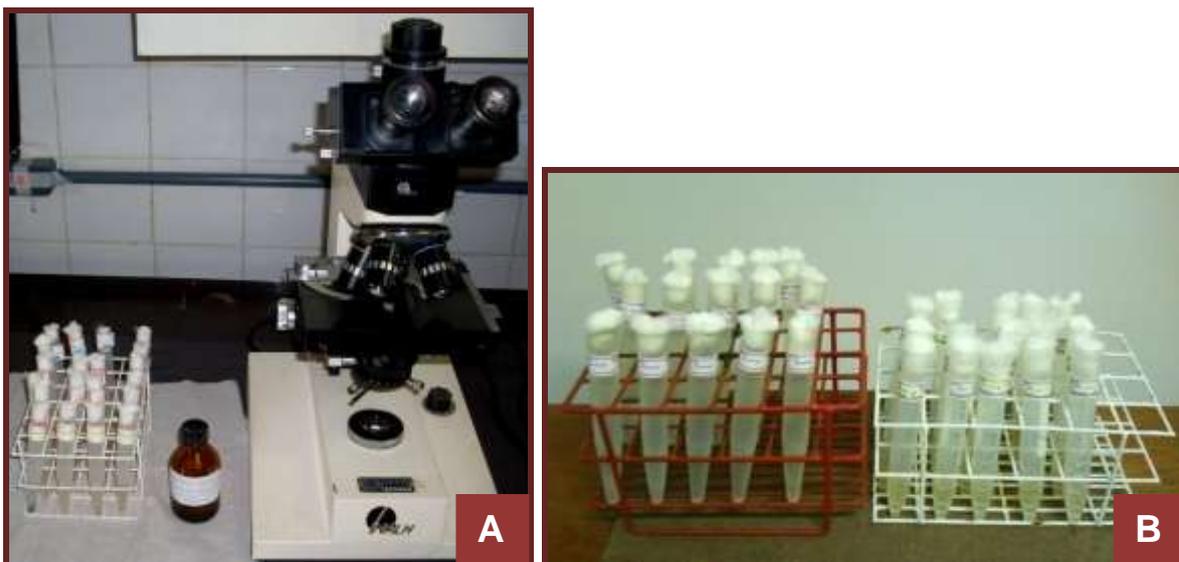


Figura 2. Ensaio com extrato aquoso: (A) Observação e quantificação com o auxílio do microscópio óptico; (B) Bateria de tubos identificados por ensaio: controle negativo, controles positivo, extrato aquoso concentrado.

Após 24h em temperatura ambiente ($\pm 25^{\circ}\text{C}$), de todos os grupos uma alíquota da solução foi extraída para observação do desenvolvimento dos ovos e mortalidade das larvas ao final de cada período. Os dados da leitura para cada grupo foi anotada em planilha Excel e os resultados analisados.

6.3- RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.3.1- Ensaios realizados com o extrato aquoso de *Solanum lycocarpum* (Lobeira – Três Marias/MG)

Nas tabelas 1, 2 e 3 estão demonstrados os resultados percentuais médios de ovos de ciatostomíneos que apresentaram inibição no desenvolvimento, e percentuais de mortalidade das L₁ e L₃ pela ação do extrato aquoso da *S. lycocarpum*, respectivamente.

Tabela 1. Comparação entre os diferentes ensaios sobre o efeito de diversos tratamentos com o extrato aquoso de *Solanum lycocarpum* em 24h, na inibição do desenvolvimento dos ovos de ciatostomíneos.

Ensaios	Eficácia (%)
Água (controle -)	32,96
Albendazole® 0,03mg/mL (controle +)	30,20
Albendazole® 0,06mg/mL (controle +)	56,74
Extrato a 5%	22,59
Extrato a 2,5%	21,14
Extrato a 1%	24,65

Observou-se que após o período de 24h, a inibição no desenvolvimento dos ovos foi de em média 23% sob ação dos extratos (Tabela 1). Este ensaio foi o primeiro realizado com os ovos de ciatostomíneos, o que justifica a ausência de artigos para discussão dos resultados.

Frente aos resultados apresentados na tabela 1, observou-se que o extrato da planta *S. lycocarpum* apresentou efeito ovicida sobre os ovos de ciatostomíneos, sendo o extrato a 1% o que apresentou o melhor percentual ($\pm 25\%$).

Tabela 2. Comparação entre os diferentes ensaios sobre o efeito de diversos tratamentos com o extrato aquoso de *Solanum lycocarpum* em 24h, na mortalidade das larvas de primeiro estágio (L₁) de ciatostomíneos.

Ensaios	Eficácia (%)
Água (controle -)	31,35
Albendazole® 0,03mg/mL (controle +)	9,76
Albendazole® 0,06mg/mL (controle +)	22,81
Extrato a 5%	68,65
Extrato a 2,5%	68,65
Extrato a 1%	68,02

Com base nos resultados expostos na tabela 2 foi observado no grupo de controle negativo um percentual de mortalidade $\pm 31\%$ das L₁, e eficácia dos extratos concentrados na mortalidade de aproximadamente 69% das larvas em 24 horas. Observou-se que o percentual de mortalidade sobre as L₁ de estrombilídeos de equinos pela ação extrato de *Chenopodium ambrosioides* L (Erva-de-Santa-Maria), nas concentrações de 5 e 2,5% foram de 26,6 e 17,5%, respectivamente (AMORIM et al. 1998); e nas mesmas concentrações do extrato da casca do caule da *Tyannanthus fasciculatus* Miers; Bignoniaceae foram de 100 e 87% de mortalidade das L₁, respectivamente (Cipó-cravo) (AMORIM, et al. 1991).

Através de testes realizados com o suco da Erva-de-santa-maria (suco) não foi observado ação anti-helmíntica significativa sobre as L₁ em 24h (AMORIM et al 1991) indicando que, provavelmente, o componente tóxico da planta não foi extraído no suco

(extrato a frio), como ocorre na infusão. Amorim et al. (1998) constataram que o suco do caule do cipó-cravo não matou as L₁ em 24h, mesmo em altas concentrações (15 mg/ml).

Souza, et al. (2008) testaram o efeito larvicida do extrato de *S. lycocarpum in vitro* sobre as L₁ de nematóides ciatostomíneos e observaram que o %LM do extrato a 5 foi de 56,18% em 24h. Na concentração a 2,5%, esse efeito foi de 83,23 % em 24h.

Tabela 3. Comparação entre os diferentes ensaios sobre o efeito de diversos tratamentos com o extrato aquoso de *Solanum lycocarpum* em 24h, na mortalidade das larvas infectantes (L₃) de ciatostomíneos.

Ensaio	Eficácia (%)
Água (controle -)	40,42
Albendazole® 0,03mg/mL (controle +)	10,20
Albendazole® 0,06mg/mL (controle +)	2,41
Extrato a 5%	26,62
Extrato a 2,5%	0,24
Extrato a 1%	25,77

Através dos dados constantes na tabela 3, observou-se que os concentrados do extrato aquoso não apresentaram eficácia sobre as L₃, em ambos os horários de leitura, se comparado com o valor percentual de morte natural das larvas no grupo controle negativo,

O reduzido efeito de mortalidade das L₃, após a ação do extrato da *Solanum lycocarpum*, pode ser atribuído a película que envolve as larvas (URQUHART et al., 1996), protegendo-as contra os compostos tóxicos da planta. Não há uma explicação aparente para o baixo percentual de mortalidade das L₃ na concentração a 2,5%.

