

**AVALIAÇÃO DE FUNGOS DEUTEROMYCETOS SOBRE AS
FASES PRÉ-PARASÍTICAS DE CYATHOSTOMINAE
(NEMATODA –STRONGYLIDAE).**

ABISAIR ANDRADE DE CASTRO

2000

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE BIOLOGIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA
PARASITOLOGIA VETERINÁRIA

ÁVALIAÇÃO DE FUNGOS DEUTEROMYCETOS SOBRE AS FASES
PRÉ-PARASÍTICAS DE CYATHOSTOMINAE
(NEMATODA –STRONGYLIDAE).

ABISAIR ANDRADE DE CASTRO

SOB A ORIENTAÇÃO DA PROFESSORA:

Dra. Maria de Lurdes de Azevedo Rodrigues

Tese submetida como requisito
parcial para a obtenção do grau de
Magister Scientiae em Medicina
Veterinária - Parasitologia Veterinária.

SEROPÉDICA, R.J.

MARÇO, 2000

636 10896-15
57-96807 989
C3552

TÍTULO DA TESE

**AVALIAÇÃO DE FUNGOS DEUTEROMYCETOS SOBRE AS FASES
PRÉ-PARASÍTICAS DE CYATHOSTOMINAE (NEMATODA –
STRONGYLIDAE).**

AUTORA

ABISAIR ANDRADE DE CASTRO

APROVADA EM: 02 /03 /2000

MARIA DE LURDES A. RODRIGUES Maria de Lurdes Rodrigues

JACKSON VICTOR DE ARAÚJO Jackson Victor de Araújo

VÂNIA RITA E. P. BITTENCOURT Vânia Rita E. P. Bittencourt

*"O temor ao Senhor é o princípio da ciência..
A sabedoria é cousa principal:
adquire pois a sabedoria; sim, com
tudo o que possuis adquire o conhecimento.
Exalta-a, e ela te exaltará; e abraçando-a tu, ela te honrará.
Dará à tua cabeça um diadema de graça, e uma coroa de
glória te entregará."*

Pv. 1:7; 4:7-9.

*Ao meu esposo,
João Carlos,*

*aos meus pais,
Othniel e Maria Auxiliadora,*

*ao meu irmão e minha cunhada,
Asriel e Cristiane,*

Por tudo que são e representam em minha vida.

Agradecimentos:

Primeiramente, a *Deus*, por ter proporcionado os meios e por ter me dado condições de chegar até aqui.

À Prof^a Dr^a Maria de Lurdes de Azevedo Rodrigues, pela orientação no curso e neste estudo.

À Prof^a Dr^a Vânia Rita Elias Pinheiro Bittencourt, pelas várias demonstrações de carinho, amizade e ainda, pela orientação profissional.

Ao meu esposo, João Carlos; aos meus pais, Othniel e Maria Auxiliadora; ao meu irmão, Asriel e a minha cunhada Cristiane, pelo apoio incondicional, pela ajuda de sempre, por todo carinho e por muitas vezes sorrir e chorar comigo ...

As bolsistas de Iniciação Científica, Cristiane Oliveira e Cristiane Honorato; aos estagiários do Laboratório de Helminologia, Quelly Rangel e Flávio Cardoso, pela amizade demonstrada ao longo deste estudo e por toda ajuda.

Aos amigos Débora Henrique, Edson de Jesus, Gisela Lara, Cláudia Gulias e demais colegas do Curso de Pós-Graduação, por toda ajuda prestada no decorrer deste estudo.

Ao prof. Dr. Jackson Victor de Araújo, do Departamento de Veterinária da Universidade Federal de Viçosa, MG, pela doação dos nematóides de vida livre e dos isolados de fungos predadores utilizados na Tese.

Ao prof. Paulo Guilherme M. Berner do Departamento de Matemática da UFRRJ, pelo auxílio na parte estatística deste estudo.

Aos amigos Elcy Carvalho, Wilson Almeida e aos servidores técnico-administrativos da EPPWO Neitz, por toda ajuda.

A todos os professores do Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária - Parasitologia Veterinária, e ainda, a todos aqueles que contribuíram direta ou indiretamente na elaboração deste estudo.

Ao CNPq pelo auxílio financeiro.

Biografia:

ABISAIR ANDRADE DE CASTRO, filha de Othniel Rodrigues de Castro e Maria Auxiliadora da Silva Andrade de Castro, nasceu em 25 de março de 1973, na cidade do Rio de Janeiro, R.J.

Em 1990 concluiu o curso normal, a nível de 2^o grau, no Instituto de Educação Sarah Kubitschek, no Rio de Janeiro.

Ingressou no curso de Ciência Biológicas em 1993, na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, onde obteve os graus de Licenciatura e Bacharelado em Ciências Biológicas em 1997 e 1998, respectivamente.

Foi bolsista de Iniciação Científica do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), no período de 01/08/1995 a 31/12/1997, participando de trabalhos de pesquisa no Laboratório de Helminologia da Estação para Pesquisas

Parasitológicas W. O. Neitz, sob orientação da Prof^a Dr^a Maria de Lurdes de Azevedo Rodrigues, do Departamento de Parasitologia Animal, Instituto de Biologia, da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

Em março de 1998, ingressou no Curso de Pós-graduação em Medicina Veterinária – Parasitologia Veterinária, do DPA/IB-UFRRJ, a nível de Mestrado.

Índice

	Páginas
RESUMO.....	XVII
SUMMARY.....	XVIII
INTRODUÇÃO.....	19
OBJETIVOS.....	22

CAPÍTULO I

POTENCIAL DOS FUNGOS ENTOMOPATOGÊNICOS, *Metarhizium anisopliae* (METSCHIKOFF, 1879) SOROKIN, 1888 E *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin, 1912 PARA CONTROLAR OS ESTÁDIOS DE VIDA LIVRE DE NEMATÓIDES CIATOSTOMÍNEOS (NEMATODA-CYATHOSTOMINAE) DE EQÜINOS.

1. REVISÃO DE LITERATURA	23
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	25
2.1. MATERIAL	25
2.1.1. Local	25
2.1.2. Animais.....	25
2.1.3. Fungos.....	26
2.2. MÉTODOS.....	26
2.2.1. Processamento dos fungos.....	26
2.2.2. Quantificação de conídios.....	27
2.2.3. Adição de <i>M. anisopliae</i> e <i>B. bassiana</i> em coprocultura contendo ovos de Cyathostominae em condições controladas.....	27
2.2.4. Processamento de amostras de fezes e fungos.....	28
2.2.5. Depósito e marcação das amostras.....	28
2.2.6. Coleta das amostras.....	29
2.2.7. Monitoramento da temperatura.....	29
2.2.8. Cálculo do percentual de redução.....	29
2.2.9. Análise estatística.....	29
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	30

CAPÍTULO II

COMPARAÇÃO *in vitro* DA CAPACIDADE PREDATÓRIA DE *Arthrobotrys* *sp* E
Monacrosporium thaumasium SOBRE LARVAS INFECTANTES DE CYATHOSTOMINAE
(NEMATODA-CYATHOSTOMINAE).

	Páginas
1. REVISÃO DE LITERATURA	37
1.1. Histórico	37
1.2. Classificação de acordo com a ação	39
1.3. Estudos <i>in vitro</i>	40
2. MATERIAL E MÉTODOS	44
2.1. MATERIAL	44
2.1.1. Local	44
2.1.2. Animais	44
2.1.3. Fungos	45
2.2. MÉTODOS	45
2.2.1. Coleta e processamento das amostras fecais	45
2.2.2. Lavagens das larvas infectantes (L ₃)	45
2.2.3. Meio	46
2.2.4. Plaqueamento.....	46
2.2.5. Inoculação	46
2.2.6. Grupo I	47
2.2.7. Grupo II	47
2.2.8. Análise estatística	47
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	48

CAPÍTULO III

AÇÃO DE CONÍDIOS DE *Arthrobotrys sp* E *Monacrosporium thaumasium* SOBRE AS FASES PRÉ-PARASÍTICAS DE CYATOSTHOMINAE SOB DIFERENTES TEMPERATURAS.

	Páginas
1. REVISÃO DE LITERATURA	55
2. MATERIAL E MÉTODOS	58
2.1. MATERIAL	58
2.1.1. Local	58
2.1.2. Animais	58
2.1.3. Fungos	59
2.1.4. Nematóides de vida livre	59
2.2. MÉTODOS	59
2.2.1. Obtenção de conídios	59
2.2.2. Delineamento experimental	60
2.2.3. Percentual de redução e análise estatística	60
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	62
CONCLUSÕES	69
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	70
ANEXO	91

Índice de Tabelas

	Páginas
 CAPÍTULO I	
TABELA 1: NÚMERO DE REPETIÇÕES, VALORES MÉDIOS DO NÚMERO DE LARVAS RECUPERADAS (%), VALORES MÉDIOS DOS DADOS TRANSFORMADOS EM LOGARITIMOS E PERCENTUAL DE REDUÇÃO DOS FUNGOS ENTEMOPATOGÊNICOS, <i>Metarhizium anisopliae</i> E <i>Beauveria bassiana</i> SOBRE LARVAS DE CIATOSTOMÍNEOS, <i>in vitro</i> .	31.
 TABELA 2: TRATAMENTOS, REPETIÇÕES; VALORES MÉDIOS DO NÚMERO DE LARVAS DE CIATOSTOMÍNEOS RECUPERADAS E PERCENTUAL DE REDUÇÃO DOS FUNGOS <i>Metarhizium anisopliae</i> E <i>Beauveria bassiana</i> , DURANTE O PERÍODO DE SETEMBRO A DEZEMBRO DE 1999.	33

TABELA 3: VALORES MÁXIMOS, MÍNIMOS E MÉDIOS MENSAIS DE TEMPERATURA (ESTAÇÃO ITAGUAÍ), TEMPERATURA MONITORADAS NAS AMOSTRAS FECAIS A CAMPO E UMIDADE RELATIVA DO AR MENSAIS NA U.F.R.R.J., DURANTE O PERÍODO DE SETEMBRO A DEZEMBRO DE 1999.....	34
--	----

CAPÍTULO II:

TABELA 1: TRATAMENTOS, MÉDIA DO PERCENTUAL DE APREENSÃO E VARIÂNCIA DO NÚMERO DE LARVAS APREENDIDAS POR <i>Monacrosporium thaumasium</i> , <i>Arthrobotrys robusta</i> E <i>A. musiformis</i>	49
--	----

TABELA 2: TRATAMENTOS, NÚMERO DE LARVAS E PERCENTUAL DE L ₃ DE CIATOSTOMÍNEOS CAPTURADOS POR <i>Monacrosporium thaumasium</i> ; <i>Arthrobotrys robusta</i> E <i>A. musiformis</i> APOS SETE DIAS DE INTERAÇÃO <i>in vitro</i>	53
---	----

CAPÍTULO III:

TABELA 1: TRATAMENTOS, PERCENTUAIS DE REDUÇÃO DO NÚMERO DE LARVAS DE CIATOSTOMÍNEOS PELOS FUNGOS <i>Arthrobotrys robusta</i> (I-31), (I-35), <i>A. musiformis</i> E <i>M. thaumasium</i> NAS TRÊS DIFERENTES TEMPERATURAS.	63
--	----

TABELA 2: TRATAMENTOS, MÉDIA DO NÚMERO DE LARVAS INFECTANTES DE CIATOSTOMÍNEOS RECUPERADAS, MÉDIA DAS ORDENS (POSTOS) E NÚMERO DE REPETIÇÕES EM CADA TRATAMENTO: CONTROLE, *Arthrobotrys robusta* (I-31), (I-35), *A. musiformis* E *M. thaumasium* À TEMPERATURA DE 25⁰C.64

TABELA 3: TRATAMENTOS, MÉDIA DO NÚMERO DE LARVAS INFECTANTES DE CIATOSTOMÍNEOS RECUPERADAS, MÉDIA DAS ORDENS (POSTOS) E NÚMERO DE REPETIÇÕES EM CADA TRATAMENTO: CONTROLE, *Arthrobotrys robusta* (I-31), (I-35), *A. musiformis* E *M. thaumasium* À TEMPERATURA DE 28⁰C.65

TABELA 4: TRATAMENTOS, MÉDIA DO NÚMERO DE LARVAS INFECTANTES DE CIATOSTOMÍNEOS RECUPERADAS, MÉDIA DAS ORDENS (POSTOS) E NÚMERO DE REPETIÇÕES EM CADA TRATAMENTO: CONTROLE, *Arthrobotrys robusta* (I-31), (I-35), *A. musiformis* E *M. thaumasium* À TEMPERATURA DE 30⁰C.67

Índice de Figuras

	Páginas
FIGURA 1: L ₃ DE CYATHOSTOMINAE CAPTURADAS E DESTRUÍDAS PELO FUNGO	
<i>M. thaumasium</i>	50
FIGURA 2: L ₃ DE CYATOSTHOMINAE CAPTURADAS E DESTRUIDAS PELO FUNGO	
<i>A. robusta</i> (I-35).....	51

RESUMO

O presente estudo foi composto por três etapas: Na primeira foi avaliado o efeito dos fungos *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana* sobre L₃ de nematóides ciatostomíneos a campo. O percentual de redução foi de 51,53% para *M. anisopliae* e 71,32% para *B. bassiana*.

Na segunda etapa, foi avaliado a capacidade predatória *in vitro*, de *Arthrobotrys sp* e *Monacrosporium thaumasium* sobre L₃ de ciatostomíneos em placas contendo ágar-água. Após sete dias de interação, observou-se que *M. thaumasium* apreendeu 99,05% das larvas, enquanto que *A. robusta* I-31; I-35 e *A. musiformis* apreenderam 72,86%; 66,75% e 74,25%, respectivamente. Na terceira etapa avaliou-se, *in vitro*, a capacidade dos fungos nematófagos *Arthrobotrys sp* e *M. thaumasium*, para controlar o desenvolvimento de L₃, em diferentes temperaturas. *M. thaumasium* foi o mais eficiente apresentando as seguintes reduções 93,36% a 25⁰C; 41,26% a 28⁰C; e 95,59% a 30⁰C. Para os fungos *A. robusta* I-31 e I-35 a melhor redução ocorreu a temperatura de 25⁰C e para *M. thaumasium* e *A. musiformis* a 30⁰C.

Palavras Chave: *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana*, *Arthrobotrys sp*, *Monacrosporium thaumasium*, controle biológico, Cyathostominae e capacidade predatória.

SUMMARY

The present study was composed of the three stages. In the first part was evaluated the effects of fungus *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* in cyathostome L₃ nematodes in the field trial. The percentage reduction was from 51,53% to *M. anisopliae* and 71,32% to *B. bassiana*.

In the second stage was evaluated the trapping capability of *Arthrobotrys sp* and *Monacrosporium thaumasium* against cyathostome L₃ on water-agar meal plate. After seven days of interaction, *M. thaumasium* trapped 99,05% of the larvae whereas *A. robusta* I-31; I-35; *A. musiformis* trapped 72,86%; 66,75% and 74,25%, respectively.

