

ANDERSON SILVA DIAS

**CONTROLE BIOLÓGICO DE NEMATODIOSES GASTRINTESTINAIS DE
BOVINOS COM O FUNGO PREDADOR DE NEMATÓIDES *Duddingtonia flagrans*
NA REGIÃO DE VIÇOSA-MINAS GERAIS**

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

VIÇOSA-MG
MINAS GERAIS – BRASIL
2006

ANDERSON SILVA DIAS

**CONTROLE BIOLÓGICO DE NEMATODIOSES GASTRINTESTINAIS DE
BOVINOS COM O FUNGO PREDADOR DE NEMATÓIDES *Duddingtonia flagrans*
NA REGIÃO DE VIÇOSA-MINAS GERAIS**

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

APROVADA: 23 de março de 2006

Prof. Marcos P. Guimarães

Prof. Walter dos Santos Lima

Prof. Pacífico Antônio Diniz Belém

Prof. José Dantas Ribeiro Filho

Prof. Jackson Victor de Araújo
(Orientador)

A Deus

Aos meus pais, José Marcelino e Maria Lúcia.

Aos meus irmãos, Adriano, Andréa, Aline, Andrezlane e Andris.

À minha namorada, Sandra Helena.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela companhia, amor e ajuda.

Aos meus pais, José Marcelino Dias e Maria Lúcia Silva Dias, pelo apoio e grande incentivo financeiro.

Aos meus irmãos Adriano e Andris pelo apoio moral, técnico e financeiro.

Às minhas irmãs Andréa, Aline e Andrezlane, pelo apoio moral e carinho.

À minha namorada pelo apoio nas horas de maiores dificuldades.

À Universidade Federal de Viçosa e ao Departamento de Medicina Veterinária pelo apoio financeiro e estrutural.

Ao Professor Jackson Victor de Araújo pelo apoio, pela orientação e conselhos.

Ao Conselheiro Professor Joaquim Hernan Patarroyo Salcedo pelo estímulo, pelos ensinamentos, pela disponibilidade incansável e pela contribuição para minha formação.

Ao Professor Leandro Grassi de Freitas, por disponibilizar seus préstimos e pelas aulas.

À professora Marlene, pelo incentivo, pelo ensino e por estimular esta caminhada.

À professora Maria Cristina, pelo incentivo quando da inserção no programa.

Aos amigos e colegas de laboratório, Artur pelo apoio logístico e pelas orientações e opiniões, Fábio, Taís, Bruna e Thiago pela ajuda e apoio.

Aos funcionários José Geraldo, pelo incansável apoio logístico e pela experiência passada durante o convívio e Ademir por sempre estar disposto a ajudar-me.

À secretária da Pós-Graduação do Departamento de Veterinária, Rosinéia (Rose) Aparecida Cunha, que sempre me atendeu com boa vontade e bom humor.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Tecnológico e Científico (CNPq) e à Fundação de Apoio de Amparo a Pesquisa de Minas Gerais (FAPEMIG) pelo apoio financeiro a essa dissertação.

BIOGRAFIA

Anderson Silva Dias, filho de José Marcelino Dias e Maria Lúcia Silva Dias, nasceu em 10 de abril de 1979, em Coronel Fabriciano, Minas Gerais.

Em 29 de Janeiro de 2004, graduou-se em Medicina Veterinária pela Universidade Federal de Viçosa.

Em 5 de março de 2004, iniciou o curso de Mestrado em Medicina Veterinária pelo Departamento de Veterinária da mesma instituição.

ÍNDICE

LISTAS DE TABELAS.....	viii
LISTAS DE GRÁFICOS.....	xi
RESUMO.....	xiv
ABSTRACT.....	xvi
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	3
3. OBJETIVOS.....	11
4. HIPÓTESE.....	12
5. MATERIAIS E MÉTODOS.....	13
5.1. Obtenção de organismos.....	13
5.2. Ensaio experimental <i>in vivo</i>	14
5.3. Análises estatísticas.....	16
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	18
6.1. Ovos por gramas de fezes (OPG), técnica de Gordon & Whitlock (1939) modificada por Lima (1989).....	18
6.2. Obtenção de contagem de ovos por gramas de fezes pela técnica de Wisconsin de Cox & Todd (1962) modificada por Ito (1980).....	21