No trabalho de Amorim et al. (1998) observou-se que as L₃ de strongilídeos de equino apresentaram percentuais de mortalidade significativos e crescentes mediante a ação do extrato da Erva-de-santa-maria (*Chenopodium ambrosioides*) nas concentrações de 5 e 2,5%, com mortalidade de 22,8 e 23,4% das larvas, respectivamente, em função do tempo de exposição ao extrato por 24h, contrastando com os resultados apresentados no presente estudo com a planta *Solanum lycocarpum*. Esse mesmo grupo de pesquisadores verificou a ação do suco dessa planta sobre as L₃ e concluíram que não houve mortalidade das larvas em 24h, admitindo que a refratariedade das L₃ frente à ação do suco seja atribuída à bainha que as envolve (URQUHART et al., 1996), funcionando com uma barreira contra a toxidez presente no suco.

Em testes realizados com o extrato aquoso obtido do caule do cipó-cravo (*Tyannanthus fasciculatus* Miers; Bignoniaceae) nas concentrações de 5 e 2,5% sobre as L₃ de strongilídeos de equinos, a mortalidade teve percentuais de 32 e 42, respectivamente, não houve diferença significativa quando comparados com o percentual de mortalidade do grupo controle (32%) (AMORIM et al., 1991) resultado válido também para o suco.

6.3.2- Ensaios realizados com a utilização do extrato aquoso da espécie *Curatella americana* (Lixeira – Três Marias/MG).

Nas tabelas 1, 2 e 3 estão demonstrados os resultados percentuais médios de ovos de ciatostomíneos que apresentaram inibição no desenvolvimento, e percentuais de mortalidade das L₁ e L₃, respectivamente, pela ação do extrato aquoso da *C. americana*.

Tabela 1. Comparação entre os diferentes ensaios sobre o efeito de diversos tratamentos com o extrato aquoso de *Curatella americana* em 24h, na inibição do desenvolvimento dos ovos de ciatostomíneos.

Ensaios	Eficácia (%)
Água (controle -)	19,60
Albendazole® 0,03mg/mL (controle +)	34,10
Albendazole® 0,06mg/mL (controle +)	59,86
Extrato a 5%	0
Extrato a 2,5%	0
Extrato a 1%	0

Na tabela 1, observou-se que o extrato aquoso da *C. americana* não apresentou efeito de inibição do desenvolvimento dos ovos nas concentrações avaliadas, sendo os valores percentuais médios inferiores ao apresentado no grupo controle negativo em 24h, concordando com os resultados apresentados em estudos anteriores, *in vitro*, realizados por Souza et al. (2007), onde foi observado a inibição do desenvolvimento dos ovos em diferentes fases de desenvolvimento (mórula, gástrula, girino, ovo larvado) recuperados de massa fecal fresca e ovos larvados, nas concentrações de 1 e 0,5% do extrato da *C. americana*.

Tabela 2. Comparação entre os diferentes ensaios sobre o efeito de diversos tratamentos com o extrato aquoso de *Curatella americana* em 24, na mortalidade larval das larvas de primeiro estágio (L₁) de ciatostomíneos.

Ensaios	Eficácia (%)
Água (controle -)	31,35
Albendazole® 0,03mg/mL (controle +)	42,14
Albendazole® 0,06mg/mL (controle +)	41,26
Extrato a 5%	67,99
Extrato a 2,5%	67,86
Extrato a 1%	68,65

Através dos resultados apresentados na tabela 2 observou-se que o extrato aquoso concentrado da *C. americana* causou a mortalidade em cerca de 68% das L₁. Em estudos *in vitro* realizados por Ribeiro et al. (2006) com o extrato aquoso dessa planta, colhida em Três Marias/MG, foi observado 48% de mortalidade média das L₁ à concentração de 5% após 24h. Através dos resultados expostos, pode-se afirmar que a *C. americana* apresentou maior eficácia na mortalidade das L₁, em comparação com a *S. lycocarpum*, e com a *Chenopodium ambrosioides* L(Erva-de-santa-maria) (AMORIM, et.al.1998) nas concentrações de 5 e 2,5%.

Tabela 3. Comparação entre os diferentes ensaios sobre o efeito de diversos tratamentos com o extrato aquoso de *Curatella americana* em 24h, na mortalidade larval das larvas de terceiro estágio ou infectante (L₃) de ciatostomíneos.

Ensaio	Eficácia (%)
Água (controle -)	10,88
Albendazole® 0,03mg/mL (controle +)	39,71
Albendazole® 0,06mg/mL (controle +)	0,36
Extrato a 5%	28,44
Extrato a 2,5%	12,04
Extrato a 1%	15,27

O extrato aquoso da *C. americana* não apresentou efeito larvicida sobre as L₃ nas concentrações testadas (tabela 3). Resultado semelhante foi observado em testes realizados com o extrato aquoso e com o suco obtido do caule do cipó-cravo (*Tyannanthus fasciculatus* Miers; Bignoniaceae), nas concentrações de 5, 2,5, 0,8, 0,4 e 0,2% sobre as L₃ de strongilídeos (AMORIM et al. 1991).

6.4 – CONCLUSÕES

- O extrato da *S. lycocarpum* tem efeito larvicida para Larvas de primeiro estágio;
- Não tem efeito ovicida;
- O extrato aquoso da planta *Curatella americana* tem efeito larvas de primeiro estágio (L₁) em 24h;
- Não tem efeito ovicida.