The last stage assessed the capability of nematophagous fungus *Arthrobotrys sp* and *Monacrosporium thaumasium* to control the development of cyathostome L₃ in fecal cultures at different temperatures, *in vitro*. *M. thaumasium* showing 93,36% to 25⁰C; 41,26% to 28⁰C and 95,59% to 30⁰C. To fungus *A. robusta* I-31 and I-35 the best temperature was 25⁰C and to fungus *M. thaumasium* and *A. musiformis* was of 30⁰C.

Key words: *Metarhizium anisopliae*; *Beauveria bassiana*, *Arthrobotrys sp*, *Monacrosporium thaumasium*, biological control, Cyathostominae and trapping capability.

INTRODUÇÃO

Os eqüinos são hospedeiros de uma grande variedade de helmintos, que atingem seu completo desenvolvimento no intestino grosso, sendo os strongilídeos considerados os endoparasitas mais importantes e freqüentes (OGBOURNE & DUNCAN, 1985). Os ciatostomíneos, são responsáveis por grande parte dos problemas intestinais em eqüinos (HERD, 1990) sendo raro encontrar um equino que não esteja parasitado por pequenos strongilídeos (KOHEK Jr., 1998).

O programa de controle parasitário em eqüinos deve ser voltado à prevenção da infecção, pois os melhores resultados decorrem de tratamentos preventivos. As mais severas infecções verminóticas em eqüinos ocorrem durante o período seco do ano (inverno) porque há ingestão de larvas através da pastagem durante o período chuvoso anterior. No verão, a maioria das larvas depositadas no solo se desenvolvem tornando o pasto altamente contaminado e perigoso aos animais, principalmente aos mais jovens (KOHEK Jr., 1998; SOULSBY, 1987).

O controle das verminoses em equino são feitas geralmente por anti-helmínticos. No entanto, estes nematóides têm desenvolvido resistência aos benzimidazóis e a possibilidade de um novo composto eficiente é baixa. Sendo assim, os métodos de controle alternativo são de grande importância (BIRD & HERD, 1995; CHARLES *et al.* 1995).

A primeira citação de um fungo capturando um nematóide ocorreu no século XIX. No século XX, na década de 30, devido aos prejuízos causados pelos nematóides e pela baixa eficiência dos métodos de controle das verminoses naquela época, alguns pesquisadores iniciaram estudos com o objetivo de controlar as formas de vida livre dos nematóides com uso de fungos. Vários artigos foram publicados mostrando existir atividade de algumas espécies de fungos sobre nematóides parasitos de animais (PANDEY, 1973).

Os fungos nematófagos são microorganismos que atacam os nematóides no solo. Eles possuem a habilidade de desenvolver órgãos especializados em capturar e destruir nematóides (BARRON, 1977). Vários fungos nematófagos vem sendo isolados de fezes de equinos (ZOPF, 1888 *in* LARSEN, 1991; DUDDINGTON, 1951; JUNIPER, 1957; LARSEN *et al.* 1994). No entanto, pouca atenção vem sendo dada ao controle de larvas de ciatostomíneos, pois a maioria de trabalhos utilizando fungos predadores como controle biológico foram realizados para ruminantes (HASHMI & CONNAN, 1989; GRØNVOLD *et al.* 1987, 1988, 1989, 1993;).

Os fungos entomopatogênicos são muito utilizados no controle de insetos e carrapatos. Poucos trabalhos relatam a eficiência desse grupo de fungo contra nematóides. RODRIGUES *et al.* (1996; 1999), avaliaram o efeito, *in vitro*, do fungo *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana* sobre os estágios pré-parasíticos de Cyathostominae de

equinos e observaram uma redução média de 70% e 81% das larvas em coproculturas, respectivamente. Dessa forma torna-se interessante o controle alternativo, que futuramente numa parceria com o controle químico pode ser utilizado para reduzir a população de strongilídeos, parasitos de equinos.

OBJETIVOS

- ✓ Avaliar a ação dos fungos *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana* sobre as formas pré-parasíticas de ciatostomíneos em massa fecais a campo;
- ✓ Comparar a capacidade predatória, *in vitro* dos fungos *Arthrobotrys robusta* (I-31); *A. robusta* (I-35), *A. musiformis* (I-40) e *Monacrosporium thaumasium* (NF34a) sobre L₃ de ciatostomíneos;
- ✓ Avaliar a ação *in vitro* dos fungos predadores sobre as formas pré-parasíticas de ciatostomíneos em diferentes temperaturas.

CAPÍTULO I:

POTENCIAL DOS FUNGOS ENTOMOPATOGÊNICOS, *Metarhizium anisopliae* (MESTCHIKOFF, 1879) SOROKIN, 1888 E *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin, 1912 PARA CONTROLAR OS ESTÁDIOS DE VIDA LIVRE DE NEMATÓIDES CIATOSTOMÍNEOS (NEMATODA-CYATHOSTOMINAE) DE EQÜINOS.

1. REVISÃO DE LITERATURA

Os fungos *M. anisopliae* e *B. bassiana* são deuteromicetos pertencentes a família Moniliaceae que se caracterizam por atacar grande número de insetos. São amplamente distribuídos na natureza e podem ser facilmente encontrados no solo, onde sobrevivem por longos períodos. O gênero *Beauveria* ocorre em grande número de artrópodos; mais de 200 espécies de insetos e ácaros, incluindo carrapatos. Esses fungos atualmente possuem formulações e estão sendo usadas com sucesso. No nordeste, o isolado PL34 de *M. anisopliae* sobre pragas da cana-de-açúcar e o isolado E9 sobre ciagarrinhas-de-pastagens. O produto soviético Boverin (formulação com contém 6×10^9 conídios/g) vem

sendo empregado em combinação com produtos químicos (malathion e trichlorphon) para controle de pragas de insetos (ALVES, 1998).

GUAGLIUMI em 1970 avaliou a eficiência do fungo *M. anisopliae* contra cigarrinhas-das-raízes e obteve resultados satisfatórios. Outros trabalhos avaliando a ação de *M. anisopliae* e *B. bassiana* em carrapatos foram realizados e todos demonstraram um excelente desempenho destes fungos (MWANGI, *et al.* 1991, 1995; KAAYA *et al.* 1996; BITTENCOURT 1994; BITTENCOURT *et al.* 1994, 1996; MONTEIRO 1997).

A redução do número de larvas de *Strongyloides papillosus* pelos fungos *M. anisopliae* e *B. bassiana* em coproculturas de bovinos variou de 48 a 99% e 51 a 99%, respectivamente, (CASTRO *et al.* 1998; RODRIGUES, *et al.* 1998).

RODRIGUES *et al.* (1996) observaram o efeito do fungo *M. anisopliae* e *B. bassiana* (RODRIGUES *et al.*, 1999), respectivamente, sobre as formas pré-parasíticas de estrongilídeos de eqüinos e constataram uma redução média de 70 e 81%, das larvas em coproculturas, demonstrando o potencial destes fungos como alternativa de controle biológico.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material

2.1.1. Local

Este estudo foi desenvolvido no Laboratório de Helminologia da Estação para Pesquisas Parasitológicas W. O. Neitz, do Departamento de Parasitologia Animal do Instituto de Biologia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, Rio de Janeiro.

2.1.2 Animais

Eqüinos (*Equus caballus*) mestiços, naturalmente infectados, provenientes da Baixada Fluminense, foram utilizados como animais doadores, permanecendo em um piquete de aproximadamente seis hectares, contendo pastagem de grama batatais (*Paspalum notatum*).

2.1.3 Fungos

Foram utilizados duas espécies de fungos, *Metarhizium anisopliae*, isolado 959 *Beauveria bassiana*, isolado 986. Os dois isolados foram inicialmente obtidos de carrapatos, mantidos pelo Laboratório de Controle Microbiano de Artrópodes de Importância Veterinária do Departamento de Parasitologia Animal -IB-UFRRJ.

2.2 Métodos

2.2.1 Processamento dos fungos

Os fungos foram inoculados em meio de arroz, conforme a técnica descrita por ALVES (1998), para obter maior número de conídios, facilitando assim, sua utilização em experimentos. Para isso, utilizou-se 60g de arroz, em sacos de polipropileno. Os grãos foram espalhados em todo o fundo dos sacos adicionando-se 25 e 30ml de água destilada para aqueles inoculados com *B. bassiana* e *M. anisopliae*, respectivamente; após a retirada do ar, os sacos foram amarrados e submetidos à autoclavagem com pressão de 1 atm ou temperatura constante de 120⁰C, durante 20 min. Depois de frios, procedeu-se a inoculação com fungos, em câmara de fluxo laminar, utilizando-se para isso uma pequena alíquota do cultivo do fungo, a qual foi adicionada ao arroz esterilizado. Foram identificados com data e espécie do fungo e mantidos em câmara climatizada (BOD) com temperatura de 27⁰C $\pm$ 1 e umidade relativa (UR) de $\pm$ 80%, por um periodo de 15 dias e posteriormente estocados em refrigerador.

2.2.2 Quantificação de conídios

Um grama de arroz contendo o fungo foi homogeneizado em Becker graduado contendo 10 ml água destilada e uma gota (aproximadamente 0,1ml) de espalhante adesivo (Tween 80). Após a homogeneização, a suspensão foi tamizada e em seguida uma amostra foi retirada e quantificada em câmara de Neubauer de acordo com ALVES (1998).

Para se obter o número de conídios por grama de arroz, o resultado obtido foi multiplicado pelo valor do volume da suspensão.

A quantificação de conídios foi feita antes da adição dos fungos nas amostras fecais.

2.2.3 Adição de *M. anisopliae* e *B. bassiana* em coproculturas contendo ovos de *Cyathostominae* em condições controladas

Foram utilizadas trinta amostras de fezes divididas em três grupos, cada um, com dez repetições. Foi realizado OPG prévio de acordo com RODRIGUES *et al.* (1995) resultando em 916 ovos por grama de fezes. Em seguida, cada amostra foi homogeneizada com nove gramas de fezes, mais um grama de arroz contendo fungo, resultando na concentração 10^8 conídios/g de fezes (RODRIGUES *et al.* 1996). No grupo I, as fezes foram inoculadas com *M. anisopliae*; no grupo II, com *B. bassiana* e o grupo III, controle, as fezes receberam apenas, um grama de arroz esterilizado sem fungo. Todos os grupos foram mantidos à temperatura de $\pm 28^\circ\text{C}$ com 65% de umidade relativa em câmara climatizada por 15 dias. Após este período as larvas de cada grupo foram recuperadas, como descrito por ROBERTS & O'SULLIVAN (1950), e todas as larvas foram contadas.

2.2.4 Processamento de amostras de fezes e fungos

Foram coletadas fezes diretamente do reto de equinos doadores até se obter a quantidade necessária para os depósitos (1,5 Kg).

Três grupos com cinco repetições foram depositados a campo mensalmente no período de setembro a dezembro de 1999. Cada amostra, com 90g de fezes mais 10g de arroz contendo fungo, foi homogeneizada segundo GRØNVOLD *et al.* (1987). O grupo I foi o tratado com o fungo *M. anisopliae* a uma concentração de 10^8 conídios por grama de fezes; o grupo II, com o fungo *B. bassiana* também a uma concentração de 10^8 conídios por grama de fezes e o grupo III como controle, o qual recebeu 10g de arroz esterilizado, sem fungo. As fezes foram previamente avaliadas quanto ao OPG de acordo com RODRIGUES *et al* (1995) e coprocultura de acordo com ROBERTS & O'SULLIVAN (1950) visando a obtenção e identificação de larvas de terceiro estágio segundo (BEVILAQUA, *et al.* 1993.)

2.2.5 Depósito e marcação das amostras

As amostras fecais foram depositadas em canteiros selecionados para cada grupo. Cada amostra foi coberta por plástico, utilizando-se a metodologia de GRØNVOLD *et al.* (1988) com modificações. A distância entre as amostras foi de aproximadamente um metro e entre os canteiros de 70 cm; sendo que a cada mês foi realizado alternância do local de depósito. Para a identificação dos grupos e amostras foi realizado um esquema do campo experimental.

2.2.6 Coleta das amostras

Quinze dias após o depósito, todas as amostras fecais foram retiradas dos canteiros, levadas ao laboratório e processadas para a recuperação das larvas, utilizando-se a técnica de Baermann, como o descrito por UENO & GONÇALVES (1998). Após 24 horas, o número de larvas, recuperadas num volume total de 10 ml, foi quantificado e, os valores encontrados nos grupos tratados foram comparados com o grupo controle.

2.2.7 Monitoramento da temperatura

Três vezes por semana, duas vezes por dia, verificava-se a temperatura das amostras fecais com termômetros de solo.

Os valores diários da temperatura e umidade relativa foram fornecidos pelo Posto Agrometeorológico da Estação Experimental de Itaguaí, distante 3 Km da EPPWO Neitz.

2.2.8 Cálculo do percentual de redução

De acordo com MENDOZA DE GIVES *et al.* (1999), o percentual de redução de larvas infectantes, foi calculado da seguinte forma:

$$\% \text{ de Redução} = [\text{n}^\circ \text{ de } L_3 \text{ controle} - \text{n}^\circ \text{ de } L_3 \text{ tratadas} / \text{n}^\circ \text{ de } L_3 \text{ controle}] \times 100.$$

2.2.9 Análise estatística

Para se avaliar a significância entre os grupos do experimento *in vitro*, os dados foram transformados em logaritimos; aplicou-se o teste ANOVA e em seguida o teste de Tukey (ZAR, 1998) a nível de 5%.

Os valores obtidos para o número de L_3 recuperadas no experimento a campo, foram analisados pelos testes acima citados ($P < 0.05$), sem transformação de dados.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A ação *in vitro* dos fungos entomopatogênicos, *M. anisopliae* e *B. bassiana*, apresentou redução significativa ($P < 0,05$) no número de larvas infectantes de ciatostomíneos (Tab.1); pois *M. anisopliae* reduziu em 65,15% e *B. bassiana* em 58,15%. No entanto, RODRIGUES *et al.* (1996, 1999), em coproculturas, observaram uma redução média de 70 e 81% das larvas de ciatostomíneos pelos fungos *M. anisopliae* e *B. bassiana*, respectivamente; demonstrando neste estudo que *B. bassiana* foi mais eficiente como alternativa de controle biológico. Esta redução também foi observada no presente estudo a nível de campo, onde *B. bassiana* apresentou maior índice de redução das larvas de ciatostomíneos nos meses de setembro a novembro de 1999. No mês de dezembro não se observou diferença significativa entre os grupos tratados e o controle; o que provavelmente se justifica pela temperatura máxima de 29.9°C deste mês (Tab.3); fora dos limites de temperatura ideal para os dois fungos. Nos meses de setembro e outubro o número de larvas

TABELA 1: NÚMERO DE REPETIÇÕES; VALORES MÉDIOS DO NÚMERO DE LARVAS RECUPERADAS; VALORES MÉDIOS DOS DADOS TRANSFORMADOS EM LOGARÍTIMOS E PERCENTUAL DE REDUÇÃO DOS FUNGOS ENTOMOPATOGÊNICOS, *Metarhizium anisopliae* E *Beauveria bassiana* SOBRE LARVAS DE CIATOSTOMINEOS, *in vitro*.