6.3. Coprocultura das amostras coletadas dos animais.....	22
6.4. Pastagem.....	25
6.4.1. Amostras até 20 cm do bolo fecal.....	27
6.4.2. Amostras coletadas entre 20 e 40 cm do bolo fecal.....	32
6.4.3. Análise geral.....	28
6.5. Peso dos animais.....	32
6.6. Correlação entre as variáveis quantitativas.....	33
6.7. Parâmetros climáticos.....	34
7. CONCLUSÕES.....	36
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	37
9. ANEXOS.....	50
9.1. Encapsulamento de microorganismos.....	50
9.2. Tabelas.....	51

LISTAS DE TABELAS

	Página
Tabela 1 – Valores médios do número de larvas recuperadas da coprocultura dos animais dos grupos controle e tratado com o fungo nematófago <i>D. flagrans</i> , coletadas no período de março a setembro de 2005, em Viçosa, Minas Gerais.	25
Tabela 2 – Análise de variância do número de ovos por gramas de fezes (OPG), obtidos pela técnica de Gordon & Withlock (1939), modificada por Lima (1989), encontrados nos animais dos grupos controle e tratado com o fungo nematófago <i>D. flagrans</i> , coletados no período de março a setembro de 2005, em Viçosa, Minas Gerais.	51
Tabela 3 – Valores médios mensais das contagens de ovos por gramas de fezes (OPG) obtidos pela técnica de Gordon & Withlock (1939), modificada por Lima (1989), nos animais do grupo controle e do grupo tratado com o fungo nematófago <i>D. flagrans</i> , coletadas no período de março a setembro de 2005, em Viçosa, Minas Gerais.	52
Tabela 4 – Análise de variância do número de ovos por gramas obtidos pela técnica de Wisconsin de Cox & Todd (1962), modificado por Ito (1980), encontrados nos animais dos grupos controle e tratado com o fungo nematófago <i>D. flagrans</i> , coletados no período de março a setembro de 2005, em Viçosa, Minas Gerais.	52

Tabela 5 – Valores médios mensais das contagens de ovos por gramas de fezes, obtidos pelo método Wisconsin de Cox & Todd (1962), modificado por Ito (1980), nos animais do grupo controle e do grupo tratado com o fungo nematófago *D. flagrans*, coletadas no período de março a setembro de 2005, em Viçosa, Minas Gerais. 53

Tabela 6 – Valores médios mensais das contagens de ovos por gramas de fezes (OPG) recuperados na coprocultura dos animais dos grupos controle e tratado com o fungo nematófago *D. flagrans*, coletadas no período de março a setembro de 2005, em Viçosa, Minas Gerais. 53

Tabela 7 – Valores médios mensais das contagens de ovos por gramas de fezes, obtidos pelo método Wisconsin de Cox & Todd (1962), modificado por Ito (1980), recuperados na coprocultura dos animais dos grupos controle e tratado com o fungo nematófago *D. flagrans*, coletadas no período de março a setembro de 2005, em Viçosa, Minas Gerais. 54

Tabela 8 – Análise de variância do número de larvas infectantes da Superfamília Strongyloidea recuperadas das pastagens nos grupos controle e tratado com o fungo nematófago *D. flagrans*, coletadas em amostras de pasto até 20 cm e entre 20 a 40 cm de distância do bolo fecal, realizadas no período de março a setembro de 2005, em Viçosa, Minas Gerais. 54

Tabela 9 – Valores médios mensais das contagens do número de larvas infectantes da Superfamília Strongyloidea recuperadas das pastagens nos grupos controle e tratado com o fungo nematófago *D. flagrans*, coletadas em amostras de pastagem até 20 cm e entre 20 a 40 cm de distância do bolo fecal, realizadas no período de março a setembro de 2005, em Viçosa, Minas Gerais. 55

Tabela 10 – Valores médios mensais dos números de larvas infectantes da superfamília Strongyloidea divididas em amostras de pastagem até 20 cm e entre 20 e 40 cm de distância do bolo fecal dos grupos controle e tratado com o fungo nematófago *D. flagrans*, divididas por gênero, coletadas no período de março a setembro de 2005, em Viçosa, Minas Gerais. 56