7.5 – ANEXOS



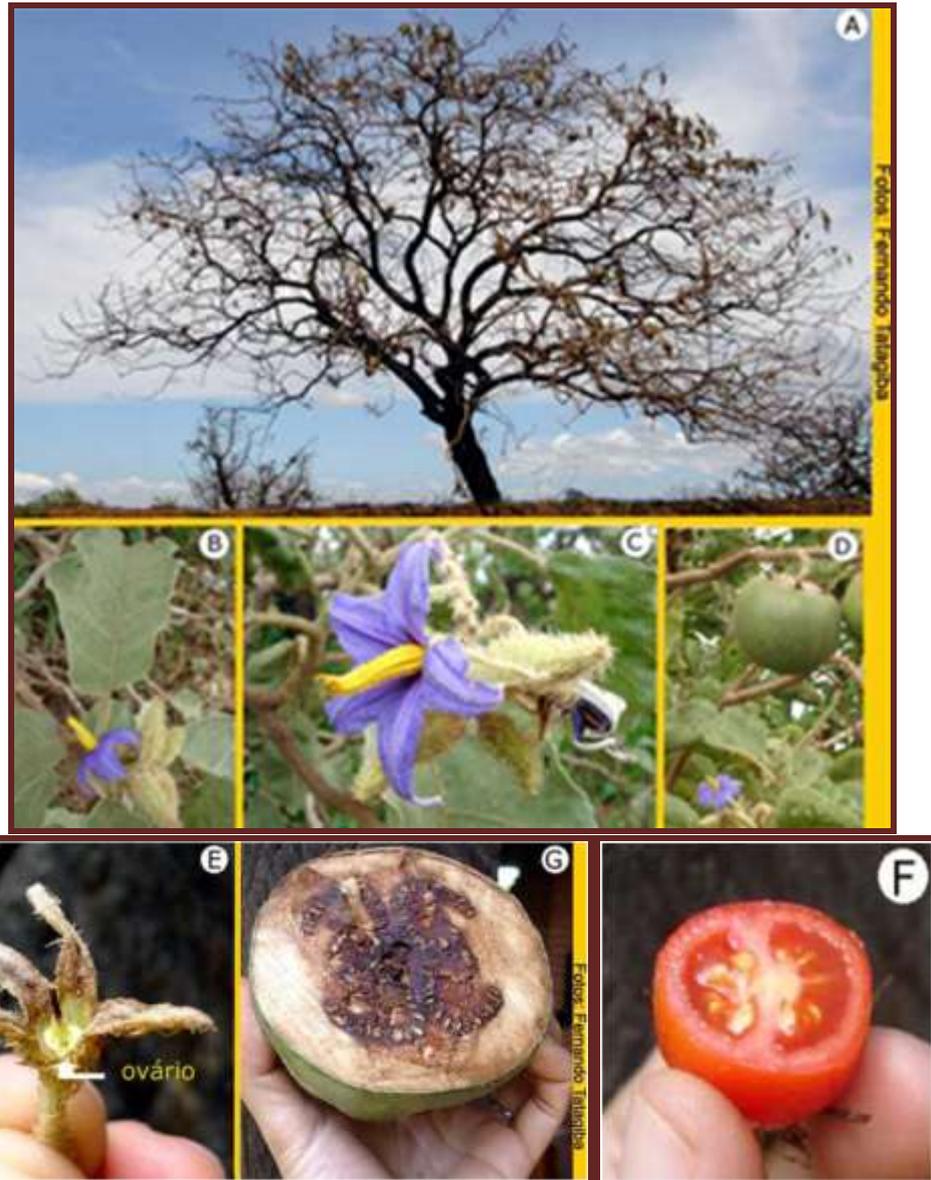
Fonte: <http://www.google.com/imgres?imgurl=http://www.arvores.brasil.nom.br/cerrd/lixei2.jpg>

Figura 1. Folhas da *Curatella americana*.



Fonte: <http://www.google.com/imgres?imgurl=http://2.bp.blogspot.com>

Figura 2. Arbusto da *Solanum lycocarpum*.



Fonte: <http://www.google.com/imgres?imgurl=http://www.biologo.com.br/plantas/cerrado/lobeira.jpg>

Figura 3. (A) Arbusto da *S. lycocarpum* de até 5 m de altura, com a copa arredondada (na foto uma copa danificada pelo fogo); (B) Folhas simples, alternas, de consistência firme, densamente recobertas por espinhos, variando de 16-28 cm de comprimento; (C) Flores; (D) Fruto; (E) Demonstração do ovário da flor.(súpero); (F) Tomate-cereja; (G) Fruto dividido (observação dos dois lóculos, semelhante ao tomate-cereja, característica típica da família Solanacea).



<http://www.google.com/imgres?imgurl=http://upload.wikimedia.org>

Figura 4. Representação da região dos Cerrados no Brasil.



Figura 5. (A) Material coletado, separado e identificado por animal doador; (B) OPG individual das fezes coletadas; (C) Homogeneização do total da massa fecal.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALEXANDRE-MOREIRA M. S.; PIUVEZAM M.R.; ARAUJO C.C.; THOMAS G. Studies on the anti-inflammatory and analgesic activity of *Curatella americana* L. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 67, n. 2, p. 171-177. November 1999.
- ALMEIDA, S.P., PROENÇA, C.E., SANO, S.M.; RIBEIRO, J.F. **Cerrado: Espécies Vegetais Úteis**. EMBRAPA, Planaltina. 1998.
- AMORIM, A.; BORBA, H.R.; SILVA, W.J. Ação anti-helmíntica de plantas. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 68, p. 64-70, 1987.
- AMORIM, A., RODRIGUES, M.L.A., BORBA, H.R. Ação anti-helmíntica de plantas. Ação do cipócravo (*Tynnanthus fasciculatus* Miers; Bignoniaceae) in vitro sobre larvas de primeiro e terceiro estágios de estrogilídeos intestinais de equino. **Revista Brasileira de Farmácia**, v.72, p.53-4, 1991a.
- AMORIM, A.; BORBA, H.R.; RODRIGUES, M.L.A.; ANJOS, D.H.S.; CORREA, D.V.A. Ação anti-helmíntica de plantas XIII. Ação de extratos aquosos de *Chenopodium ambrosioides* L. in vitro sobre larvas de primeiro e terceiro estágios de estrogilídeos de equino. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 20, n. 1, p. 14-16, 1998.
- AMORIM, A.; BORBA, H.R.; CARAUTA, J.P.P.; LOPES, D.; KAPLAN, M.A.C. *Anthelmintic activity of latex of Ficus species*. **Journal of Ethnopharmacology**, v, 64, n. 3, p. 255-258, 1999.
- ANJOS, D.H.S.; RODRIGUES, M.L.A. Structure of the community of the Strongylidae nematodes in the dorsal colon of *Equus caballus* from Rio de Janeiro state – Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 112, n. 1-2, p. 109-116, 2003.
- ANJOS, D.H.S.; RODRIGUES, M.L.A. Diversity of the infracommunities 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.
- ARAUJO, G.S.B. **Albendazol**. Faculdade de Medicina. Monografia de Farmacologia (como parte integrante da disciplina de Farmacologia Médica). Universidade de Brasília. 2005. 16 p.
- BALANDRIN, M.F.; KLOCKE, J.A.; WURTELE, E.S.; BOLLINGER, W.H. Natural plant chemicals: sources of industrial and medical materials. **Science**, v.228, p. 1154-1160, 1985.
- BAUDENA, M.A.; CHAPMAN M.R.; FRENCH, D.D.; KLEI, T.R. Seasonal development and survival of equine cyathostome larvae on pasture in south Louisiana. **Veterinary Parasitology**, v. 88, n. 1-2, p. 51 – 60, 2000a.
- BAUDENA, M.A.; CHAPMAN M.R.; LARSEN, M.; KLEI, T.R. Efficacy of the nematophagous fungus *Duddingtonia flagrans* in reducing equine cyathostome larvae on pasture in south Louisiana. **Veterinary Parasitology**, v. 89, n. 4, p. 219 – 230, 2000b.

BAR- NUM, N.; MAYER, A. M. Cucurbitacins protect cucumber tissue against infection by *Botrytis cinera*, **Phytochemistry**, v. 29, p. 787-791, 1990.

BARROSO, G. M, GUIMARÃES, E. F, ICHASO, C. L. F, COSTA, C. G, PEIXOTO, A. L. Sistemática das Angiospermas. Rio de Janeiro: Ed. USP, 1978.