TRATAMENTOS	REPETIÇÕES	MÉDIAS	MÉDIAS DADOS TRANS.	% DE REDUÇÃO
<i>M. anisopliae</i>	10	552,1	27308b	65,15
<i>B. bassiana</i>	10	663,1	28088b	58,15
Controle	10	1584,5	31924a	

Letras idênticas na mesma coluna não diferem significativamente.

recuperadas nos grupos tratados foi significativamente menor ($P < 0,05$) em relação ao grupo controle. E em novembro houve diferença significativa entre os dados obtidos de *B. bassiana* em relação aos dados obtidos de *M. anisopliae* e o grupo controle (Tab. 2).

Durante o experimento as temperaturas médias mensais e as temperaturas monitoradas nas massas fecais, oscilaram entre 22,5^oC a 24,6^oC; 20,5^oC a 32,5^oC, respectivamente (Tab.3); o que proporcionou condições propícias para o desenvolvimento das estádios de vida livre dos nematóides estrongilídeos (ENGLISH, 1979; OBGOURNE, 1972). A temperatura esteve, favorável para o fungo *B. bassiana*, pois sua faixa ideal de desenvolvimento é de 23^oC a 28^oC; o mesmo não ocorrendo para *M. anisopliae* sendo sua faixa ideal 25 a 27^oC (ALVES, 1998). Estas condições podem explicar o melhor desempenho de *B. bassiana*, a nível de campo.

Nos experimentos realizados por GRØNVOLD *et al.* (1987; 1989), houve depósito de massas fecais contendo fungos, a campo. Os resultados mostraram que a aplicação de 150g de conídios/g de fezes e 0.25g de conídios/g de fezes do fungo *A. oligospora*, reduziram em torno de 97 e 42% o número de larvas infectantes: *Cooperia oncophora* e *Ostertagia ostertagi*, respectivamente. No presente estudo, onde as massas fecais foram depositadas a campo contendo fungo, o maior percentual de redução foi observado por *B. bassiana* no mês de novembro (71,32%); contrastando com *M. anisopliae* que apresentou 51,53% no mesmo mês.

Amostras fecais de bovinos contendo 2000 conídios/g de fezes de *A. oligospora*, foram depositadas a campo nos meses de maio, junho e julho, reduzindo em 64%, 87% e 95% o número de larvas de *O. ostertagi*; e a nível de laboratório foi observado uma redução de 86 a 90% no número destas mesmas larvas (GRØNVOLD *et al.* 1988). O desempenho

TABELA 2: TRATAMENTOS, REPETIÇÕES; VALORES MÉDIOS DO NÚMERO DE LARVAS DE CIATOSTOMÍNEOS RECUPERADAS E PERCENTUAL DE REDUÇÃO DOS FUNGOS *Metarhizium anisopliae* E *Beauveria bassiana*, DURANTE O PERÍODO DE SETEMBRO A DEZEMBRO DE 1999.

Meses	Tratamentos	Repetições	Média	(%)
SETEMBRO	<i>M. anisopliae</i>	5	1014 b	45,21
	<i>B. bassiana</i>	5	798,6 b	56,85
	Controle	5	1850,8 a	0
OUTUBRO	<i>M. anisopliae</i>	5	1084 b	42,53
	<i>B. bassiana</i>	5	1079 b	42,77
	Controle	5	1886,6 a	0
NOVEMBRO	<i>M. anisopliae</i>	5	799,6 a b	51,53
	<i>B. bassiana</i>	5	473 b	71,32
	Controle	5	1649,8 a	0
DEZEMBRO	<i>M. anisopliae</i>	5	320,2 a	34,34
	<i>B. bassiana</i>	5	230,6 a	34,22
	Controle	5	350,6 a	0

Letras idênticas na mesma coluna não diferem significativamente.



TABELA 3: VALORES MÁXIMOS, MÍNIMOS E MÉDIOS MENSAIS DE TEMPERATURA (ESTAÇÃO ITAGUAÍ), TEMPERATURA MONITORADAS NAS AMOSTRAS FECAIS A CAMPO E UMIDADE RELATIVA DO AR MENSAIS NA U.F.R.R.J., DURANTE O PERÍODO DE SETEMBRO A DEZEMBRO DE 1999.

	SETEMBRO	OUTUBRO	NOVEMBRO	DEZEMBRO
Temperatura máxima	28.3	25.4	27.4	29.9
Temperatura mínima	16.9	16.9	17.7	20.8
Temperatura média °C	21,7	20,5	21,9	24,6
Temperatura média (monit.) °C	23,7	22,5	32,5	24,6
U.R. (%)	57,7	66	63,7	66

em laboratório pode variar quando comparado com experimento a campo; *in vitro*, 65,15% de redução foi observado por *M. anisopliae*, contra 51,53% a nível de campo; o que não ocorreu para *B. bassiana* pois seu melhor desempenho foi a campo com 71,32% e *in vitro* com 58,15% de redução de L₃ de ciatostomíneos.

A utilização a campo dos fungos entomopatogênicos, *M. anisopliae* e *B. bassiana*, foi avaliada em amostras fecais com ovos de ciatostomíneos, durante o período de maio a setembro de 1997. O fungo *B. bassiana* teve como maior índice de redução o valor de 78,4% em maio, quando se registrou a temperatura média de 22,2^oC e para *M. anisopliae* o percentual foi de 80,5% em julho, com a temperatura média de 22,1^oC (CASTRO, 1998). No presente estudo, embora tenha ocorrido diferença significativa entre os grupos tratados e o controle, os percentuais de redução não foram tão elevados como acima descrito; o maior percentual de redução foi de 71,32% para *B. bassiana* no mês de novembro a uma temperatura média de 21,9^oC (23,5^oC monitorada) e 51,53% para *M. anisopliae*.

De acordo com LARSEN *et al.* (1991) o maior problema no uso de fungos como agente de controle biológico é a deposição do material fúngico nas massas fecais onde as larvas se desenvolvem. A possibilidade mais prática é a adição do fungo ao alimento a ser fornecido ao animal, onde então, o fungo passaria pelo trato gastrointestinal e capturaria as larvas no bolo fecal. Porém, esta idéia não é recente: DESCAZEAUX & CAPELLE (1939) realizaram um estudo afim de verificar se os fungos *A. oligospora* e *Monacrosporium bembicoides* sobreviveriam a passagem pelo trato gastrointestinal de equinos e cobaias. Assim como este muitos outros trabalhos tem sido realizados (LARSEN *et al.* 1991; 1992; 1995a,b, 1996; PARNEL & GORDON, 1963; WALLER *et al.* 1994; GRUNER *et al.* 1985; PRYADKO & OSIPOV, 1986; GRØNVOLD *et al.* 1993; HASHMI & CONNAN, 1989;

WOLSTRUP *et al.* 1994; ARAÚJO *et al.* 1996; 1999; GOMES, 1998); baseados no fato que esta passagem ocorra naturalmente, pois vários estudos confirmaram isto, uma vez que fungos são isolados de fezes de animais domésticos (JUNIPER 1957; MANUELI *et al.* 1999; SAUMELL *et al.* 1999).

O primeiro experimento a campo foi realizado por ROUBAUD & DESCHIENS em 1941. Eles misturaram conídios dos fungos predadores *A. oligospora*, *Monacrosporium bembicoides* e *Monacrosporium ellipsosporum* e pulverizaram num pasto de 25m², o que baixou a carga parasitária de *S. papillosus* e *Bunostomum* em um caprino que pastou na área tratada, demonstrando o potencial destes fungos no controle das verminoses. No presente estudo pode-se através dos resultados comprovar o potencial dos fungos entomopatogênicos no controle de nematôides ciatostomíneos. A utilização destes fungos a nível prático, por meio de pulverizações no pasto pode ser aventado, uma vez que já vem sendo utilizado dessa forma no controle de cigarrinhas-de-pastagens, e outros artrópodos que causam prejuízo à agricultura. Mais estudos precisam ser realizados visando avaliar o efeito destes *IN VIVO*.

CAPÍTULO II:

COMPARAÇÃO *in vitro* DA CAPACIDADE PREDATÓRIA DE *Arthrobotrys* sp E *Monacrosporium thaumasium* SOBRE LARVAS INFECTANTES DE CYATHOSTOMINAE (NEMATODA-CYATHOSTOMINAE).

1. REVISÃO DE LITERATURA

1.1. Histórico

Em 1852 Fresenius descreveu a espécie de fungo predador *A. oligospora*, e em 1870 Woronin registrou que o organismo formava armadilhas com hifas em forma de laço (PRAMER, 1964). Logo depois em 1874 o fungo nematófago endoparasito *Harposporium anguillulae* foi descrito por Lohde. A função das armadilhas só foi conhecido em 1888 quando Zopf observou pela primeira vez um fungo capturando um microorganismo vivo (PANDEY, 1973); e em 1937, o micologista americano DRECHSLER publicou um extenso trabalho descrevendo 21 espécies.

A atividade dos fungos *A. oligospora*, *M. ellipsosporum*, *M. bembicoides* e *Dactylaria brochopaga* sobre larvas de vários nematóides parasitos foi descrita por pesquisadores franceses (DESCAZEUX & CAPELLE, 1939; ROUBAUD & DESCHIENS, 1939; 1941). DESCHIENS (1941) demonstrou que estes fungos são inofensivos a plantas e animais; e em um experimento a campo ROUBAUD & DESCHIENS (1941) observaram a eficiência destes para o controle das infecções larvais de *S. papillosus* e *Bunostomum* em ovinos.

PARNELL & GORDON (1963) observaram que o fungo predador *Acrostalagmus* destruía larvas de *Haemonchus contortus* em cultivos de fezes. A publicação de uma chave contendo 90 espécies de fungos incluídos na Classe Hyphomycetes foi feita por COOKE & GODOFREY em 1964; este trabalho deu grande impulso às pesquisas sobre controle biológico com fungos.

Os fungos são geralmente encontrados em matéria orgânica de solos (DUDDINGTON, 1955; GRAY, 1983; HASHMI & CONNAN, 1989), em amostras de fezes (ZOPF, 1888 in LARSEN, 1991; JUNIPER, 1957; LARSEN *et al.* 1994; SAUMELL *et al.* 1999; MANUELLI *et al.* 1999) e em solos (SHEPHERD, 1961; SCHENCK *et al.* 1976; SANTOS *et al.* 1991). De acordo com MANKAU (1980) a maioria dos fungos predadores e endoparasitas possuem ampla distribuição geográfica.

CAYROL *et al.* (1978) desenvolveram uma formulação comercial com o isolado de *A. robusta* (Royal 300®) para evitar a destruição do cogumelo comercial do nematóide *Ditylenchus myceliophalus*; e outro isolado, *Arthrobotrys superba* foi desenvolvido comercialmente como Royal 350® contra nematóides que atacavam tomates, (CAYROL & FRANKOWSKI, 1979).

NORDBRING-HERTZ (1977) afirmou que certamente os nematóides excretam pequenos peptídeos capazes de induzir a morfogênese das armadilhas em *A. oligospora*. A substância responsável pela indução de armadilhas recebeu o nome de "nemin" (PRAMER & STOLL, 1959). Esta não explica a formação espontânea de armadilhas em *Monacrosporium cionopaga* e *M. ellipsospora* (PANDEY, 1973). Segundo LYSEK & NORDBRING-HERTZ (1981) as armadilhas de *A. oligospora* não requerem apenas uma indução por peptídeos ou nematóides vivos mas também dependem de um ritmo endógeno.

Pouco se sabe a respeito dos efeitos de metabólitos de fungos que sejam tóxicos aos nematoides. Segundo ARAÚJO (1999) acredita-se que possam afetar sua mobilidade.

1.2. Classificação de acordo com a ação

A classificação dos fungos nematófagos, de acordo com a ação está dividida em categorias que variam de acordo com alguns autores; sendo classificados como: os predadores, formadores de armadilhas e os fungos endoparasitas, aqueles que atacam nematoides através da ingestão de esporos pelos nematóides, que em seguida germinam e crescem (BARRON, 1977; PANDEY, 1973). MANKAU (1980) admitiu cinco grupos de fungos: os predadores, os endoparasitas, os parasitas de ovos, os parasitas de cistos e os que produzem metabólitos tóxicos aos nematóides. Enquanto NORDBRING-HERTZ (1988) admitiu três classificações apenas: os fungos predadores, os endoparasitas e os fungos parasitas de ovos e cistos.

Os fungos predadores produzem grande quantidade de hifas; ao longo das quais são produzidas as armadilhas, estruturas especializadas com a finalidade de capturar nematóides; que podem ser aderentes ou não. Nas armadilhas aderentes, a substância adesiva pode cobrir toda hifa ou apenas as estruturas especializadas, as redes, as

ramificações e os botões. As estruturas de captura não aderente são os anéis constritores e não constritores (PADILHA & MENDOZA DE GIVES, 1996). A formação de armadilha era atribuída apenas às hifas, mas DACKMAN & NORDBRING-HERTZ (1992) provaram que os esporos também podem produzir armadilhas; o que é uma característica que permite ao fungo sobreviver à ação fungicida natural existente no meio ambiente.

De acordo com BARRON (1977) os fungos endoparasitas, comparados com os predadores, produzem esporos menores; contendo pouca reserva energética. Depois de infectados, não há grande desenvolvimento de hifas para fora do corpo dos nematóides.

1.3. Estudos *in vitro*

O primeiro estudo *in vitro* com a finalidade de controlar nematóides foi realizado por ROUBAUD & DESCHIENS (1939) onde demonstraram que *M. ellipsoforum*, crescendo sobre o ágar era capaz de capturar larvas de *Strongyloides* sp. e *Ancylostoma duodenale*.

De acordo com LARSEN (1991). SOPRUNOV (1958) testou os fungos *A. oligospora*, *A. dolioformis*, *Trichothecium globosporum* v. *microspora*, *T. globosporum* v. *rosea*, *D. brochopaga* em amostras de fezes de equino infectadas com *Strongylus* sp. e observou que a redução do número de larvas foi maior nos tratados com *A. oligospora* junto com as duas espécies de *T. glosporum*.

O fungo *Pleurotus pulmonaris* exerce um forte efeito imobilizador sobre larvas de primeiro e segundo estágio de ciatostomíneos, *O. ostertagia*, *C. oncophora* e *Oesophagostomum quadrispinulatum*; sendo menos eficiente sobre as fases de L₃ (LARSEN & NANSEN, 1991).

PANDEY (1973) testou a capacidade predatória de dez fungos nematófagos (*A. oligospora*, *D. brochopaga*, *D. gamsospora*, *D. polycephala*, *M. thaumasium*, *D. vermicola*, *Monacrosporium bembicoides*, *M. cionopaga*, *M. ellipsosporum* e *Trichothecium cystosporium*) sobre larvas de terceiro estágio de *Trichostrongylus axei* e *Ostertagia ostertagi* como presas. Após sete dias, seis espécies apresentaram 100% de apreensão; três espécies apresentaram os seguintes percentuais de apreensão: *D. brochopaga*, 62%; *M. bembicoides*, 49%; *M. ellipsosporum* 41%; e *D. vermicola* não apresentou efeito sobre as larvas.

O fungo endoparasito *Meria* (= *Drechmeria*) *coniospora* foi incapaz de infectar larvas de terceiro estágio de *O. ostertagi*, *O. circumcincta*, *H. contortus* e *Trichostrongylus colubriformis* (JANSSON *et al.* 1985).