- Tabela 11 – Valores médios do número de larvas recuperadas dos pastos dos animais dos grupos controle e tratado com o fungo nematófago *D. flagrans*, coletadas de 20 cm e entre 20 e 40 cm de distância do bolo fecal, no período de março a setembro de 2005, em Viçosa, Minas Gerais. 57
- Tabela 12 – Análise de variância das médias mensais de peso dos animais dos grupos controle e tratado com o fungo nematófago *D. flagrans*, medidos durante o período de março a setembro de 2005, em Viçosa, Minas Gerais. 57
- Tabela 13 – Média de peso mensal (kg) dos animais dos grupos controle e tratado com o fungo predador *Duddingtonia flagrans*, em Viçosa-MG, no período de março a setembro de 2005. 58
- Tabela 14 – Valores médios mensais dos pesos dos animais dos grupos controle e tratado com o fungo nematófago *D. flagrans*, medidos durante o período de março a setembro de 2005, em Viçosa, Minas Gerais. 58
- Tabela 15 – Valores dos coeficientes de correlação (r), no grupo controle, para ovos por gramas de fezes (OPG) versus Wisconsin modificado (WM), ovos por gramas de fezes (OPG) versus larvas recuperadas das pastagens e Wisconsin modificado versus larvas recuperadas das pastagens (LRP), dos dados coletados no período de março a setembro de 2005, em Viçosa, Minas Gerais. 59
- Tabela 16 – Valores dos coeficientes de correlação (r), no grupo tratado com o fungo nematófago *D. flagrans*, para ovos por gramas de fezes (OPG) e Wisconsin modificado (WM), ovos por gramas de fezes (OPG) versus larvas recuperadas das pastagens e Wisconsin modificado versus larvas recuperadas das pastagens (LRP), dos dados coletados no período de março a setembro de 2005, em Viçosa, Minas Gerais. 59

LISTAS DE GRÁFICOS

	Página
Gráfico 1 – Valores médios mensais das contagens de ovos de helmintos da superfamília Strongyloidea por gramas de fezes obtidos pela técnica de Gordon & Whitlock, 1939, modificada por Lima, 1989 (OPG), de bezerros do grupo controle e do grupo tratado com o fungo nematófago <i>Duddingtonia flagrans</i> , coletados no período de março a setembro de 2005, em Viçosa, Minas Gerais.	19
Gráfico 2 – Valores médios mensais das contagens de ovos de helmintos da superfamília Strongyloidea por gramas de fezes de bezerros dos grupos controle e tratado com o fungo nematófago <i>D. flagrans</i> obtidos pela técnica de Wisconsin de Cox & Todd (1962), modificada por Ito (1980), coletados no período de março a setembro de 2005, em Viçosa, Minas Gerais.	21
Gráfico 3 – Valores médios mensais das contagens de ovos de helmintos da superfamília Strongyloidea recuperados de cultura fecal por gramas de fezes obtidos pela técnica de Gordon & Whitlock, 1939, modificada por Lima, 1989 (OPG), de bezerros dos grupos controle e tratado com o fungo nematófago <i>D. flagrans</i> , coletados no período de março a setembro de 2005, em Viçosa, Minas Gerais.	23
Gráfico 4 – Valores médios mensais da contagem de ovos de nematóides por grama de fezes obtidas pela técnica de Wisconsin de Cox & Todd, 1962, modificada por Ito, 1980 (Wisconsin modificado), recuperados da coprocultura dos bezerros dos grupos controle e tratado com o fungo nematófago <i>D. flagrans</i> , coletados no período de março a setembro de 2005, em Viçosa, Minas Gerais.	24

Gráfico 5 – Contagem mensal das larvas infectantes (L3) de nematóides por kg de matéria seca de pastagem obtidas nos pastos dos grupos controle e tratado com o fungo nematófago *D. flagrans*, em amostras adquiridas até 20 cm de distância do bolo fecal, coletados no período de março a setembro de 2005, em Viçosa, Minas Gerais. 26

Gráfico 6 – Contagem mensal de larvas infectantes (L3) de nematóides por kg de matéria seca de pastagem obtidas nos pastos dos grupos controle e tratado com o fungo nematófago *D. flagrans*, em amostras adquiridas entre 20 e 40 cm de distância do bolo fecal, coletados no período de março a setembro de 2005, em Viçosa, Minas Gerais. 28

Gráfico 7 – Contagem de larvas de infectantes de nematóides por kg de matéria seca de pastagem obtidas nos pastos dos grupos controle e tratado com o fungo nematófago *D. flagrans*, em amostras adquiridas até 20 cm e entre 20 e 40 cm do bolo fecal, coletados no período de março a setembro de 2005, em Viçosa, Minas Gerais. 30

Gráfico 8 – Percentual de larvas infectantes de nematóides por kg de matéria seca de pastagem obtidas nos pastos dos grupos controle e tratado com o fungo nematófago *D. flagrans*, em amostras adquiridas até 20 cm e entre 20 e 40 cm do bolo fecal, coletados no período de março a setembro de 2005, em Viçosa, Minas Gerais. 31

Gráfico 9 – Média mensal de peso (kg) dos animais do grupo controle e do grupo tratado com o fungo predador *Duddingtonia flagrans*, em Viçosa-MG, no período de março a setembro de 2005.