BEVILAQUA, C.M.L.; RODRIGUES, M.L.A.; CONCORDET, D. Identification on infective larvae of some common strongyles of horses. **Revue de Medicine Veterinaire**, v. 44, n.12, p.989 –995, 1993.

BEZERRA, S.Q., COUTO, M.C.M., SOUZA, T.M., BEVILAQUA, C.M.L., ANJOS, D.H.S., SAMPAIO, I.B.M., RODRIGUES, M.L.A. Ciatostomíneos (Strongylidae – Cyathostominae) parasitas de cavalos: ecologia experimental dos estágios pré-parasíticos em gramínea tifton 85 (*Cynodon* spp. cv. tifton 85) na Baixada Fluminense, RJ, Brasil. **Parasitologia Latinoamericana**, v. 62, n. 1-2, 2007.

BORBA, H.R.; AMORIM, A. Avaliação da atividade de extratos aquosos de *Chenopodium ambrosioides* L. (Erva-de-Santa-Maria) em camundongos naturalmente infectados com *Syphacia obvelata* e *Aspiculuris tetráptera*. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 13, n. 4, p. 133-136. 2004.

BORGSTEEDE, F.H.M.; DVOJNOS, G. M.; KHARCHENKO, V.A. Benzimidazole resistance in cyathostomes in horses in the Ukraine. **Veterinary Parasitology**, v. 68, n. 1-2, p. 113-117, 1997.

BRAGA, F.R.; ARAÚJO, J.V.; CARVALHO, R.O. et al. Controle *in vitro* de larvas infectantes de ciatostomíneos (Nematoda: Cyathostominae) de eqüinos utilizando os fungos predadores *Duddingtonia flagrans*, *Monacrosporium thaumasium* e *Arthrobotrys robusta*. **Ciência Animal Brasileira**, v. 10, n. 3, p. 887-892. 2009.

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

CAMURÇA-VASCONCELOS, A.L.F., MORAIS, S.M., SANTOS, L.F.L., ROCHA, M.F.G., BEVILAQUA, C.M.L.. Validação de plantas medicinais com atividade anti-helmíntica. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**. Botucatu, v.7, n.3, p.97-106, 2005.

CHAVES FILHO, J.T.; STACCIARINI-SERAPHIN, E. Alteração no potencial osmótico e teor de carboidratos solúveis em plantas de lobeira (*Solanum lycocarpum* St.Hil.) em resposta ao estresse hídrico. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 24, p.199-204. 2001.

CHHABRA, R. C.; K. S. SINGH. **Indian Journal Helminthology**, v. 17, p. 125-137, 1965.

CHAGAS, A. C. S. Controle de parasitas utilizando extratos de plantas. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 13, n. 1, p. 156-160, 2004.

CHAPMAN, M. R.; KEERNEY, M. T ; KLEI, T. R. An experimental evaluation of methods used to enumeratemucosal cyathostome larvae in ponies. **Veterinary Parasitology**, v. 88, p. 191-202, 1999.

CHARLES, T. P.; POMPEU, J.; MIRANDA, D. B.; Efficacy of three broad-spectrum anthelmintics against gastrointestinal nematode infections of goats. **Veterinary Parasitology**, v. 34, p. 71-75, 1989.

CHURCH, S., KELLY, D.F.; OBWOLD, M. Diagnosis and successful treatment of diarrhoea in horses caused by immature small strongyles apparently insusceptible to anthelmintics. **Equine Veterinary Journal**. v. 18, p. 401-403. 1986.

CIORDIA, H.; BIZZELL, W.E. The effects of various constant temperatures on the development of the free living-stages of some nematode parasites of cattle. **Journal of Parasitology**, v.49, p. 60-63. 1963.

COLES, G. C.; BAUER, F. H. M.; BORGSTEEDE, S.; GREETS, S.; KLEI, M. A.; TAYLOR; WALLER, P. J. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P) methods for detection of veterinary importance. **Veterinary Parasitology**, v. 44, p. 35-44, 1992.

CORDEIRO, L. N. **Efeito *in vitro* de extratos etanólicos da raiz de jurubeba (*Solanum paniculatum* L.) e das folhas de Melão-de-São-Caetano (*Momordica charantia* L.) sobre ovos e larvas de nematóides gastrintestinais de caprinos**. 2008. 66 f. Dissertação (Mestrado em Sistemas Agrossilvipastoris no Semi-árido) – Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Universidade Federal de Campinhas Grande. PB

CORNING, S. Equine cyathostomins: a review of biology, clinical significance and therapy. **Parasites & Vectors**, v. 2 (Suppl 2): S1, p. 1-6. 2009.

COSTA, D. P. C.; CRUZ, A. P. S.; AGUIAR, L. L. F.; OLIVEIRA, J. C. S.; FERNANDES, G. L. T.; VASCONCELOS, S. D. D.; RODRIGUES, J. S.; DIRE, G. F.; BORBA, H. R. Effect of *Solanum lycocarpum* aqueous extracts in helminth parasites of conventionally maintained laboratory mice. **Research Journal of Parasitology**, v. 3, n. 1, p. 12-19. 2008.

COUTO, M. C. M.; QUINELATO, S.; SANTOS, C. N.; SOUZA, L. S.; SAMPAIO, I. M.; RODRIGUES, M. L. A. Migration and development of Cyathostome (Nematoda-Cyathostominae) larvae on Coast cross pasture in a southeast tropical region of Brazil. **Veterinárni Medicína**, v.53, p.243-249, 2008.

COUTO, M. C. M.; QUINELATO, S.; SOUZA, T. M.; BEVILAQUA, C. M. L.; ANJOS, D. H. S.; SAMPAIO, I. B. M.; RODRIGUES, M. L. A. Desenvolvimento e migração de larvas infectantes de ciatostomíneos (Nematoda-Cyathostominae) em gramínea coast-cross (*Cynodon dactylon*) em clima tropical, na Baixada Fluminense, RJ, Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 18, n. 2, p. 31-37. 2009.

CROFTON, H. D. The ecology of immature phases of the trichostrongyle nematodes I. The vertical distribution of infective larvae of *Trichostrongylus retortaeformis* in relation to their habitat. **Parasitology**, v. 39, p. 17-25, 1948a.

CRUZ, A. P. S; COSTA, D. P. C. VALENTE, G. S. C., MATTOS, D. M. M.; ALEXANDRE, D. J. A.; DIRÉ, G. F. BORBA, H. R. Anthelmintic effect of *Solanum lycocarpum* in mice infected with *Aspicularis tetraptera*. **The Journal of American Science**, v. 4, n. 3, p. 75-79, 2008.

CRUZ, G. L. **Dicionário das Plantas Úteis do Brasil**. Civilização Brasileira, Rio de Janeiro. 1979. 599 p.

CUNHA, S. L. DA C. E.; ALVES, C. C. F.; BORBA, H. R.; CARVALHO, M. G. DE; BOMFIM, T. C. B. Avaliação da atividade anti-helmíntica de extratos de *Luxemburgia octandra* St. Hill., em camundongos naturalmente infectados com *Aspiculuris tetraptera* e *Vampirolepis nana*. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 14, n. 3, p.106-108, 2005.