Larvas dos três estádios de desenvolvimento (L₁, L₂ e L₃) de *C. oncophora* e larvas de dois nematóides de vida livre, *Panagrellus redivivus* e *Rhabditis wohlgemuthi*, foram adicionados em placas de ágar-milho (corn-meal-agar: CMA) contendo *A. oligospora* e observaram que as larvas dos nematóides de vida livre foram rapidamente presas e mortas; e que depois de 20h as larvas de terceiro estágio de *C. oncophora* continuavam vivas, porém presas; este mesmo fungo capturou todas as larvas expostas a ele em placas de CMA (NANSEN *et al.* 1986; 1988).

Dos fungos nematófagos, a espécie mais estudada é *A. oligospora* (OLTHOF & ESTEY, 1963; NORDBRING-HERTZ, 1977; LYSEK & NORDBRING-HERTZ, 1981; GRØNVOLD *et al.* 1985; 1987; 1988; 1989; NANSEN *et al.* 1988; HASHMI & CONNAN, 1989; WALLER & LARSEN, 1993; CHARLES *et al.* 1995; SANTOS *et al.* 1999).

A avaliação *in vitro* do efeito do fungo nematófago *A. robusta* sobre L₃ de *H. contortus* e *S. papillosus* foi avaliado em placas de ágar-milho (CMA) e após sete dias a 25°C observou-se 92,33% e 32,3% de redução, respectivamente. Com as espécies *A. robusta* e *A. conoides* os percentuais de capacidade predatória foram 25,71% e 90,40%, respectivamente (MENDOZA DE GIVES *et al.* 1992; 1994; GONZALES CRUZ *et al.* 1998).

ARAÚJO (1996) avaliou, *in vitro*, a capacidade predatória dos fungos das espécies *A. musiformis* (I-40), *A. conoides* (isolado A) e *A. robusta* (I-35 e isolado E) sobre larvas infectantes de *C. punctata*. Houve diferença significativa ($P < 0.05$) entre a atividade predatória dos isolados de E de *A. robusta*, quando comparado com todos os outros isolados de *Arthrobotrys* (isolados A, I-35 e I-40); o que indicou que houve uma variação dentro de uma mesma espécie de fungo ou gênero quanto à predação de larvas infectantes de *C. punctata*. A conclusão acima citada confirmou estudos anteriores, quando se avaliou a capacidade predatória de isolados do gênero *Arthrobotrys* sobre larvas de *H. placei* (ARAÚJO *et al.* 1993, 1994).

O efeito, *in vitro*, do fungo *M. ellypsosporum* no biocontrole de larvas infectantes de *H. placei* foi eficaz (ARAÚJO *et al.* 1992).

Nove isolados do gênero *Monacrosporium* foram avaliados quanto a sua atividade predatória (5 *M. sinense*, 3 *M. appendiculatum* e 1 *M. thaumasium*, NF34a) em larvas de um fitonematóide *Meloidogyne incognita*; em nematóide de vida livre *Panagrellus* spp e em duas espécies de larvas infectantes: *C. punctata* e *H. placei*. Os resultados deste experimento mostram que os nematóides de vida livre foram mais susceptíveis à ação do fungo, seguido pelo fitonematóide (GOMES *et al.* 1999).

De acordo com MOTA *et al.* (1999) as espécies *A. conoides* e *M. thaumasium* (NF34a) possuem atividade predatória sobre larvas de *H. contortus*, porém a espécie *M. thaumasium* demonstrou ser mais eficaz.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Material

2.1.1. Local

Este estudo foi desenvolvido no Laboratório de Helminologia da Estação para Pesquisas Parasitológicas W. O. Neitz, do Departamento de Parasitologia Animal do Instituto de Biologia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, Rio de Janeiro.

2.1.2. Animais

Equinos (*Equus caballus*) mestiços, naturalmente infectados, provenientes da Baixada Fluminense, foram utilizados como animais doadores, permanecendo em um piquete de aproximadamente seis hectares, contendo pastagem de grama batatais (*Paspalum notatum*).

2.1.3. Fungos

Foram utilizados quatro isolados de fungos nematófagos: *Arthrobotrys robusta* (I-31), *Arthrobotrys robusta* (I-35), *Arthrobotrys musiformis* (I-40) e *Monacrosporium thaumasium* (NF34a). Estes isolados foram obtidos junto ao Departamento de Veterinária da Universidade Federal de Viçosa – MG.

2.2. Métodos

2.2.1. Coleta e processamento das amostras fecais

As amostras fecais foram coletadas diretamente da ampola retal, com auxílio de luvas. Em seguida realizou-se cerca de 20 a 30 coproculturas, de acordo com ROBERTS & O'SULLIVAN (1950). Após sete dias as larvas foram recuperadas e identificadas como o descrito por BEVILAQUA *et al.* (1993).

2.2.2. Lavagens das larvas infectantes (L3)

As larvas recuperadas foram lavadas por meio de centrifugações em água destilada esterilizada por dez min. a 1500 rpm. No total onze lavagens foram realizadas, sendo que na quinta lavagem a água destilada esterilizada foi substituída por solução antibiótica (0.05% de clorafenicol; 0.05% de sulfato de estreptomicina; 0.05% de anfotericina B) (ARAÚJO *et al.* 1996, com modificações). Após as lavagens o número de larvas em 0.1ml foi quantificado; e o seu valor foi extrapolado para o volume total, obtendo-se uma estimativa do número total de larvas.

Este procedimento foi realizado para cada grupo.

2.2.3. Meio

Utilizou-se 20g de ágar-ágar diluídos em 1000 ml de água destilada com 0.05g de clorofenicol, em seguida este meio foi autoclavado por 20 min. a 1 atm.

2.2.4. Plaqueamento

Para o plaqueamento, em câmara de fluxo laminar, utilizou-se placas de Petri pequenas (5 ± cm de diâmetro) previamente esterilizadas; aproximadamente 10 ml de meio (para cada placa) e os fungos a serem cultivados oriundos de placas com o cultivos, os quais estavam estocados em refrigerador (ARAÚJO *et al.* 1996).

O experimento constou de dois grupos com um total de 60 placas de Petri pequenas, sendo 30 placas para cada grupo, as quais foram subdivididas em cinco subgrupos com seis repetições: I – controle de larvas; II – fungo1 X L₃; III – fungo2 X L₃; IV – controle fungo1; V – controle fungo2. Todas as placas foram mantidas em câmara climatizada a 26°C e ± 85% de UR por 14 dias.

2.2.5. Inoculação

Uma semana após o plaqueamento, inoculou-se 0.1 ml de suspensão larval (± 1000 L₃) em todas as placas, exceto nas placas controle de fungos, onde a suspensão larval foi substituída por água destilada esterilizada. Após a inoculação todas as placas foram novamente levadas à câmara de climatizada, onde permaneceram por mais sete dias. Ao término deste período todas as placas foram avaliadas ao microscópio óptico e o número de larvas livres e presas foram contadas (MENDONZA DE GIVES *et al.* 1992).

2.2.6. Grupo I

O grupo I foi composto pelos fungos nematófagos *Monacrosporium thaumasium* (NF34a) e *Arthrobotrys robusta* (I-35).

2.2.7. Grupo II

O grupo II foi composto pelos fungos nematófagos *Arthrobotrys robusta* (I-31) e *Arthrobotrys musiformis* (I-40).

2.2.8. Análise estatística

Comparou-se todos os fungos, dois a dois, utilizando-se o teste *t* de Student's ($P \leq 0.05$) ZAR (1998).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Através dos resultados apresentados na tabela 1, observou-se que dos fungos testados, *M. thaumasium* foi o que apreendeu o maior número de larvas de ciatostomíneos (99,04% $\pm$ 0,87) (Figura 1), quando comparado com os fungos: *A. robusta* (I-31), (I-35) (Figura 2) e *A. musiformis* (I-40); não havendo diferença significativa entre estes últimos. Este resultado está de acordo com o encontrado por PANDEY (1973) onde a espécie *M. thaumasium* apresentou 100% de apreensão sobre L₃ de *T. axei* e *O. ostertagi*.

NANSEN *et al.* (1986) observaram que os nematóides de vida livre *P. redivivus* e *R. wohlgemuthi* e os dois primeiros estádios de *C. oncophora* foram rapidamente imobilizados e mortos pelo fungo *A. oligospora* e que, depois de 20h as larvas infectantes de *C. oncophora* continuavam vivas, porém presas. No presente estudo, observou-se que depois de sete dias de interação, os fungos, *A. robusta* (I-31) apreendeu 72,85% ($\pm$ 22,66); *A. robusta* (I-35) 66,74% ($\pm$ 15,95) e *A. musiformis* (I-40) 74,24% ($\pm$ 13,05) das larvas

TABELA 1: TRATAMENTOS, MÉDIA DO PERCENTUAL DE APREENSÃO (%) E VARIÂNCIA DO NÚMERO DE LARVAS CAPTURADAS POR *Monacrosporium thaumasium*; *Arthrobotrys robusta* E *A. musiformis*.

TRATAMENTOS	Nº L ₃ CAPTURADAS	MÉDIAS (%)	VARIÂNCIAS
<i>Monacrosporium thaumasium</i>	557	99,04 a	0,0001
<i>Arthrobotrys musiformis</i>	181	74,24 b	0,0155
<i>Arthrobotrys robusta</i> (I-31)	280	72,85 b	0,0467
<i>Arthrobotrys robusta</i> (I-35)	406	66,74 b	0,0231

Letras idênticas na mesma coluna não diferem significativamente.

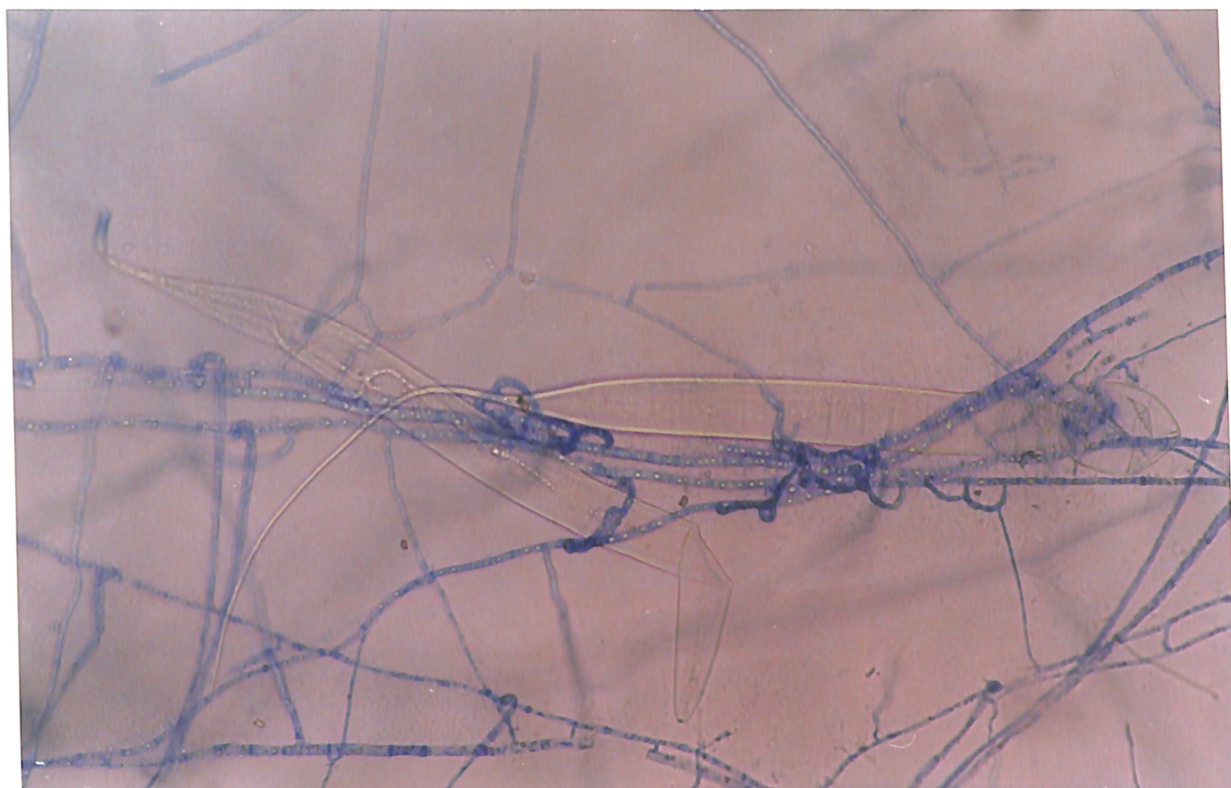


FIGURA 1. L₃ DE CYATHOSTOMINAE CAPTURADAS E DESTRUIDAS PELO FUNGO *M. thaumasium* (40X).

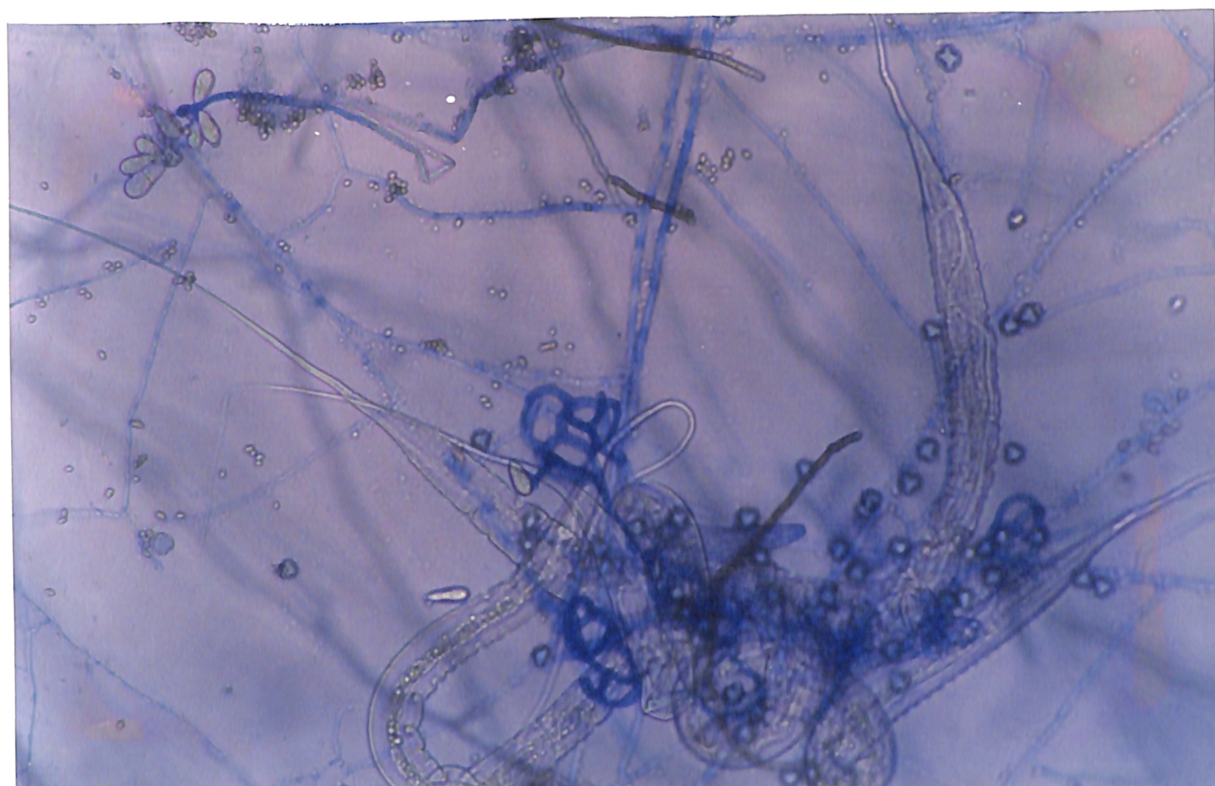


FIGURA 2: L₃ DE CYATHOSTOMINAE CAPTURADAS E DESTRUÍDAS PELO FUNGO *A. robusta* (40X).

infectantes de ciatostomíneos (Tab. 2); e ainda que poucas larvas continuavam vivas e se movimentavam livremente.