33

Gráfico 10 – Temperatura média mensal; mínima, média e máxima, umidade relativa do ar (%) e precipitação pluvial total mensal (mm³) registradas no período de março a setembro de 2005, em Viçosa, Minas Gerais. 35

RESUMO

DIAS, Anderson Silva, M.S., Universidade Federal de Viçosa, Março de 2006. **Controle biológico de nematodioses gastrintestinais de bovinos com o fungo predador de nematóides *Duddingtonia flagrans* na região de Viçosa - Minas Gerais.** Orientador: Jackson Victor de Araújo. Conselheiros: Joaquim Hernan Patarroyo Salcedo e Leandro Grassi de Freitas.

A viabilidade de uma formulação de fungo nematófago *Duddingtonia flagrans* foi avaliada no controle biológico de nematóides parasitos gastrintestinais de bovinos. Dois grupos de oito bezerros cada, mestiços Holandês-zebu foram colocados em duas pastagens de *Brachiaria decumbens* de 4 hectares cada. O experimento foi realizado no período de março a setembro de 2005. No grupo controle (A), os animais receberam 20 gramas de péletes sem fungo; no grupo tratado (B), os animais receberam 20 gramas de péletes com o fungo *D. flagrans* via oral. As contagens de larvas infectantes encontradas na pastagem B, coletadas até 20 centímetros de distância do bolo fecal, foram significativamente menores ($P < 0,01$) que na pastagem A (até 20 cm), sendo que houve redução no número de larvas recuperadas nas pastagens de 53, 71, 65 e 85 %, respectivamente nos meses de abril, julho, agosto e setembro do grupo tratado em relação ao controle. sendo que o gênero *Cooperia* foi o mais prevalente (59,96 %). As médias mensais de peso foram maiores significativamente no grupo B ($P < 0,05$), sendo que houve diferença no ganho de peso entre os grupos tratado e controle nos meses de junho, julho, agosto e setembro de 21, 13, 8,5 e 20 %. As contagens de ovos por

gramas de fezes (OPG) foram obtidas pelas técnicas de Gordon & Whitlock, modificada por Lima e de Wisconsin, de Cox & Todd, modificada por Ito e apresentaram diferenças para valores de contagens de ovos por gramas entre grupo tratado e controle ($P < 0,05$). Foi observada redução significativa nos valores da contagem no grupo tratado obtidos pela técnica de Gordon & Whitlock nos meses de maio, junho, julho e agosto de 35, 46, 36 e 30 % respectivamente e redução não significativa no mês de setembro de 26 %. E os dados obtidos pela técnica de Wisconsin houve redução significativa nos meses de junho, julho e agosto respectivos de 58, 47 e 51 % no grupo tratado em relação ao controle e redução não significativa nos meses de maio (26 %) e setembro (25 %). Pode se concluir que a aplicação de péletes de alginato de sódio contendo o fungo nematófago *D. flagrans* é efetiva no controle de larvas infectantes de bovinos.

ABSTRACT

DIAS, Anderson Silva, M.S., Universidade Federal de Viçosa, March of 2006. **Biological control of cattle gastrointestinal nematodiosis with nematophagous fungi *Duddingtonia flagrans* in the region Viçosa - Minas Gerais State, Brazil.** Adviser: Jackson Victor de Araújo. Committee members: Joaquim Hernan Patarroyo Salcedo and Leandro Grassi de Freitas.