CUNHA, S. L. S. BORBA, H. R.; BOMFIM, T. C. B.; CARVALHO, M. G.; CAVALCANTE, H. L.; BARBOSA, C. G. Ação antihelmíntica de extratos brutos de *Andira anthelmia* (Vell.) Macbr. e *Andira fraxinifolia* Benth. em camundongos naturalmente infectados por *Vampirolepis nana* e *Aspiculuris tetraptera*. **Parasitologia Latinoamericana**, v. 58, n. 1-2, p. 23-29, 2003.

DALL'AGNOL, R.; VON-POSER, G. L. The use of complex polysaccharides in the management of metabolic diseases: the case of *Solanum lycocarpum* fruits. **Journal of Ethnopharmacology**, Limerick, v. 71, n. 1-2, p. 337-341, 2000.

DALPONTE, J.C.; LIMA, E.S.. Disponibilidade de frutos e a dieta de *Lycalopex vetulus* (Carnivora) em um cerrado do Mato Grosso, Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 22, p.325-332. 1999.

DIETZ, J. M. Ecology and social organization of the maned wolf (*Chrysocyon brachyurus*). **Smithsonian Contributions to Zoology**, v. 392, p. 1-51. 1984.

DOBSON, A.P.; CARPER, E. R. Global warning and potential changes in host-parasite and disease vector relationships. In: Global warning and biodiversity, R. Peters and T. Lovejoy (eds.). **Yale University Press**, New Haven, Connecticut, p. 201-217. 1992.

DUNCAN, J. L. *Strongylus vulgaris* infection in the horse. **Veterinary Record**, v. 95, p. 34-37, 1974.

ECHEVARRIA, F., BORBA, M. F. S., PINHEIRO, A. C. et al. The prevalence of anthelmintic resistance in nematode parasites of sheep in Southern Latin America: Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 62, p. 199-206, 1996.

EL-AZIZI, M. M., ATEVA, A.M., SVOBODA, G. H., SCHIFF JR., P. L., SLATKIN, D.J., KNAPP, J.E. Chemical constituents of *Curatela americana* (Dilleniaceae). **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.69, n.3, p.360-361, 1980.

ESTEVEZ-SOUZA, A, SILVA, T. M. S.; ALVES, C. C. F.; CARVALHO, M. G.; BRAZ-FILHO R.; ECHEVARRIA, A. Cytotoxic activities against ehrlich carcinoma and human K562 leukaemia of alkaloids and flavonoid from two *Solanum* spp. **J Braz Chem Soc.**,v.13, n.6, p. 838-42. 2002.

FELFILI, J. M.; SILVA JÚNIOR, M. C.; REZENDE, A.V.; MACHADO, B. W. T.; SILVA, P. E. N.; HAY, J. D. Análise comparativa da florística e fitossociologia da vegetação arbórea do cerrado sensu stricto na Chapada Pratinha, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 6, n. 2, p. 27-46. 1993.

FOX, M. T. Pathophysiology of infection with nematodes in domestic ruminants: recent developments. **Veterinary Parasitology**, Netherlands, v. 72, p. 285-308, 1997.

GILL, J. H.; REDWIN, J. M.; VAN WYK, J. A.; LACEY, E. Avermectin inhibition of larval development in *Haemonchus contortus*: effects of ivermectin resistance. **Int. Journal Parasitology**, v. 25, p. 463-470, 1995.

GITHIA, S. M, et al. Impact of gastrointestinal helminthes on production in goats in Kenya. **Small Ruminant Research**, Amsterdam, v. 42, p.21-29. 2001.

GORDON, H. Mcl.; WHITLOCK H. V. A new technique for counting nematode eggs in sheep faeces. **Journal of Council for Scientific and Industrial Research in Australia**, v. 12, n. 1, p. 50-52, 1939.

GROTTA, A. S. **Contribuição à sistemática de *Solanum lycocarpum* A.St.-Hill**. Tese de livre-docência, Universidade de São Paulo, São Paulo. 1964.

HERD, R. P. Equine parasite control – Additions to anthelmintic associated problems. **Equine Veterinary Education**, v. 2, p.86-91. 1990.

HORTON. J. Albendazole: a review of anthelmintic efficacy and safety in humans. **Parasitology**, v. 121, p.113-132, 2000.

JOHANSEN, M. V.; WALLER, P. J. Comparison of three in vitro techniques to estimate benzimidazole resistance in *Haemonchus contortus* of sheep. **Veterinary Parasitology**, v. 34, p. 213-221, 1989.

JOLY, A. B. Botânica: **Introdução à taxonomia vegetal**. São Paulo: Editora Nacional. 1993.

KAPLAN, R. M. Anthelmintic resistance in nematodes of horses. **Veterinary Research**, v.33, n. 5, p. 491-507, 2002.

KAPLAN, R.M. Drug resistance in nematodes of veterinary importance: a status report. **Trends in Parasitology**, v.20, n. 10, p.477–481, 2004.

KRYCHAK-FURTADO, S. **Alternativas Fitoterápicas Para o Controle da Verminose Ovína no Estado do Paraná: Testes *in vitro* e *in vivo***. Curitiba, 2006. 147f. Tese (Doutorado em Ciências) – Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, Curitiba. 2006.

LACEY, E.; REDWIN, J.; GILL, J. H.; DE MARGHERITI, V. M.; WALLER, P. J. A larval development assay for the simultaneous detection of broad spectrum anthelmintic resistance. In: BORAY, J. C.; MARTIN, P. J.; ROUSH, R. T. Resistance of parasites to antiparasitic drugs. **MSD AGVET**, Rathway, New Jersey, p. 177-184, 1990.

LANGROVA I., JANKOVSKA I., BOROVSKA M., FIALA T. Effect of climatic influences on the migrations of infective larvae of Cyathostominae. **Veterinární Medicína**, v. 48, p. 18–24. 2003.

LARSEN, M.N.; ROEPSTORFF, A.. Seasonal variation in development and survival of *Ascaris suum* and *Trichuris suis* eggs on pasture. **Parasitology**, v. 119, p. 209-220, 1999.

LORENZI, H. **Árvores Brasileiras. Manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. Nova Odessa: Plantarum, v. 2. 1998. 354p.

LUCKER, J.T. Survival and development at low temperatures of eggs and preinfective larvae of horse strongyles. **Journal of Agricultural Research**, v. 63, p. 193-218, 1941.

LYONS, E.T.; TOLLIVER, J.H.; DRUDGE, J.H. Historical perspective of cyathostomes: prevalence, treatment and control programs. **Veterinary Parasitology**, v. 85, n. 2-3, p. 97-112. 1999.

MACIEL, M.V.; MORAIS, S.M.; BEVILAQUA, C.M.L.; CAMURÇA, VASCONCELOS, A.L.F.; COSTA, C.T.C.; CASTRO, C.M.S. Ovicidal and larvicidal activity of *Melia azedarach* extracts on *Haemonchus contortus*. **Veterinary Parasitology**, v. 140, p. 98-104. 2006.