NANSEN *et al.* 1988, realizaram um estudo, onde induziram armadilhas no fungo *A. oligospora* com nematóides de vida livre, e avaliaram a capacidade predatória deste fungo pré-induzido; neste estudo não foi realizada pré-indução o que pode justificar os percentuais menores do que 100% de redução.

Isolados de *A. musiformis*, provenientes do sul de Minas Gerais apreenderam 100% das larvas de *P. redivivus* entre o 4^o e o 6^o dia de interação (NAVES & CAMPOS, 1991); e este mesmo fungo reduziu em até 100% o número de *H. placei* depois de 20 dias de interação (ARAÚJO *et al.* 1994). No presente estudo o mesmo isolado apreendeu 74,24% ($\pm 13,05$) das larvas de ciatostomíneos, depois de sete dias de interação.

A capacidade predatória pode variar entre isolados de mesma espécie ou gêneros (ARAÚJO *et al.* 1993; 1994); avaliando dois isolados de *A. robusta*: (I-31) e (I-35) não se observou diferença significativa entre eles, neste estudo (Tab. 1).

O efeito do fungo nematófago, *A. robusta* sobre larvas de *H. contortus*, foi avaliado em placas contendo o meio de ágar-milho (corn-meal-agar – CMA); após sete dias foi observado 92,33% de predação (MENDOZA DE GIVES *et al.* 1992). Neste experimento, os isolados desta espécie reduziram em 72,85% e 66,74% o número de L₃ de ciatostomíneos, após sete dias de interação.

M. thaumasium, em estudo preliminar, após três dias de interação com L₃ de ciatostomíneos apresentou 27,34% de apreensão (RODRIGUES *et al.* 1999); e neste estudo, apresentou 99,04% após sete dias de interação, demonstrando que o período de interação é proporcional ao percentual de apreensão.

Tabela 2: TRATAMENTOS, NÚMERO DE LARVAS E PERCENTUAL (%) DE L₃ DE CIATOSTOMÍNEOS CAPTURADOS POR *Monacrosporium thaumasium*; *Arthrobotrys robusta* e *A. musiformis* APÓS SETE DIAS DE INTERAÇÃO *in vitro*.

Grupo I	Larvas capturadas/ Total de larvas	Percentual de apreensão (%)
<i>A. robusta</i> (I-35)	406/585	$\bar{x} = 66,74$ $s = 15,95$
<i>M. thaumasium</i>	511/515	$\bar{x} = 99,04$ $s = 0,87$
Controle	0/1382	
Grupo II	Larvas capturadas/ Total de larvas	Percentual de apreensão (%)
<i>A. robusta</i> (I-31)	280/353	$\bar{x} = 72,85$ $s = 22,66$
<i>A. musiformis</i>	181/235	$\bar{x} = 74,24$ $s = 13,05$
Controle	0/265	

$\bar{x}$ = Média das repetições; s = Desvio Padrão.

Todas as espécies testadas, demonstraram que possuem atividade predatória sobre larvas de ciatostomíneos, porém *M. thaumasium* (NF34a) demonstrou ser mais eficaz, o que também foi observado por MOTA *et al.* (1999), sobre larvas de *H. contortus*.

De acordo com WALLER (1997), estudos em condições laboratoriais são importantes, porém fornecem poucas informações a respeito da eficiência dos fungos nematófagos em condições ambientais. Demonstrando, então a necessidade de mais estudos com os fungos predadores: a nível de campo em massas fecais, e *in vivo*, com a passagem pelo trato gastrointestinal dos animais. Este mesmo autor comentou ainda, que o princípio mais importante para selecionar fungos candidatos ao controle biológico de helmintos é obter isolados do campo, da região, do país onde o estudo é desenvolvido.

CAPÍTULO III:

AÇÃO DE CONÍDIOS DE *Arthrobotrys* sp E *Monacrosporium thaumasium* SOBRE AS FASES PRÉ-PARASÍTICAS DE CYATOSTHOMINAE SOB DIFERENTES TEMPERATURAS.

1. REVISÃO DE LITERATURA

Os fungos nematófagos têm sido objeto de um grande número de estudos explorando seu potencial, como agentes de controle biológico sobre vários nematóides parasitos de animais domésticos (GRUNER *et al.* 1993; GRØNVOLD *et al.* 1985; 1987; 1988; 1989; NANSEN *et al.* 1986; 1988; LARSEN, 1991; CHARLES *et al.* 1995; WALLER & FAEDO, 1993; MENDOZA DE GIVES & VASQUEZ PRATS, 1994). Para serem considerados agentes de controle biológico, estes fungos devem ser capazes de crescer e eliminar significativamente o número de larvas infectantes no ambiente sob a influência de fatores bióticos (ácaros, nematóides, insetos) e abióticos (temperatura, umidade, tensão de oxigênio, etc.). Um dos mais importantes fatores é a temperatura, que

afeta o crescimento (COOKE, 1963; OLTHOF & ESTEY, 1965; PANDEY, 1973; GRAY, 1983) e conseqüentemente sua habilidade predatória (LARSEN, 1991; MORGAN *et al.* 1997). No entanto, segundo FEDER (1963), parece haver pouca relação entre a taxa de crescimento do fungo e sua eficiência de captura.

FERNÁNDEZ *et al.* (1999) avaliou a taxa de crescimento e a eficácia de apreensão dos fungos nematófagos, *A. oligospora* e *Duddingtonia flagrans*, sob temperatura constante e oscilante e observaram redução no número de larvas infectantes de *C. oncophora*, na faixa de temperatura de 15 – 25°C.

Os três fungos *A. oligospora*, *M. megalosporum* e *D. flagrans* apresentaram níveis de apreensão similares quando relacionados com a temperatura, sendo que o máximo ocorreu perto da taxa ótima de crescimento: entre 20 e 25°C para *A. oligospora*, 25 e 28°C para *M. megalosporum* e 25 e 33°C para *D. flagrans* (MORGAN *et al.* 1997).

WALLER & FAEDO (1993) observaram que a redução do número de larvas infectantes de *H. contortus*, foi superior a 80% em relação ao controle, quando utilizaram 100-250 conídios/g de fezes de sete espécies do gênero *Arthroborys*, duas de *Gemiculifera* e uma de *Monacrosporium*, em culturas fecais. O número de larvas de *H. contortus* foi reduzido em 97,4% pelos fungos *M. eudermatum*, *A. oligospora*, *A. robusta*, quando utilizaram uma suspensão contendo conídios dos três fungos, em culturas fecais. (MENDOZA DE GIVES & VASQUEZ PRATS, 1994). O controle de estádios de vida livre de *S. papillosus* foi avaliado em culturas fecais sob a ação do fungo predador *A. oligospora*. Ele praticamente eliminou as larvas infectantes (> 99% redução) sob uma concentração de 2000 conídios/g de fezes (CHANDRAWATHANI *et al.* 1998).

A redução de 99,5% das larvas infectantes de *H. contortus* foi observada por *H. anguillulae* quando utilizaram 300.000 conídios/g de fezes ovinas. Os efeitos dos fungos

endoparasitas nas formas de vida livre de nematóides não são extensivamente conhecidos. JANSSON *et al.* (1985) tentaram infectar, sem sucesso larvas de *O. ostertagi*, *O. circumcineta*, *H. contortus* e *T. colubriformis* com *Meria coniospora*. Só com a remoção da cutícula da larva de segundo estágio, o fungo foi capaz de predação as larvas. A infecção das larvas de primeiro estágio foi observada com conídios deste mesmo fungo, aderindo à região cefálica, próximo à extremidade oral (SANTOS & CHARLES, 1995); enfatizando a importância da concentração de conídios na redução do número de larvas.

A redução do número de larvas de ciatostomíneos em fezes de equino tratados com conídios de *A. oligospora* foi observada por (CHARLES *et al.* 1995) e por (BIRD & HERD 1995), com os fungos *A. oligospora* e *A. flagrans*.

LARSEN & NANSEN (1991) observaram que o cogumelo *P. pulmonaris* exerceu um forte efeito imobilizador sobre o primeiro e segundo estágio de ciatostomíneos.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Material

2.1.1. Local

Este estudo foi desenvolvido no Laboratório de Helminologia da Estação para Pesquisas Parasitológicas W. O. Neitz, do Departamento de Parasitologia Animal do Instituto de Biologia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, Rio de Janeiro.

2.1.2. Animais

Eqüinos (*Equus caballus*) mestiços, naturalmente infectados, provenientes da Baixada Fluminense, foram utilizados como animais doadores, permanecendo em um piquete de aproximadamente seis hectares, contendo pastagem de grama batatais (*Paspalum notatum*).

2.1.3. Fungos

Foram utilizados quatro isolados de fungos nematófagos: *Arthrobotrys robusta* (I-31), *Arthrobotrys robusta* (I-35), *Arthrobotrys musiformis* (I-40) e *Monacrosporium thaumasium* (NF34a). Estes isolados foram obtidos junto ao Departamento de Veterinária da Universidade Federal de Viçosa – MG.

2.1.4. Nematóides de vida livre

Os nematóides de vida livre, *Panagrellus sp.*, foram cedidos pelo Departamento de Veterinária da Universidade Federal de Viçosa e foram mantidos em meio de aveia (HEINTZ, 1978). A cada quinze dias os nematóides eram repicados para novos cultivos.

2.2. Métodos

2.2.1. Obtenção de conídios

Os fungos *A. robusta* (I-31), *A. robusta* (I-35), *A. musiformis* (I-40) e *M. thaumasium* (NF34a) foram cultivados em placas de Petri com ágar-água, num total de 13 placas para cada fungo; onde, de dois em dois dias, inoculava-se um ml com aproximadamente 1000 *Panagrellus sp.* Estes nematóides de vida livre foram previamente recuperados pela técnica de Baermann (UENO & GONÇALVES, 1998) e em seguida foram lavados onze vezes em água destilada e esterilizada por meio de centrifugações, durante cinco min. a 1500 rpm. Na quinta lavagem a água foi substituída por solução antibiótica: 0.05% de cloranfenicol; 0.05% de sulfato de estreptomicina; 0.05% de anfotericina B. Após a lavagem os nematóides foram quantificados em 0.1 ml, e o seu valor extrapolado para o volume total e assim ajustado até obter a quantidade estipulada.

Depois de 21 dias, as placas, contendo os fungos, foram lavadas com dois ml de água destilada esterilizada, removendo os conídios e fragmentos de micélio da superfície do ágar, com auxílio de uma alça de platina. Em seguida foram quantificados como acima descrito.

2.2.2. Delineamento experimental

Para avaliar a ação dos fungos nematófagos sobre as larvas de ciatostomíneos procedeu-se da seguinte forma: cinco grupos foram formados, cada um composto por 10 repetições com 10g de fezes frescas; onde realizava-se previamente a contagem de ovos (OPG), de acordo com GORDON & WHILLOCK (1939); recuperação e identificação das larvas (ROBERTS & O'SULLIVAN, 1950; BEVILAQUA *et al.* 1993). Cada repetição recebeu tratamento com um ml contendo aproximadamente 1000 conídios do fungo correspondente ao tratamento. O controle recebeu um ml de água destilada esterilizada. Os grupos formados foram: controle; *A. robusta* (I-31); *A. robusta* (I-35); *A. musiformis* (I-40); *M. thaumastum* (NF34a). Este delineamento foi realizado para as três temperaturas constantes: 25, 28 e 30°C, mantidas em câmara climatizada (BOD) durante 15 dias. Após este período, as larvas de todos os grupos foram recuperadas como o descrito por ROBERTS & O'SULLIVAN (1950), e contadas obtendo-se o valor médio.

2.2.3. Percentual de redução e análise estatística

O percentual de redução foi calculado de acordo com a seguinte equação (MENDOZA DE GIVES *et al.* 1999):

$$\% \text{ Redução} = \{n^{\circ} \text{ larvas controle} - n^{\circ} \text{ larvas tratadas} / n^{\circ} \text{ larvas controle}\} \times 100$$

Com os valores dos números de L_3 recuperadas, realizou-se o teste de Kruskal-Wallis, ao nível de 5% de probabilidade, (SIEGEL, 1975) para as três temperaturas isoladamente.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na tabela 1, pode-se observar que todos os isolados fúngicos reduziram o número de larvas infectantes de ciatostomíneos nas três temperaturas. Os isolados de *A. robusta* I-31 e I-35 apresentaram seus maiores percentuais de redução sob a temperatura de 25°C, ocorrendo diferença significativa entre dois isolados com o grupo controle (tabela 2). *M. thaumasium* em comparação aos dois isolados acima citados, obteve um maior percentual de redução sob esta temperatura (tabela 1).

Os menores valores foram registrados na temperatura de 28°C; onde somente o fungo *M. thaumasium* reduziu significativamente o número de L₃, comparado com o grupo controle. Também houve diferença significativa entre os fungos *A. musiformis* e *M. thaumasium* (tabela 3).

Para os fungos *M. thaumasium* e *A. musiformis* a temperatura de 30°C foi a melhor, apresentando os seguintes percentuais de redução: 95,59 e 64,38, respectivamente; somente

TABELA 1: TRATAMENTOS, PERCENTUAIS DE REDUÇÃO (%) DO NÚMERO DE LARVAS DE CIATOSTOMÍNEOS PELOS FUNGOS *Arthrobotrys robusta* (I-31), (I-35), *A. musiformis* E *M. thaumasium* NAS TRÊS DIFERENTES TEMPERATURAS.

Tratamentos	25 ⁰ C	28 ⁰ C	30 ⁰ C
<i>A. robusta</i> (I-31)	86,32	17,82	74,03
<i>A. robusta</i> (I-35)	86,70	27,11	63,18
<i>A. musiformis</i>	58,45	6,57	64,38
<i>M. thaumasium</i>	93,36	41,26	95,59

TABELA 2: TRATAMENTOS, MÉDIA DO NÚMERO DE LARVAS INFECTANTES DE CIATOSTOMÍNEOS RECUPERADAS, MÉDIA DAS ORDENS (POSTOS) E NÚMERO DE REPETIÇÕES EM CADA TRATAMENTO: CONTROLE, *Arthrobotrys robusta* (I-31), (I-35), *A. musiformis* E *M. thaumasium* À TEMPERATURA DE 25⁰C.