The viability of the formulation with nematophagous fungi *D. flagrans* was evaluated in the biological control of cattle gastrointestinal nematodes. Two groups, with eight Holstein-zebu calves each, it was placed in two lots grazed with *Brachiaria decumbens* on four hectare each one. The experiment started in March of 2005 and turn off in September of 2005. In the control group (A), each animal received 20 grams without fungus of the pellets; in the treated group (B), the animals received 20 grams of with *D. flagrans* fungus pellets. The counting of the infective larvae recovered in the paddock of the group B, it harvested until 20 centimeters of the distance in the dung pats, it was lower than in the plot A ($P < 0.01$) harvested until 20 centimeters in the distance in the dung pat), there was significative reduction in the larvae recovered in the pasture in 53, 71, 65 e 85 %, respectably, in the April, July, August and September months. The genera *Cooperia* was the most prevalence (59.9 %). The monthly averages of the weight were bigger in the group B ($P < 0.05$), there was difference between the group B and A in relation in profit weight, in June, July, August and September in de 21, 13, 8,5 e 20 %, respectably. The accountings of the egg per grams of the feces were obtained by

the of the Gordon & Whitlock; modified by Lima, and of the Wisconsin of the Cox & Todd, for dairy cattle, modified by Ito techniques and they present differences in the value of the eggs per grams counts for control and treated group ($P < 0.05$). It was observed significative reduction in the count eggs obtained by Gordon & Whitlock technique in May, June, July and August months in treated group in the 35, 46, 36 e 30 % , respectably e do not significative reduction in September (26 %). By Wisconsin modified technique, it there were difference in the June, July and August months in 58, 47 e 51 %, in the treated group, in relation in the control group and do not significative reduction in May (26 %) and September (25 %). It can to conclude that the application of the sodium alginate pellets with nematophagous fungus *D. flagrans* is effective in the control of the infective larvae of the bovine.

1. INTRODUÇÃO

As parasitoses gastrintestinais constituem um importante fator responsável por perdas na pecuária representado, principalmente, por retardo na produção, custos com tratamento e prevenção e até mortalidade no plantel (Macrae, 1993; Mota et al. 2003).

O conhecimento sobre a epidemiologia dos parasitos e suas interações com os hospedeiros em um determinado ambiente e sistema de produção são os requisitos mais importantes para estabelecer um controle efetivo. A falta destas informações pode levar à utilização inadequada de anti-helmínticos devido à possibilidade de rápido desenvolvimento de resistência e conseqüente aumento no número de casos clínicos e perdas econômicas (Araújo et al., 2004b).

O emprego de fungos nematófagos tem apresentado uma oportunidade de controle dos estágios de vida livre dos nematóides nas pastagens, reduzindo em grande parte as reinfecções e contribuindo para o controle das parasitoses (Grönvold et al, 1996b; Larsen, 2000; Knox & Faedo, 2001; Waller et al, 2004; Graminha et al. 2005).

Os problemas relacionados à resistência aos anti-helmínticos e sua ecotoxicidade enfatizam a necessidade de serem implementados programas integrados de controle parasitário, que assegurem saúde e segurança aos organismos vivos, por meio de tratamentos estratégicos baseados na epidemiologia, eliminação de vermífugações desnecessárias,

utilização de pastoreio alternado e higienização de pastagens. Além disso, deve ser evitado o uso continuado de uma mesma classe de anti-helmíntico, assim como a rápida rotação de compostos e a utilização de doses inferiores às recomendadas devido à maior propensão ao desenvolvimento de resistência e a menor eficiência observada pela prática dessas medidas (Mota et al., 2003). Além disso, segundo Peña et al. (2002), o problema de resistência está presente em todas as classes anti-helmínticas usadas para controle de nematóides.

Atualmente, pesquisadores de todo mundo buscam medidas alternativas para o controle das endoparasitoses dos bovinos, visando a diminuição do emprego de quimioterápicos com o objetivo de reduzir os níveis de poluição no ambiente e de resíduos nos produtos de origem animal (Alves, 1986).

Outros fatores importantes a serem considerados dizem respeito ao atual processo de globalização econômica e ao conseqüente aumento de disputas pelos mercados consumidores. Esses fatores têm levado gradualmente à exigência de produtos de melhor qualidade, livres de resíduos químicos, tanto nos produtos a serem consumidos, como também no ambiente em que são produzidos, ditando em muitas situações, o sucesso ou não no momento da comercialização. Portanto, pode-se afirmar que existe a necessidade de desenvolvimento de medidas de controle das helmintoses alternativas ao emprego maciço de quimioterápicos, que até o momento despontam como meio de controle realmente eficaz (Graminha, 2004).

2. REVISÃO DE LITERATURA

No sudeste do Brasil, *Cooperia* e *Haemonchus* são os gêneros mais prevalentes de nematóides gastrintestinais de bovinos, seguido pelo gênero *Oesophagostomum* (Guimarães, 1971 e 1977; Leite et al., 1981; Furlong et al, 1985, Araújo et al., 1998).