MARCONI, R. R.; BETIOL, P. S.; PARRA, A. C. SILVA, M. F.; FERREIRA, R. A. TÁVORA, J. P. **Estudo da utilização de antiparasitários em cavalos soroprodutores da fazenda São Joaquim – Instituto Butantan**. 2010. Disponível em <http://www.abraveq.com.br/artigos2010_083.html>. Acesso em 06/02/2010.

MATOS, M.E.R., FERREIRA, A.G., GUSMAN, A.B., CHACUR, F.; MARQUES, M. Sobre o balanço d'água de *Solanum lycocarpum* St. Hil., nas condições de cerrado. **Arquivos de Botânica do Estado de São Paulo**, v. 4, p. 125-135. 1968.

MATTHEWS, J.B.; HODGKINSON, J.E.; DOWDALL, S.M.J.; PROUDMAN, C.J. Recent developments in research into the Cyathostominae and *Anoplocephala perfoliata*. **Veterinary Research**, v. 35, n. 4, p. 371-381. 2004.

MELO, A.C.F.L., REIS, I.F., BEVILAQUA, C.M.L. et al. Nematódeos resistentes a anti-helmínticos em rebanhos de ovinos e caprinos do estado do Ceará, Brasil. **Ciência Rural**, v.33, n.2, p.339-44, 2003.

MFITILODZE, M.W.; HUTCHINSON, G.W. Development and survival of free-living stages of equine strongyles under laboratory conditions. **Veterinary Parasitology**, v. 23, n. 1-2, p. 121-133. 1987.

MONTEIRO, M. V. B. **Estudo Etnoveterinário de plantas medicinais com atividade anti-helmíntica**. 2010. 151 f. Tese (Doutorado em Reprodução e Sanidade Animal) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Estadual do Ceará.

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.

NIELSEN, M.K.; KAPLAN, R.M.; THAMSBORG, S.M.; MONRAD, J.; OLSEN, S.N. Climatic influences on development and survival of free-living stages of equine strongyles: Implications for worm control strategies and managing of anthelmintic resistance. **The Veterinary Journal**, v. 174, n. 1, p. 23-32. 2007.

NIELSEN, M.K.; VIDYASHANKAR, A.N.; ANDERSEN, U.V.; DELISI, K.; PILEGAARD, K.; KAPLAN, R.M. Effects of fecal collection and storage factors on strongylid egg counts in horses. **Veterinary Parasitology**, v. 167, n. 1, p. 55-61. 2010.

NNORCHIRI, E. 1950 In: SALIH, N.E. A brief review on the development of Strongylid Nematode eggs and larvae under constant and changing temperature conditions-I. Egg development. *Journal of Thermal Biology*, v. 6, p. 287-295. 1981.

OBER-Bloßbaum, W. von. Untersuchungen über die Einwirkungen physikalischer Einflüsse auf die Larven von Pferdestrongyliden. **Tierärztliche Rundschau**, v. 47, p. 812–815. 1932.

OGBOURNE, C.P. Observations on the free-living stages of strongylid nematodes of horses. **Parasitology**, v. 64, p. 461-477. 1972.

OGBOURNE, C.P. The prevalence, relative abundance and site distribution of nematodes of the subfamily Cyathostominae in horses killed in Britain. **Journal Helminthology**, v. 50, p. 203-214. 1976.

OGBOURNE, C.P.. Pathogenesis of cyathostome infection of the horse. A. review. England, **Commonwealth Agricultural Bureau**, n. 5, p. 1-25. 1978.

OGBOURNE, C.P.; DUNCAN, J.L.. *Strongylus vulgaris* in the horse: its biology and veterinary importance. **Commonwealth Institute of Parasitology** 1985. 98 p.

PACIORNIK, E.F. A planta nossa de cada dia. Curitiba: **Copygraf**, 1990. 92p.

PANDEY, V. S.; CHAER, A.; DAKKAK, A. Effect of temperature on development of the free-living stages of *Ostertagia circumcincta*. **Veterinary Parasitology**, v. 32, n. 2-3, p. 193-197. 1989.

PANDEY, V. S.; CHAER, A.; DAKKAK, A. Effect of temperature on relative humidity on survival of eggs and infective larvae of *Ostertagia circumcincta*. **Veterinary Parasitology**, v. 49, n. 2-4, p. 219-227. 1993.

PARNELL, I.W. –Notes on the survival of the eggs in the free living larvae of sclerostomes on the pasture. **Sci Agric**, v. 16, p. 391-397. 1936.

PIO CORRÊA, M. **Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas**. Rio de Janeiro: Imprensa Nacional. 1984.

QUINELATO, S.; COUTO, M. C. M.; RIBEIRO, B. C.; SANTOS, C.N.; SOUZA, L. S.; ANJOS, D. H. S.; SAMPAIO, I. B. M.; RODRIGUES, M. L. A. The ecology of horse cyathostomin infective larvae (Nematoda – Cyathostominae) in tropical southeast Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 153, n. 1-2, p. 100-107. 2008.

RAMSEY, Y. H.; CHISTLEY, R. M.; MATTHEWS, J. B.; HODGKINSON, J.E.; MCGOLDRICK, J.; LOVE, S. Seasonal development of Cyathostominae larvae on pasture in a northern temperate region of the United Kingdom. **Veterinary Parasitology**, v.119, n.4, p.307-318, 2004.

REINEMEYER, C. R. Small strongyles recent advances. Vet. Clin. North Am. **Equine Practice**, v. 2, p.281-312. 1986.

RESENDE, R. O.; PINHO, F. E. C. Espécie *Curatella americana* - "Lixeira" utilizada como Bio-indicador em região auríferas do Distrito de Cangas- Poconé - MT. Fev/2010. Disponível em <<http://www.webartigos.com/articles/32320/1/ESPECIE-CURATELLA-AMERICANA---LIXEIRA-UTILIZADA-COMO-BIO-INDICADOR-EM-REGIAO-AURIFERAS-DO-DISTRITO-DE-CANGAS--POCONE---MT/pagina1.html#ixzz1B8cxS5s9>>. Acesso em 23/01/2010.

RIBEIRO, B.C.; COUTO, M.C.M. DO.; BEZERRA, S.Q.; BORBA, H.R.; RODRIGUES, M.L.A. Efeito *in vitro* de estratos de plantas *Solanum Lycocarpum* (Lobeira UFRRJ) e *Curatella americana* (Lixeira Três Marias) sobre larvas de primeiro estágio(L₁) de Ciatostomíneos (Nematoda – Cyathostominae) de eqüinos”: Resultados preliminares. In. **XIV Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária e II Simpósio latino-americano de Rickettsioses**. 2006.

RIZZINI, C. T. **A flora do cerrado**. In Simpósio sobre o cerrado. (M.G. Ferri, ed.). Edgard Blücher, São Paulo, p.75-96. 1971.

ROBERTS, H. S.; O’SULLIVAN, P. S. Methods for egg counts and larval cultures for Strongyles infesting the gastrointestinal tract of cattle. **Australian Journal of Agriculture Research**, v. 1, n. 1, p. 99-102, 1950.