Tratamentos	Média	Médias das ordens	Repetições
<i>A. robusta</i> (I-31)	63,9	21,5 b	10
<i>A. robusta</i> (I-35)	62,1	18,2 b	10
<i>A. musiformis</i>	194,1	35,4 a	10
<i>M. thaumasium</i>	31	7,1 b	10
Controle	467,2	45,5 a	10

Letras idênticas na mesma coluna não diferem significativamente.

TABELA 3: TRATAMENTOS, MÉDIA DO NÚMERO DE LARVAS INFECTANTES DE CIATOSTOMINEOS RECUPERADAS, MÉDIA DAS ORDENS (POSTOS) E NÚMERO DE REPETIÇÕES EM CADA TRATAMENTO: CONTROLE, *Arthrobotrys robusta* (I-31), (I-35), *A. musiformis* E *M. thaumasium* À TEMPERATURA DE 28⁰C.

Tratamentos	Média dos dados	Médias das ordens	Repetições
<i>A. robusta</i> (I-31)	571,5	25 a	10
<i>A. robusta</i> (I-35)	506,9	21 a	10
<i>A. musiformis</i>	649,8	33 a b	10
<i>M. thaumasium</i>	408,5	13,2 b	10
Controle	695,8	35,3 a	10

Letras idênticas na mesma coluna não diferem significativamente.

o fungo *A. robusta* I-35, não apresentou diferença significativa em relação ao grupo controle (tabela 4).

A. oligospora apresentou seu melhor índice de redução (90%) à temperatura de 27°C (SANTOS *et al.* 1999). No presente estudo, os melhores percentuais observados foram: *A. robusta* (I-31), 86,32% a 25°C; *A. robusta* (I-35), 86,70% a 25°C e *A. musiformis*, 67,38% a 30°C (tabela 1); sugerindo ocorrer diferenças entre espécies do mesmo gênero, quanto ao grau de apreensão relacionado com a temperatura. Na temperatura de 28°C observou-se que *M. thaumasium* reduziu em 41,26% o número de L₃ de ciatostomíneos.

Segundo a literatura as espécies apresentam variação no percentual de redução de acordo com a temperatura: FERNÁNDEZ *et al.* (1999) observaram que os isolados de *A. oligospora* e *D. flagrans* reduziram o número de larvas de *C. oncophora* em culturas submetidas a faixa de 15 – 25°C; segundo MORGAN *et al.* (1997) o máximo de apreensão para os fungos *A. oligospora* e *M. megalosporum* foi registrado entre 25 e 28°C. Assim como neste estudo registrou-se a temperatura ótima para apreensão de *A. robusta* I-31 e I-35 em 25°C e para os fungos *M. thaumasium* e *A. musiformis* a temperatura de 30°C, confirmando que o grau de apreensão ocorre de acordo com a temperatura para cada fungo.

De acordo com MENDOZA DE GIVES & VASQUEZ PRATZ (1994), os fungos *A. robusta* e *M. eudermatum* foram inoculados em culturas fecais, na faixa de temperatura de 25 a 30°C, reduzindo em 10,1 e 95,7% o número de L₃ de *H. contortus*. Estes resultados diferem dos do presente estudo, pois os isolados de *A. robusta* apresentaram bons percentuais de redução a temperatura de 25 e 30°C. Como no estudo acima citado o fungo *M. thaumasium* demonstrou um desempenho similar ao fungo *M. eudermatum*.

M. thaumasium reduziu o número de *H. contortus*, em culturas fecais a 25°C, em 93% (WALLER & FAEDO, 1993). Neste estudo, este fungo, obteve um desempenho tão

TABELA 4: TRATAMENTOS, MÉDIA DO NÚMERO DE LARVAS INFECTANTES DE CIATOSTOMINEOS RECUPERADAS, MÉDIA DAS ORDENS (POSTOS) E NÚMERO DE REPETIÇÕES EM CADA TRATAMENTO: CONTROLE, *Arthrobotrys robusta* (I-31), (I-35), *A. musiformis* E *M. thaumasium* À TEMPERATURA DE 30°C.

Tratamentos	Média dos dados	Médias das ordens	Repetições
<i>A. robusta</i> (I-31)	551,3	18,7 b c	10
<i>A. robusta</i> (I-35)	780,6	31,7 a b	10
<i>A. musiformis</i>	691,5	26,2 b	10
<i>M. thaumasium</i>	93,3	5,5 c	10
Controle	2120,3	45,4 a	10

Letras idênticas na mesma coluna não diferem significativamente.

bom, quanto no experimento acima, reduzindo em até 93,36% o número de larvas de ciatostomíneos a 25⁰C. Das três temperaturas testadas, neste experimento, a de 30⁰C foi a melhor para este fungo, apresentando um percentual de 95,59%. Assim como CASTRO *et al.* (1999) observaram que o percentual de redução desta mesma espécie foi de 97% a uma temperatura de 26⁰C sobre L₃ de ciatostomíneos.

M. ellipsosporum apreendeu 65% e *M. bembicoides* 50% do número de larvas de *Aphelencoides sacchari* a 21⁰C (FEDER, 1963); neste estudo, o melhor percentual de apreensão de *M. thaumasium* foi à 30⁰C. De acordo com o autor acima citado, *M. ellipsosporum* e *M. bembicoides* não cresceram e não apreenderam larvas a temperatura de 35⁰C. Mais estudos devem ser realizados com o objetivo de avaliar a eficiência de fungos predadores em estudos a campo em diferentes estações e no futuro *in vivo*.

CONCLUSÕES

De acordo com os dados apresentados neste estudo pode-se concluir que:

1. Os fungos *M. anisopliae* e *B. bassiana* reduzem o número de L₃ de ciatostomíneos quando inoculados em bolo fecal no ambiente; porém novos estudos devem ser direcionados afim de avaliar o mecanismo de apreensão destes fungos sobre as formas larvares;

2. Os fungos predadores *A. I-31*, *A. robusta* I-35, *A. musiformis* I-40 e *M. thaumasium* NF34a possuem capacidade predatória sobre L₃ de ciatostomíneos, sendo que o fungo *M. thaumasium* demonstrou ser mais eficiente;

3. Das três temperaturas, a de 25°C foi a melhor para o desempenho de *A. robusta* I-31 e I-35; a de 30°C para os fungos *A. musiformis* e *M. thaumasium*, indicando que o grau de apreensão ocorre de acordo com a temperatura. De todos os fungos, *M. thaumasium* apresentou o melhor desempenho em reduzir o número de L₃ de ciatostomíneos nas três temperaturas; demonstrando que novos estudos devem ser realizados visando avaliar a eficiência desta espécie em massas fecais a campo e posteriormente *in vivo*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVES, S. B. 1998. **Controle Microbiano de Insetos**. 2^a ed., FEALQ, Piracicaba, 1163p.
- ARAÚJO, J. V. 1996. **Interação entre larvas infectantes de *Cooperia punctata* e fungos predadores do gênero *Arthrobotrys*, caracterização de isolados de *Arthrobotrys* e seu uso no controle de nematódeos parasitos gastrintestinais de bovinos**. Tese de Doutorado. UFV. 110p.
- ARAÚJO, J. V. 1999. **Controle biológico de nematóides parasitos de animais domésticos por fungos**. PROIN/CAPES – UFRRJ/DPA. 23p.

- ARAÚJO, J. V.; SANTOS, M. A.; FERRAZ, S. & MAGALHÃES, A. C. M. 1992. Controle de larvas infectantes de *Haemonchus placei* por fungos predadores da espécie *Monacrosporium ellypsosporum* em condições de laboratório. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, 44 (6): 521-526.
- ARAÚJO, J. V.; SANTOS, M. A.; FERRAZ, S. & MAIA, A. S. 1993. Antagonistic effect of predacious *Arthrobotrys* fungi on infective *Haemonchus placei* larvae. **Journal of Helminthology**, 67: 136-138.
- ARAÚJO, J. V.; SANTOS, M. A.; FERRAZ, S. & MAIA, A. S. 1994. Biological control "in vitro" of infective *Haemonchus placei* larvae by predacious fungi *Arthrobotrys musiformis*. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, 46 (3): 197-204.
- ARAÚJO, J. V., NETO, A. P. & AZEVEDO, M. H. F. 1996. Screening parasitic nematode-trapping fungi *Arthrobotrys* for passage through the gastrointestinal tract of calves. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, 48 (5): 543-552.
- ARAÚJO, J. V., STEPHANO, M. A. & SAMPAIO, W. M. 1999. Passage of nematode-trapping fungi gastrointestinal tract of calves. **Veterinarski Arhiv**, 69 (2): 69-78.
- BARRON, G. L. 1977. Observations on predatory fungi. **Canadian Journal of Botany**, 57: 187-193.

BEVILAQUA, C. M. L.; RODRIGUES, M. L. A.; CONCORDET, D. 1993. Identification of infective larvae of some common nematode strongylid of horses. **Revue Médecine Vétérinaire**, 44 (12): 989-995.

BITTENCOURT, V. R. E. P. 1992. Ação do fungo *Metarhizium anisopliae* (Metchnikoff, 1879) Sorokin, 1883, sobre o carrapato *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887). Tese de Doutorado, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 105p.

BITTENCOURT, V. R. E. P. 1994. Ação do *Metarhizium anisopliae* sobre a fase não parasitária do ciclo biológico de *Boophilus microplus*. **Revista Universidade Rural - Série Ciências da vida**, 16:39-45.

BITTENCOURT, V. R. E. P.; MASSARD, C. L. & LIMA, A. F. 1994. Ação do fungo *Metarhizium anisopliae* em ovos e larvas do carrapato *Boophilus microplus*. **Revista Universidade Rural - Série Ciências da Vida**, 16(1-2):41-47.

BITTENCOURT, V. R. E. P.; PERALVA, S. L. E. S.; VIEGAS, E. C. & ALVES, S. B. 1996. Avaliação dos efeitos do contato de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. com ovos e larvas de *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) (Acari-Ixididae). **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, 5 (2): 81-84.

BIRD, J. & HERD, R. P. 1995. "In vitro" assessment of two species of nematophagous fungi (*Arthrobotrys oligospora* and *Arthrobotrys flagrans*) to control the development of infective cyathostome larvae from naturally infected horses. **Veterinary Parasitology**, 56: 181-187.

CASTRO, A. A. 1998. Avaliação da ação de *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana* sobre as fases pré-parasíticas de nematóides estrongilídeos (Nematoda:Strongylidae) de eqüinos. Monografia, UFRRJ, 42p.

CASTRO, A. A.; RODRIGUES, M. L. A.; ANJOS, D. H. S.; OLIVEIRA, C. R. C.; ARAÚJO, M. M. & BITTENCOURT, V. R. E. P. 1998. Avaliação do fungo *Metarhizium anisopliae* sobre larvas de *Strongyloides papillosus* em coprocultura bovina. VI Simpósio de Controle Biológico. p122.

CASTRO, A. A.; RODRIGUES, M. L. A.; ANJOS, D. H. S.; OLIVEIRA, C. R. C.; BITTENCOURT, V. R. E. P. & ARAÚJO, J. V. 1999. Avaliação do fungo *Monacrosporium thaumasium* (Isolado-NF34a) sobre as fases pré-parasíticas de Cyathostominae (Nematoda-Strongylidae) em coproculturas. XI Seminário de Parasitologia Veterinária; Anais: Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária, pág. 165.

- CAYROL, J. C.; FRANKOWSKI, J. P.; LANIECE, A.; D'HARDEMARE, G. & TALON, J. P. 1978. Contre les nématodes en champignonnière. Mise au point d'une méthode de lutte biologique à l'aide d'un hyphomycète prédateur: *Arthrobotrys robusta* souche "antipolis" (Royal 300). **Revue Horticole**, 184: 23-30.
- CAYROL, J. C. & FRANKOWSKI, J. P. 1979. Une methode de lutte biologique contre les nematodes a galles des racines appartenant au genre *Meloidogyne*. **Revue Horticole**, 193: 15-23.
- CHANDRAWATHANI, P.; OMAR, J. & WALLER, P. J. 1998. The control of the free-living stages of *Strongiloides papillosus* by the nematophagous fungus, *Arthrobotrys oligospora*. **Veterinary Parasitology**, 76: 321-325.
- CHARLES, T. P.; RODRIGUES, M. L. A. & SANTOS, C. P. 1995. Redução do número de larvas de Cyathostominae em fezes de equinos tratadas com conídios de *Arthrobotrys oligospora*. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, 47 (1): 87-89.
- COOKE, R. C. 1963. Succession of nematophagous of organic matter in the soil. **Nature**, 12: 205.
- COOKE, R. C. & GODFREY, B. E. S. 1964. A key to the nematode-destroying fungi. **Transactions of the British Mycological Society**, 74 (1): 61-67.

- DACKMAN, C. & NORDBRING-HERTZ, B. 1992. Conidial traps – a new survival structure of nematode trapping fungus *Arthrobotys oligospora*. **Mycological Research**, **96** (3): 194-198.
- DESCAZEUX, J. & CAPELLE, C. 1939. Controbutiion à l'étude des champignons prédateurs de larves de nématodes parasites des animaux domestiques. **Bulletin de L'academie Vétérinaire de France**, **12**: 284-288.
- DESCHIENS, R. 1941. Innocuité des Hyphomycètes prédateurs de nématodes pour la végétation des pâturage et pour le bétail. **Compte Rendu de la Societé de Biologie de Paris**, **135**: 830-832.
- DRESCHSLER, C. 1937. Some hyphomycetes that prey on free-living terricolous nematodes. **Mycologia**, **29**: 447-552.
- DUDDINGTON, C. L. 1955. Notes on the technique of handling predacious fungi. **Transactions of the British Mycological Society**, **38** (2): 97-103.
- ENGLISH, A. W. 1979. The epidemiology of equine strongylosis in southern queensland.
1. The bionomics of the free-living stages in faeces and on pasture. **Australian Veterinary Journal**, **55**: 299-304.
- FEDER, W. A. 1963. A comparison of nematode-capturing efficiencies of five *Dactylella* species at four temperatures. **Mycopathologia et Mycologia Applicata**, **19**: 99-104.

- FERNÁNDEZ, A. S.; LARSEN, M.; WOLSTRUP, J.; GRØNVOLD, J.; NANSEN, P. & BJØRN, H. 1999. Growth rate and trapping efficacy of nematode-trapping fungi under constant and fluctuating temperatures. **Parasitology Research**, **85**: 661-668.
- GRAY, N. F. 1983. Ecology of nematophagous fungi: distribution and habitat. **Annals of Applied Biology**, **102**: 501-509.
- GOMES, A. P. S. 1998. Controle biológico "*in vitro*" de nematódeos parasitos gastrointestinais de bovinos pelo fungo predador *Arthrobotrys robusta* e patogenicidade "*in vitro*" de isolados do fungo predador *Monacrosporium* sobre nematódeos. Tese de Mestrado. Viçosa. 82 pp.
- GOMES, A. P. S.; ARAÚJO, J. V. & RIBEIRO, R. C. F. 1999. Differential *in vitro* pathogenicity of predatory fungi of the genus *Monacrosporium* for phytonematodes, free-living nematodes and parasitic nematodes of cattle. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, **32**: 79-83.
- GONZALEZ CRUZ, M. E.; MENDOZA DE GIVES, P. & QUIROZ ROMERO, H. 1998. Comparison of the trapping ability of *Arthrobotrys robusta* and *Monacrosporium* on infective larvae of *Strongyloides papillosus*. **Journal of Helminthology**, **72**: 209-213.

- GORDON, H. McL. & WHITLOCK, H.V. 1939. A new technique for counting nematode eggs in sheep faeces. **Journal Council Science Industry Research**, 12: 50-52.
- GRØNVOLD, J.; HORSHOLM, H.; WOLSTRUP, J.; NANSEN, P. & HENRIKSEN, S. A. 1985. Laboratory experiments to evaluate the ability of *Arthrobotrys oligospora* to destroy infective larvae of *Cooperia* species, and to investigate the effect of physical factors on the growth of the fungus. **Journal of Helminthology**, 59: 119-125.
- GRØNVOLD, J.; WOLSTRUP, J.; HENRIKSEN, S. A. & NANSEN, P. 1987. Field experiments on the ability of *Arthrobotrys oligospora* (Hyphomycetales) to reduce the number of larvae of *Cooperia oncophora* (Trichostrongylidae) in cow pats and surrounding grass. **Journal of Helminthology**, 61: 65-71.
- GRØNVOLD, J.; NANSEN, P.; HENRIKSEN, S. A.; THYLIN, J. & WOLSTRUP, J. 1988. The capability of the predacious fungus *Arthrobotrys oligospora* (Hyphomycetales) to reduce numbers of infective larvae of *Ostertagia ostertagi* (Trichostrongylidae) in cow pats and herbage during the grazing season in Denmark. **Journal of Helminthology**, 62: 271-280.
- GRØNVOLD, J.; HENRIKSEN, S. A.; NANSEN, P.; WOLSTRUP, J. & THYLIN, J. 1989. Attempts to control infection with *Ostertagia ostertagi* (Trichostrongylidae) in grazing calves by adding mycelium of the nematode-trapping fungus *Arthrobotrys oligospora* (Hyphomycetales) to cow pats. **Journal of Helminthology**, 63: 115-126.

GRØNVOLD, J.; WOLSTRUP, J.; NANSEN, P. & HENRIKSEN, S. A. 1993a. Nematode-trapping fungi against parasitic cattle nematodes. **Parasitology Today**, 9 (4): 137-140.

GRØNVOLD, J.; WOLSTRUP, J.; LARSEN, M.; HENRIKSEN, S. A. & NANSEN, P. 1993b. Biological control of *Ostertagia ostertagi* by feeding selected nematode-trapping fungi to calves. **Journal of Helminthology**, 67: 31-36.

GRUNER, L.; PELOILLE, M.; SAUVÉ, C. & CORTET, J. 1985. Survie et conservation de l'activité prédatrice vis-à-vis de nématodes trichostrongylides après ingestion par des ovins de trois hyphomycètes prédateurs. **Comptes Rendus de l'Académie des Sciences**, 300: 525-528.

GUAGLIUMI, P. 1970 A cigarrinha-das-pastagens ataca a cana-de-açúcar no Nordeste do Brasil. **Brasil Acucareiro**, 76 (4): 89-91.

HASHMI, H. A. & CONNAN, R. M. 1989. Biological control of ruminant Trichostrongilids by *Arthrobotrys oligospora*, a predacious fungus. **Parasitology Today**, 5 (1): 28-30.

HEINTZ, C. E. 1978. Assessing the predacity of nematode-trapping fungi *in vitro*. **Mycologia**, 70: 1086-1100.

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

HERD, R. P. 1993. Control strategies for ruminant and equine parasites to counter resistance, encystment and ecotoxicity in the USA. **Veterinary Parasitology**, 48: 327-336.

JANSSON, H. J.; JEYAPRAKASH, A. & ZUCKERMAN, B. M. 1985. Differential adhesion and infection of nematodes by the endoparasitic fungus *Meria coniospora* (Deuteromycetes). **Applied and Environmental Microbiology**, 49 (3): 552-555.

JUNIPER, A. J. 1957. Dung as a source of predacious fungi. Transactions of the British Mycological Society, 40 (3): 346-348.

KAAYA, G. P.; MWANGI, E. N. & OUNA, E. A. 1996. Prospects for Biological Control of Livestock Ticks, *Rhipicephalus appendiculatus* and *Amblyomma variegatum*, Using the Entomogenous Fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*. **Journal of Invertebrate Pathology**, 67:15-20.

KOHER Jr., I. 1998. **Guia de controle de parasitas internos em animais domésticos**, Ed. Nobel. 111p.

LYSEK, G. & NORDBRING-HERTZ, B. 1981. Na endogenous rhythm of trap formation in the nematophagous fungus *Arthrobotrys oligospora*. **Planta**, 152: 50-53.

LARSEN, M. 1991. **Studies on the capability of microfungi to destroy animal parasitic nematodes.** Ph. D. Tesis. Copenhagen, Denmark – 127p.

LARSEN, M. & NANSEN, P. 1991. Ability of the *Pleurotus pulmonaris* to immobilise preparasitic nematode larvae. **Research in Veterinary Science**, **51**: 246-249.

LARSEN, M.; WOLSTRUP, J.; HENRIKSEN, S. A.; DACKMAN, C.; GRONVOLD, J. & NANSEN, P. 1991. *In vitro* stress selection of nematophagous fungi for biocontrol of preparasitic nematode larvae of ruminants. **Journal of Helminthology**, **65**: 193-200.

LARSEN M.; NANSEN, P.; GRONVOLD, J. WOLSTRUP, J. & HENRIKSEN, S. A. 1992. *In vivo* passage of nematophagous fungi selected for biocontrol of parasitic nematodes in ruminants. **Journal of Helminthology**, **66**: 137-141.

LARSEN M.; FAEDO, M. & WALLER, P. J. 1994. The potencial of nematophagous fungi to control the free-living stages of nematode parasites of sheep: survey for the presence of fungi in fresh faeces of graing livestock in Australia. **Veterinary Parasitology**, **53**: 275-281.

LARSEN M.; NANSEN, P.; HENRIKSEN, S. A.; WOLSTRUP, J.; GRONVOLD, J.; ZORN, A. & WEDO, E. 1995a. Predacious activity of the nematode-trapping fungus *Duddingtonia flagrans* against cythostome larvae in faeces after passage through the gastrointestinal tract of horses. **Veterinary Parasitology**, **60**: 315-320.

- LARSEN, M.; NANSEN, P.; WOLSTRUP, J.; GRØNVOLD, J.; HENRIKSEN, S. A. & ZORN, A. 1995b. Biological control of trichostrongyles in calves by the fungus *Duddingtonia flagrans* fed to animals under natural grazing conditions. **Veterinary Parasitology**, 60: 321-330.
- LARSEN, M.; NANSEN, P.; GRONDAHL, S. M.; THAMSBORG, S. M.; GRONVOLD, J.; WOLSTRUP, J.; HENRIKSEN, S. A. & MORAND, J. 1996. The capacity of the fungus *Duddingtonia flagrans* to prevent strongyle infections in foals on pasture. **Parasitology**, 113: 1-6.
- MANKAU, R. 1980. Biocontrol: fungi as nematode control agents. **Journal of Nematology**, 12 (4): 244-252.
- MANUELI, P. R.; WALLER, P. L.; FAEDO, M. & MAHOMMED, F. 1999. Biological control of nematode parasites of livestock in Fiji: screening of fresh dung of small ruminants for the presence of nematophagous fungi. **Veterinary Parasitology**, 81: 39-45.
- MENDOZA DE-GIVES, P.; ZAVALA-MEJIA, E.; QUIROZ-ROMERO, H.; HERRERA-RODRIGUES, D. & PERDOMO-ROLDAN, F. 1992. Interaction between the nematode-destroying fungus *Arthrobotrys robusta* (Hyphomycetales) and *Haemonchus contortus* infective larvae *in vitro*. **Veterinary Parasitology**, 41: 101-107.

- MENDOZA DE-GIVES, P & VASQUEZ-PRATS, V. M. 1994. Reduction of *Haemonchus contortus* infective larvae by three nematophagous fungi in sheep faecal cultures. *Veterinary Parasitology*, **55**: 197-203.
- MENDOZA DE-GIVES, P.; DAVIES, K.G.; CLARCK, S.J. & BEHNKE, J.M. 1999. Predatory behaviour of trapping fungi against *srf* mutants of *Caenorhabditis elegans* and different plant and animal parasitic nematodes. *Parasitology*, **119**(1): 95-104
- MONTEIRO, S. G. 1997. Avaliação da eficácia "in vitro" dos fungos *Beauveria bassiana* (BALSAMO) Vuillemin, 1912 e *Metarhizium Anisopliae* (METSCHNIKOFF, 1879) SOROKIN, 1883 sobre ovos e larvas do carrapato *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787). Tese de Mestrado. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 66p.
- MORGAN, M.; BEHNKE, J. M. LUCAS, J. A. & PEBERDY, J. F. 1997. In vitro assessment of influence of nutrition, temperature and larval density on trapping of the infective larvae of *Heligmosomoides polygyrus* by *Arthrobotrys oligospora*, *Duddingtonia flagrans* and *Monacrosporium megalosporum*. *Parasitology*, **115**: 303-310.

MOTA, M.; BEVILAQUA, C. M. L.; ARAÚJO, J. V. & ASSIS, L. M. 1999. Comparação da atividade predatória de fungos nematófagos das espécies *Arthrobotrys conoides* e *Monacrosporium thaumasium* sobre larvas infectantes de *Haemonchus contortus*. XI Seminário de Parasitologia Veterinária; Anais: Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária, pág. 152.

MWANGI, E. DIPEOLU, O. O.; NEWSON, R. M.; KAAYA, G. P. & HASSAN, S. M. 1991. Predators, parasitoids and pathogens of ticks: a review. **Biocontrol Science and Technology**, 1: 147-156.

MWANGI, E.; KAAYA, G. P.; ESSUMAN, S. & KIMONDO, M. G. 1995. Parasitism of *Amblyomma variegatum* by a Hymenopteran parasitoid in the laboratory, and some aspects of its basic biology. **Biological Control**, 4: 101-104.

NAVES, R. L. & CAMPOS, V. P. 1991. Ocorrência de fungos predadores de nematóides no sul de Minas Gerais e estudo da capacidade predatória e crescimento *in vitro* de alguns de seus isolados. **Nematologia Brasileira**, 15 152-162.

NANSEN, P.; GRØNVOLD, J.; HENRIKSEN, S. A. & WOLSTRUP, J. 1986. Predacious activity of the nematode-destroying fungus *Arthrobotrys oligospora*, on preparasitic larvae of *Cooperia oncophora* and on soil nematodes. **Proceedings of the Helminthological Society of Washington**, 53: 237-243.

- NANSEN, P.; GRØNVOLD, J.; HENRIKSEN, S. A. & WOLSTRUP, J. 1988. Interactions between the predacious fungus *Arthrobotrys oligospora* and third-stage larvae of a series of animal-parasitic nematodes. **Veterinary Parasitology**, **26**: 329-337.
- NORDBRING-HERTZ, B. 1977. Nematode induce morphogenesis in the predacious fungus *Arthrobotrys oligospora*. **Nematologica**, **23**: 443-451.
- NORDBRING-HERTZ, B. 1988. Nematophagous fungi: strategies for nematode exploitation and for survival. **Microbiological Sciences**, **5** (4): 108-116.
- OGBOURNE, C. P. 1972. Observations on free-living stages of strongylid nematodes of the horses. **Parasitology**, **64**: 461-477.
- OGBOURNE, C. P. & DUNCAN, J. L. 1985. "*Strongylus vulgaris*" in the horse: its biology and veterinary importance. Commonwealth Institute of Parasitology, 98p.
- OLTHOF, H. A. & ESTEY, R. H. 1965. Relation of some environmental factors to growth of several nematophagous hyphomycetes. **Canadian Journal of Microbiology**, **11**: 939-946.

PADILHA, T. & MENDOZA DE GIVES, P. Controle microbiano das formas de vida livre dos nematóides trichostrongilídeos: uma alternativa para higienização das pastagens. 215-235. In: PADILHA, T. 1996. **Controle dos nematódeos gastrointestinais em ruminantes**. EMBRAPA-CNPGL, 258p.

PANDEY, V. S. 1973. Predatory activity of nematode trapping fungi against the larvae of *Trichostrongylus axei* and *Ostertagia ostertagi*: a possible method of biological control. **Journal of Helminthology**, 47 (1): 35-48.

PARNELL, I. W. & GORDON, H. McL. 1963. Predaceous fungi: a possible method of biological control of parasitic of nematodes. **Journal of Helminthology**, 37 (4): 339-342.

PRAMER, D. 1964. Nematode-trapping fungi. An intriguing group of carnivorous plants inhabit the microbial world. **Science**, 144: 382-388.

PRAMER, D. & STOLL, N. R. 1959. Nemin: a morphogenic substance causing trap formation by predaceous fungi. **Science**, 129: 966-967.

PRYADKO, E. I. & OSIPOV, P. P. 1986. Trial of nematophagous fungi in fields conditions. **Biologicheskaya**, 1: 619:639.

RODRIGUES, M. L. A.; SOUTO MAIOR, M. P.; ANJOS, D. H. S. & OLIVEIRA, M. D.
1995. Comparação entre as técnicas de McMaster e Centrifugo flutuação para contagens de ovos de helmintos intestinais e eqüinos. **Revista Universidade Rural**, 17 (2): 101-102.

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

RODRIGUES, M. L. A.; CASTRO, A. A.; ANJOS, D. H. S.; OLIVEIRA, C. R. C.; ARAÚJO, M. M. & BITTENCOURT, V. R. E. P. 1998. Avaliação do fungo *Beauveria bassiana* sobre larvas de *Strongyloides papillosus* em coprocultura bovina. VI **Simpósio de Controle Biológico**. p121.

RODRIGUES, M. L. A.; BITTENCOURT, V. R. E. P.; CASTRO, A. A. & ANJOS, D. H. S. 1999. *In vitro* efficacy of fungus *Beauveria bassiana* (Hyphomycetes: Moniliaceae) to control development of infective cyathostome (Nematoda-Strongylidae) larvae from naturally infected horses. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, 21 (6): 130-

133.

RODRIGUES, M. L. A.; CASTRO, A. A.; ANJOS, D. H. S.; ARAÚJO, M. M.; OLIVEIRA, C. R. C.; BITTENCOURT, V. R. E. P. & ARAÚJO, J. V. 1999. Avaliação da capacidade predatória de *Monacrosporium thaumasium* (NF34a) sobre larvas infectantes de Cyathostominae (Observações preliminares). **XI Seminário de Parasitologia Veterinária; Anais: Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária**, pág. 164.

ROBERTS, F. H. S. & O'SULLIVAN, P. J. 1950. Methods for egg counts and larval cultures for *Strongyles* infesting the gastro-intestinal tract of cattle. **Australian Journal Agricultural Research**, 1: 95-102.

ROUBAUD, E. & DESCHIENS, R. 1939. Essais relatifs à la prophylaxie de l'anguillulose du mouton par l'usage des Hyphomycètes prédateurs du sol. **Société de Biologie**, 687-690.