RODRIGUES, M. L. A.; HONER, M. R.. The collection and identification of first stage larvae of bovine gastrointestinal nematodes: modification of the Whitlock technique (1959). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 5, n. 1, p.1-3. 1985.

RODRIGUES, M. L. A.; BITTENCOURT, V. R. E. P.; ANJOS, D. H. S.; CASTRO, A. A. Efeito do fungo *Metarhizium anisopliae* sobre estágios pré-parasíticos de Cyathostominae (Nematoda: Strongylidae). **Ciência Rural**, v. 26, n. 2, p. 301-303. 1996.

RODRIGUES, M. L. A.; QUINELATO, S.; COUTO, M. C. M.; SANTOS, C. N.; SOUZA, L. S.; SAMPAIO, I. M. Influência das condições climáticas na migração e sobrevivência de larvas infestantes de ciatostomíneos em *Brachiaria humidicola*, na baixada fluminense do Rio de Janeiro, Brasil. **Ciência Animal**, v.18, n.1, p.7-14. 2008.

SALIH, N.E.. A brief review on the development of Strongylid Nematode eggs and larvae under constant and changing temperature conditions-I. Egg development. **Journal of Thermal Biology**, v. 6, p. 287-295. 1981.

SANTOS, C. P.; PADILHA, T.; RODRIGUES, M. L. A. Predatory activity of *Arthrobotrys oligospora* and *Duddingtonia flagrans* on pre-parasitic larval stages of Cyathostominae under different constant temperatures. **Ciência Rural**, v. 31, n. 5, p. 839-842, 2001.

SANTOS, C. N.; SOUZA, L. S.; QUINELATO, S. B.; COUTO, M. C. M.; PINHEIRO, J.; RODRIGUES, M.L.A. Seasonal dynamics of cyathostomin (Nematoda-Cyathostominae) infective larvae in *Brachiaria humidicola* grass in tropical southeast, BRAZIL. **Veterinary Parasitology**, v. 180, n. 3-4, p. 274-278, 2011.

SAUNDERS, L. M.; TOMPKINS, D. M.; HUDSON, P. J. Stochasticity accelerates nematode egg development. **Journal of Parasitology**, v. 88, p. 1271-1272. 2002.

SILVA, T. M. S., CARVALHO, M. G.; BRAZ-FILHO R, AGRA, M. F. Ocorrência de flavonas, flavonóis e seus glicosídeos em espécies do gênero *Solanum* (Solanaceae). **Química Nova**, v. 26, p. 517-22. 2003.

SILVA, S. P. **Frutas do Brasil**. Empresa de Artes, São Paulo. 1996.

SILVERMAN, P. H; CAMPBELL, J. A. Studies on parasitic worms of sheep in Scotland 1. Embryonic and larval development of *Haemonchus contortus* at constant conditions. 1959. **Parasitology**, v. 49, p. 23-38, 1959.

SOUZA, L. S.; SANTOS, C. N.; ESPER, F.; BORBA, H. R.; RODRIGUES, M. L. A. Avaliação do efeito do extrato da planta Lixeirinha (*Curatella americana*) sobre ovos e larvas (L₁) de nematóides ciatostomíneos (Nematoda-Cyathostominae), In: **XVII Jornada de Iniciação Científica da UFRRJ**, 2007.

SOUZA, L. S.; SANTOS, C. N.; BORBA, H. R.; RODRIGUES, M. L. A. Efeito ovicida e larvicida de extratos das plantas Lobeira Três Marias (*Solanum lycocarpum*) e Lixeirinha (*Curatella americana* L) sobre ovos, L₁ e L₃ de ciatostomíneos (Nematoda-Strongylidae). In: **XVIII Jornada de Iniciação Científica da UFRRJ**, 2008.

STROMBERG B. E. Enviromental factors influencing transmission, **Veterinary Parasitology**, v. 72, p. 247-264. 1997.

TOLEDO, C. E. M.; BRITTA, E. A.; CEOLE, L. F.; et al. Antimicrobial and cytotoxic activities of medicinal plants of the Brazilian cerrado, using Brazilian cachaça as extractor liquid, **Journal of Ethnopharmacology**, v. 133, n. 2, p. 420-425, 2011.

URQUHART, G. M; ARMOUR, J; DUNCAN, J. L.; DUNN, A. M; JENNINGS, F. W. **Helmintologia**. 2ª edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996. 273 p. 40-41.

VAN WYK, J.A.; VAN WYK, L. Freezing of sheep faeces invalidates *Haemonchus contortus* faecal egg counts by the McMaster technique. **Onderstepoort Journal of Veterinary Research**, v. 69, p. 299-304. 2002.

VIDAL, M. C., STACCIARINI-SERAPHIN, E.; CÂMARA, H. H. L. L.. Crescimento de plântulas de *Solanum lycocarpum* St. Hil. (Lobeira) em casa de vegetação. **Acta Botânica Brasilica**. v. 13, p.271-274. 1999.

VIEIRA, L. S.; CAVALCANTE, A. C. R.; PEREIRA, M. F.; DANTAS, L. B.; XIMENES, L. J. F. Evaluation of anthelmintic efficacy of plants available in Ceará State, North-east Brazil, for the control of goat gastrointestinal nematodes. **Revue de Médecine Vétérinaire**. v. 150, p. 447-452, 1999.

YOUNG, R.R.; ANDERSON, N.; OVEREND, D.; TWEEDIE, R.L.; MALAFANT, K.W.J.; PRESTON, G.A.N.. The effect of temperature on times to hatching of eggs of the nematode *Ostertagia circumcincta*. **Parasitology**, v. 81, p. 477-491. 1980.

ZAR, J.H. **Biostatistical analysis**, 4. ed., New Jersey: Prentice Hall Upper saddle, 1999.

8 - PRODUÇÃO CIENTÍFICA NO PERÍODO

- **Artigos publicados**

1. PELCHEBISKI, S.; LAVINA, M.S.; SCOTT, F.B.; SANTOS, C.N.; **SOUZA, L. S.**, RODRIGUES, M.L.A. **Diagnóstico parasitológico de Helminhos Gastrointestinais de cães e avaliação de técnicas.** Revista Ciência Animal/UECE, v. 20, n.1, p. 51-55. 2010.

Ciência Animal 20(1):51-55, 2010

DIAGNÓSTICO PARASITOLÓGICO DE HELMINTOS GASTROINTESTINAIS DE CÃES E AVALIAÇÃO DE TÉCNICAS

(Parasitological diagnosis of gastrointestinal helminths of dogs and techniques evaluation)

Simoni PELCHEBISKI¹; Márcia. S. LAVINA¹; Fábio. B. SCOTT²; Claudia. N. SANTOS³; Luciene S. SOUZA³; Maria de Lurdes A. RODRIGUES⁴

¹Pós-Grad em Ciências Veterinárias – EDESC – Univ. Est. de Santa Catarina; ²Dep. Parasitol. Animal, Lab. de Quimioterapia Exp Parasit. Animal, UFRRJ; ³Pós-Grad.Ciências Veterinárias, Dep. de Parasitol. Animal, UFRRJ; ⁴Dep. de Parasitol. Animal, CPGCV, Lab. Helmintol., Inst. de Vet., UFRRJ

- 1- SANTOS, C.N, **SOUZA, L. S.**, QUINELATO, S.B.; COUTO, M.C.M.; PINHEIRO, J.; RODRIGUES, M.L.A. Seasonal dynamics of cyathostomin (Nematoda - Cyathostominae) infective larvae in *Brachiaria humidicola* grass in tropical southeast, BRAZIL. **Veterinary Parasitology**, v. 180, n. 3-4, p. 274-278, 2011.