ROUBAUD, E. & DESCHIENS, R. 1941. Action des Hyphomycètes prédateurs sur les larves de synthétocauls et du Bunostomes. **Bulletin de la Société de Pathologie Exotique** (4-7): 127-130.

SANTOS, M. A.; FERRAZ, S. & MUCHOVEJ, J. J. 1991. Detection and ecology of nematophagous fungi from Brazilian soils. **Nematologica Brasileira**, 15 (2): 121-134.

- SANTOS, C. P. & CHARLES, T. P. 1995. Efeito da aplicação de conídios de *Drechmeria coniospora* em cultivos de fezes contendo ovos de *Haemonchus contortus*. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, 47 (2):123-129.
- SANTOS, C. P.; CHARLES, T. P. & RODRIGUES, M. L. A. 1999. Predatory activity of *Arthrobotrys oligospora* e *Duddingtonia flagrans* on larval stages pre-paarasitic of cyathostominae nematodes under different constant temperatures. **Veterinary Parasitology** (no prelo).
- SAUMELL, C. A.; PADILHA, T.; SANTOS, C. P. & ROQUE, M. V. C. 1999. Nematophagous fungi in fresh feces of cattle in the mata region of Minas Gerais state, Brazil. **Veterinary Parasitology**, 82: 217-220.
- SCHENCK, S.; KENDRICK, W. B. & PRAMER, D. 1977. A new nematode-trapping hyphomycete and a reevaluation of *Dactylaria* and *Arthrobotrys*. **Canadian Journal of Botany**, 55: 977-985.
- SHEPHERD, A. M. 1961. Nematode-trapping fungi in Danish agricultural soil. **Horticultura**, 15: 94-96.
- SIEGAL, S. 1975. **Estatística não paramétrica para ciências do comportamento**. Ed McGraw-Hill do Brasil Ltda. 350p.

- SOULSBY, E.J.L. 1987. **Parasitología y enfermedades parasitarias en los animales domésticos**. Ed. Interamericana, 7 ed. 805p.
- UENO, H. & GONÇALVES, P. C. 1998. **Manual para diagnóstico das helmintoses de ruminantes**. Japan International Cooperation Agency, 4 ed., 142p.
- WALLER, P. J. 1993. Nematophagous fungi: prospective biological control agents of animal parasitic nematodes? *Parasitology Today*, 9 (11): 429-431.
- WALLER, P. J. 1997. Biological control of helminths. **Workshop held at the 16th conference of the world association for the advancement of Veterinary parasitology**. 14-19.
- WALLER, P. J. & FAEDO, M. 1993. The potencial of nematophagous fungi to control the free-living stages of nematode parasites of sheep: screening studies. *Veterinary Parasitology*, 49: 285-297.
- WALLER, P. J. & LARSEN, M. 1993. The role of nematophagous fungi in the biological control of nematode parasites of livestock. *International Journal for Parasitology*, 23 (4): 539-546.
- WALLER, P. J., LARSEN, M., FAEDO, M. & HENNESSY, D. R. 1994. The potencial of nematophagous fungi to control the free-living stages of nematode parasites of sheep: *in vitro* and *in vivo* studies. *Veterinary Parasitology*, 51: 289-299.

WOLSTRUP, J.; GRØNVOLD, J.; HENRIKSEN, S. A.; NANSEN, P.; LARSEM, M.;

BOGH, H. ° & ILSOE, B. 1994. An attempt to implement the nematode-trapping fungus

Duddingtonia flagrans in biological control of trichostrongyle infections of first year

grazing calves. **Journal of Helminthology**, 68: 175-180.

ZAR, J. H. 1998. **Biostatistical Analysis**. New Jersey . 620p.

ANEXO:

Produção Científica

TRABALHOS PUBLICADOS

RODRIGUES, M. L. A.; BITTENCOURT, V. R. E. P.; ANJOS, D. H. S. &

CASTRO, A. A. 1996. Efeito do fungo *Metarhizium anisopliae* sobre os estádios pré-parasíticos de Cyathostominae (Nematoda-Strongylidae). *Ciência Rural*, 26 (2): 301-303.

SOUTO-MAIOR, M. P.; RODRIGUES, M. L. A.; ANJOS, D. H. S. & CASTRO,

A. A. 1997. Estudo morfométrico de formas larvares de *Strongylus vulgaris*. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 6 (1): 45-47.

ANJOS, D. H. S.; RODRIGUES, M. L. A.; SOUTO-MAIOR, M. P. & CASTRO, A. A. 1997. Prevalência, intensidade média e densidade relativa dos ciatostomíneos (Cyathostominae-Strongylidae) do cólon dorsal de eqüinos. *Parasitol al Dia*, 21: 133-135.

SOUTO-MAIOR, M. P.; RODRIGUES, M. L. A.; ANJOS, D. H. S.; ANDRADE, A. A. & LUQUE, J. L. 1999. Estrutura das infracomunidades de nematóides estrongilídeos (Nematoda: Strongylidae) do ceco de *Equus caballus* naturalmente infectados, provenientes da região metropolitana do Rio de Janeiro, Brasil. *Parasitol al Dia*, 23: 24-32.

RODRIGUES, M. L. A.; BITTENCOURT, V. R. E. P.; CASTRO, A. A. & ANJOS, D. H. S. 1999. *In vitro* efficacy of the fungus *Beauveria bassiana* (Hyphomycetes: Moniliaceae) to control the development of infective cyathostome (Nematoda: Strongylidae) larvae from naturally infected horses. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, 21 (6): 130-133.

TRABALHOS EM FASE DE REDAÇÃO

RODRIGUES, M. L. A.; CASTRO, A. A.; ANJOS, D. H. S.; OLIVEIRA, C. R. C.

& BITTENCOURT, V. R. E. P. Avaliação dos fungos *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana* (Deuteromycotina: Moniliaceae) sobre *Strongyloides papillosus* (Nematoda: Strongyloididae) em coproculturas.

CASTRO, A. A.; RODRIGUES, M. L. A.; ANJOS, D. H. S.; OLIVEIRA, C. R.

C.; BITTENCOURT, V. R. E. P & ARAÚJO, J. V. Redução do número de larvas de Cyathostominae em fezes de equinos tratadas com conídios de *Monacrosporium thaumasium* (NF34a).

TRABALHOS APRESENTADOS EM CONGRESSOS, JORNADAS E SEMANAS

RODRIGUES, M. L. A.; BITTENCOURT, V. R. E. P.; ANJOS, D. H. S. &

CASTRO, A. A. Efeito do fungo *Metarhizim anisopliae* sobre os estádios pré-parasíticos de Cyathostominae (Nematoda – Strongylidae). IX SEMINÁRIO

BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA Campo grande, MS. Período: 11 a 15/09/1995.

RODRIGUES, M. L. A.; SOUTO MAIOR, M. P.; ANJOS, D. H. S. & CASTRO,

A. A. "Prevalência e intensidade de infecção por nematóides strongilídeos (Nematoda – Strongylidae) em eqüídeos na Baixada Fluminense, RJ – Resultados Preliminares" V JORNADA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA; VII SEMINÁRIO BIENAL DE PESQUISA UFRRJ. Período: 28 a 30/11/1995.

RODRIGUES, M. L. A.; BITTENCOURT, V. R. E. P.; CASTRO, A. A. &

ANJOS, D. H. S. "Avaliação do fungo *Beauveria bassiana* sobre os estádios pré-parasíticos de Cyathostominae (Nematoda-Strongylidae) (Observações Preliminares)." VI JORNADA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA Período: 19 a 21/11/1996.

RODRIGUES, M. L. A.; BITTENCOURT, V. R. E. P.; CASTRO, A. A. &

ANJOS, D. H. S. "Avaliação a campo dos fungos *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana* sobre os estagios pre-parasiticos de ciatostomíneos (Nematoda-Strongylidae)" X SEMINÁRIO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA Itapema, SC. Período: 05 a 09/10/1997.

RODRIGUES, M. L. A.; BITTENCOURT, V. R. E. P.; CASTRO, A. A. &

ANJOS, D. H. S. "Ação do fungo *Beauveria bassiana* (Hyphomycetes: Moniliaceae) sobre larvas de ciatostomíneos (Nematoda-Strongylidae) em coproculturas". X SEMINÁRIO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA Itapema, SC. Período: 05 a 09/10/1997.

SOUTO MAIOR, M. P.; RODRIGUES, M. L. A.; ANJOS, D. H. S. & CASTRO,

A. A. "Helmintofauna do ceco de eqüídeos naturalmente infectados provenientes da Região Metropolitana do Rio de Janeiro". X SEMINÁRIO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA Itapema, SC. Período: 05 a 09/10/1997.

ANJOS, D. H. S.; RODRIGUES, M. L. A.; SOUTO MAIOR, M. P. & CASTRO,

A. A. "Prevalência, intensidade média e densidade relativa dos nematóides do cólon dorsal de eqüídeos naturalmente infectados na Região Metropolitana do Rio de Janeiro". X SEMINÁRIO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA Itapema, SC. Período: 05 a 09/10/1997.

RODRIGUES, M. L. A.; CASTRO, A. A.; BITTENCOURT, V. R. E. P.; &

ANJOS, D. H. S. "Avaliação a campo dos fungos *Metarhizium anisopliae* e *Beauveria bassiana* sobre os estágios pré-parasíticos de ciatostomíneos (Nematoda-Strongylidae)". VII JORNADA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA Seropédica, RJ. Período: 25 a 27/11/1997.

CASTRO, A. A.; RODRIGUES, M. L. A.; BITTENCOURT, V. R. E. P.; &

ANJOS, D. H. S. "Ação do fungo *Beauveria bassiana* (Hyphomycetes: Moniliaceae) sobre larvas de ciatostomíneos (Nematoda-Strongylidae) em coproculturas". VII JORNADA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA Seropédica, RJ. Período: 25 a 27/11/1997.

SOUTO MAIOR, M. P.; RODRIGUES, M. L. A.; ANJOS, D. H. S. & CASTRO,

A. A. "Helmintofauna do ceco de eqüídeos naturalmente infectados provenientes da Região Metropolitana do Rio de Janeiro". VII JORNADA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA Seropédica, RJ. Período: 25 a 27/11/1997.

ANJOS, D. H. S.; RODRIGUES, M. L. A.; SOUTO MAIOR, M. P. & CASTRO, A. A. "Prevalência, intensidade média e densidade relativa dos nematóides do cólon dorsal de eqüídeos naturalmente infectados na Região Metropolitana do Rio de Janeiro". VII JORNADA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA Seropédica, RJ. Período: 25 a 27/11/1997.

CASTRO, A. A.; RODRIGUES, M. L. A.; ANJOS, D. H. S.; BITTENCOURT, V. R. E. P.; & OLIVEIRA, C. R. C. "Avaliação do fungo *Metarhizium anisopliae* sobre larvas de *Strongyloides papillosus* em coprocultura de bovinos". VI SIMPÓSIO DE CONTROLE BIOLÓGICO Rio de Janeiro, RJ. Período: 24 a 28/05/1998.

RODRIGUES, M. L. A.; CASTRO, A. A.; BITTENCOURT, V. R. E. P.; & ANJOS, D. H. S. "Avaliação do fungo *Beauveria bassiana* sobre larvas de *Strongyloides papillosus* em coprocultura de bovinos". VI SIMPÓSIO DE CONTROLE BIOLÓGICO Rio de Janeiro, RJ. Período: 24 a 28/05/1998.

CASTRO, A. A.; RODRIGUES, M. L. A.; ANJOS, D. H. S.; BITTENCOURT, V. R. E. P.; & OLIVEIRA, C. R. C. "Avaliação do fungo *Metarhizium anisopliae* sobre larvas de *Strongyloides papillosus* em coprocultura de bovinos". VIII JORNADA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA Período: 25 a 27/11/1998.

RODRIGUES, M. L. A.; CASTRO, A. A.; BITTENCOURT, V. R. E. P.; &

ANJOS, D. H. S. "Avaliação do fungo *Beauveria bassiana* sobre larvas de *Strongyloides papillosus* em coprocultura de bovinos". VIII JORNADA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA Período: 25 a 27/11/1998.

CASTRO, A. A.; RODRIGUES, M. L. A.; ANJOS, D. H. S.; OLIVEIRA, C. R.

C.; BITTENCOURT, V. R. E. P.; & ARAÚJO, J. V. "Avaliação do fungo *Monacrosporium thaumasium* (Isolado-NF34a) sobre as fases pré-parasíticas de Cyathostominae (Nematoda-Strongylidae) em coproculturas". XI SEMINÁRIO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA. Salvador, BA. Período: 24 a 28/10/1999.

RODRIGUES, M. L. A.; CASTRO, A. A.; ANJOS, D. H. S.; OLIVEIRA, C. R.

C.; BITTENCOURT, V. R. E. P.; & ARAÚJO, J. V. "Avaliação da capacidade predatória de *Monacrosporium thaumasium* (NF34a) sobre larvas infectantes de Cyathostominae (Observações preliminares)". XI SEMINÁRIO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA. Salvador, BA. Período: 24 a 28/10/1999.

SOUTO MAIOR, M. P.; RODRIGUES, M. L. A.; ANJOS, D. H. S. & CASTRO,

A. A. "Estruturas das infracomunidades de nematóides strongilídeos (Nematoda: Strongylidae) do ceco de *Equus caballus* naturalmente infectados, provenientes da região metropolitana do Estado do Rio de Janeiro, Brasil." XI SEMINÁRIO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA. Salvador, BA. Período: 24 a 28/10/1999.

RODRIGUES, M. L. A.; ANJOS, D. H. S.; SOUTO MAIOR, M. P. & CASTRO,

A. A. "Associações interespecíficas de nematóides strongilídeos (Nematoda: Strongylidae) do cólon dorsal de *Equus caballus* naturalmente infectados, provenientes da Região Metropolitana do Estado do Rio de Janeiro." XI SEMINÁRIO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA. Salvador, BA. Período: 24 a 28/10/1999.

ANJOS, D. H. S.; RODRIGUES, M. L. A.; SOUTO MAIOR, M. P. & CASTRO,

A. A. "Prevalência e diversidade parasitária dos nematóides strongilídeos (Nematoda: Strongylidae) das infracomunidades do cólon dorsal de *Equus caballus* naturalmente infectados, provenientes da Região Metropolitana." XI SEMINÁRIO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA. Salvador, BA. Período: 24 a 28/10/1999.

RODRIGUES, M. L. A.; CASTRO, A. A.; ANJOS, D. H. S.; OLIVEIRA, C. R. C.; BITTENCOURT, V. R. E. P.; & ARAÚJO, J. V. "Avaliação da capacidade predatória de *Monacrosporium thaumasium* (NF34a) sobre larvas infectantes de Cyathostominae (Observações preliminares)". IX JORNADA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA UFRRJ. RJ. Período: 25 a 27/11/1999.

CASTRO, A. A.; RODRIGUES, M. L. A.; ANJOS, D. H. S.; OLIVEIRA, C. R. C.; BITTENCOURT, V. R. E. P.; & ARAÚJO, J. V. "Avaliação da capacidade predatória de *Arthrobotrys robusta* (I-35) sobre larvas infectantes de Cyathostominae (Observações preliminares)". IX JORNADA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA UFRRJ. RJ. Período: 25 a 27/11/1999.