Veterinary Parasitology 180 (2011) 274-278



Seasonal dynamics of cyathostomin (Nematoda – Cyathostominae) infective larvae in *Brachiaria humidicola* grass in tropical southeast Brazil

Claudia N. dos Santos^{a,*}, Luciene S. de Souza^a, Simone B. Quinelato^a, Melissa C.M. do Couto^a, Jairo Pinheiro^b, M. Lurdes de A. Rodrigues^{c,**}

^a UFRRJ, Postgraduate Program in Veterinary Sciences, Animal Parasitology Department, BR 465, Km 7, 23890-000 Seropédica, RJ, Brazil

^b UFRRJ IB, Physiological Sciences Department, CPGCV, BR 465, Km 7, 23890-000 Seropédica, RJ, Brazil

^c UFRRJ, IV, Animal Parasitology Department, CPGCV, BR 465, Km 7, 23890-000 Seropédica, RJ, Brazil

- **Artigos aceitos para publicação**

1. **SOUZA, L. S.**; SANTOS, C.N.; BEZERRA, S. Q.; RIBEIRO, B. S.; JORDÃO, A. R.; PINHEIRO, J.; RODRIGUES, M.L.A. Desenvolvimento de ovos de ciatostomíneos (Nematoda-Cyathostominae) em diferentes temperaturas. In: Revista Ciência Animal.



UNIVERSIDADE ESTADUAL DO CEARÁ
FACULDADE DE VETERINÁRIA
Av. Paranjana, 1700 – Campus do Itaperi
CEP: 60740-000 Fortaleza-Ceará
Fone: (0xx85) 31019850 Fax: (0xx85) 31019855

COMUNICAÇÃO DE ACEITE

O corpo editorial da **Revista Ciência Animal (ISSN 0104-3773)** comunica que o artigo intitulado: “**DESENVOLVIMENTO DE OVOS DE CIATOSTOMÍNEOS (Nematoda-Cyathostominae) EM DIFERENTES TEMPERATURAS**”, tendo como autores: Luciene Soares de Souza; Cláudia Navarro dos Santos; Simone Quinelato Bezerra; Bruno dos Santos Ribeiro; Alisson Rodrigues Jordão; Jairo Pinheiro da Silva e Maria de Lurdes de Azevedo Rodrigues foi aceito para publicação em 2010.

Atenciosamente,

Fortaleza, 20 de Outubro de 2011.

Professora Janaina Serra Azul Monteiro Evangelista
Editora Chefe

2. SANTOS, C.N; **SOUZA, L.S**; VIEIRA, V.S.; PINHEIRO, J.; RODRIGUES, M. L. A. Disponibilidade de larvas de ciatostomíneos em gramínea *Brachiaria humidicola* nas estações chuvosa e seca em região tropical do Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**. 2012.

- **Resumos publicados no IV e V Fórum de Pós-Graduação – UFRRJ e em Congressos.**

1. **SOUZA, L.S**; RODRIGUES, M.L.A; BORBA, H.R. Avaliação do desenvolvimento de ovos em diferentes temperaturas e efeito de extratos de plantas sobre ovos, L₁ e L₃ de nematóides ciatostomíneos (Nematoda-Cyathostominae). Anais do IV Fórum de Pós-Graduação, CD-ROM, 2009.
2. SANTOS, C.N.; **SOUZA, L.S.**; QUINELATO, S.B.; COUTO, M.C.M; RODRIGUES, M.L.A. Ciatostomíneos (Nematoda – Cyathostominae): Efeito da influência climática no comportamento de larvas infectantes em gramínea *Brachiaria*

humidicola, em Seropédica – Rio de Janeiro – Brasil. **Anais do XXI Congresso Brasileiro de Parasitologia e II Encontro de Parasitologia do MERCOSUL, Paraná, Foz do Iguaçu, CD-ROM, 2009.**

3. RODRIGUES, M.L.A.; SANTOS, C.N.; **SOUZA, L.S.** Cyathostome Nematodes (Nematoda-cyathostominae) of Horses: Ecology of larvae on Grass *Brachiaria humidicola* in the Seasons in Seropédica, RJ, Brazil. In: World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (WAAVP). 2009. Calgary, Canadá. Abstract volume, p.47. 2009.
4. RODRIGUES, M.L.A.; SANTOS, C.N.; **SOUZA, L.S.** Cyathostome Nematodes (Nematoda-cyathostominae) of Horses: Effect of temperature on the different stages of development of eggs and larvae of nematodes ciatostomíneos (Nematoda-cyathostominae). In: World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (WAAVP). 2009. Calgary, Canadá. Abstract volume, p.161. 2009.
5. **SOUZA, Luciene, S.**; SANTOS, Claudia, N.; SANTOS, Fabiane, F.; SILVA, Jairo, P.; RODRIGUES, M, Lurdes. Efeito do tempo de armazenamento no desenvolvimento de ovos e de larvas de ciatostomíneos em diferentes estações. Anais do 16º Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária, CD-ROM, 2010.
6. SANTOS, C. N.; **SOUZA, L. S.**; FREITAS, V. S. V.; RIBEIRO, C. C. D. U.; LUSTRINO, D.; A. F.; PINHEIRO, J.; RODRIGUES, M. L. A.. Ciatostomíneos (Nematoda-Cyathostominae): Avaliação da reserva de glicogênio em larvas infectantes com diferentes tempos de vida, Rio de Janeiro, Brasil. Anais do 16º Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária, CD-ROM, 2010.
7. SANTOS, C. N.; **SOUZA, L. S.**; PELCHEBISKI, SIMONI; LAVINA, M. S.; SCOTT, F. B.; RODRIGUES, M.L.A. Diagnóstico parasitológico de helmintos gastrintestinais de cães e avaliação de técnicas. Anais do 16º Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária, CD-ROM, 2010.
8. SANTOS, C. N; **SOUZA, L. S**; FREITAS, V. S. V, LUSTRINO, D.; A. F.; PINHEIRO, J, RODRIGUES, M.L.A. Avaliação da depleção energética em larvas infectantes de ciatostomíneos (Nematoda-Cyathostominae) de equinos, em clima tropical, RJ, Brasil. 2010. Anais do XIV Congresso Português de Parasitologia: Revista da Sociedade Portuguesa de Parasitologia, Acta Parasitológica Portuguesa, v. 17, n.2, p. 1-136. 2010.
9. **SOUZA, L. S**, RODRIGUES, M.L.A, BORBA, H.R. Ovos e larvas de ciatostomíneos (Strongylidae): Efeito da temperatura e controle alternativo com extrato vegetal. Anais do V Fórum de Pós-Graduação, CD-ROM, 2010.