Honer (1991) afirmou que no Brasil existem condições para a sobrevivência das larvas de nematóides nas pastagens, mesmo em áreas mais secas ou chuvosas, pois, durante todo o ano, o bolo fecal funciona como um reservatório de larvas. Segundo Amarante et al. (1996) e Castro et al. (2002), os movimentos das larvas de abandono das massas fecais são feitos em trajetórias de migrações horizontais e verticais, onde, por meio destas migrações, as mesmas podem alcançar a parte da vegetação que será ingerida pelo hospedeiro, e assim, dar continuidade ao seu ciclo evolutivo.

O uso, quase que exclusivo, de tratamentos anti-helmínticos tem resultado em populações de nematóides que têm desenvolvido resistência a múltiplas classes de anti-helmínticos químicos, e isto tem contribuído para que as pastagens estejam na maioria das vezes contaminadas por nematóides (Sangster, 1999; Coles, 2005).

Deve-se considerar ainda que o controle químico apresente desvantagens, como o alto custo de aquisição de fármacos pelo produtor, a possibilidade de ocorrência de resíduos químicos no ambiente e nos produtos de origem animal, além das dificuldades técnicas e

econômicas para o desenvolvimento de novas moléculas (Anderson et al., 1977; Anderson & Lord, 1979; Conder & Campbell, 1995; Graminha, 2004).

O uso de fungos nematófagos no controle biológico de helmintos parasitos de animais pode reduzir a contaminação das pastagens, atuando diretamente no ambiente, Hashmi & Connan (1989) e Wolstrup et al. (1994).

Os fungos nematófagos atuam na fase de vida livre dos parasitos e uma maneira para que eles sejam dispersos no bolo fecal seria pela sua ingestão. Assim, o fungo seria disseminado juntamente ao bolo e onde ocorre o desenvolvimento de ovos e larvas de nematóides. Para que o fungo chegue ao bolo fecal, ele também deve resistir ao estresse da passagem pelo trato gastrintestinal, e assim chegar viável às fezes para predação de nematóides (Larsen et al. 1992).

Dessa forma, a passagem de fungos pelo trato gastrintestinal de animais domésticos e a avaliação da eficácia dos isolados após a passagem se constitui na metodologia empregada em diversos estudos (Larsen et al. 1992).

A seleção de microorganismos para o controle biológico deve considerar características essenciais para obtenção de resultados positivos no controle biológico, dentre as quais se destacam: especificidade de ação, alta capacidade reprodutiva e tolerância às condições ambientais onde o controle ocorre. Deve se levar, também, em consideração a capacidade de produção do agente de controle em escala industrial e período de validade e que seja seguro e efetivo no controle do organismo alvo (Grønvold et al. 1996b).

Os fungos predadores nematófagos são os organismos antagonistas mais pesquisados, pois têm mostrado serem capazes de reduzir efetivamente populações de nematóides em condições de laboratório e de campo (Larsen, 1999). A formação de armadilhas, ao longo de suas hifas, ocorre em resposta à presença do nematóide ou de suas excretas, ou pode ser

desencadeado por compostos biológicos ou, ainda, é induzida por condições de estresse fisiológico, como na escassez de nutrientes e água (Balan & Gerber, 1972).

No solo, onde prevalecem condições nutricionais estressantes para o desenvolvimento dos fungos, a habilidade em predação nematóides propicia a estes tipos de microorganismos vantagens adicionais de sobrevivência. Algumas espécies desenvolvem estruturas de captura como resultado de estímulos externos, enquanto outras as desenvolvem espontaneamente, sendo as mais dependentes de nematóides como fonte de nutrientes (Mota et al., 2003).

Fungos nematófagos podem ser caracterizados como predadores, endoparasitas de nematóides e oportunistas ou parasitos de ovos (Nordbring-Hertz, 1988). Eles são cosmopolitas, ocorrendo em solos naturais, solos agricultáveis e em todos os tipos de matéria orgânica em decomposição (Bird & Herd, 1994). Eles têm atraído a atenção de pesquisadores desde quando sua função como predador de nematóides foi reconhecida pela primeira vez por Zopf, em 1888 (Nordbring-Hertz, 1988).

A grande maioria de fungos nematófagos é mitospórica e são classificados na divisão Deuteromycetes, classe Hyphomycetes, ordem Hyphomycetales e família Moliniaceae. Apresentam micélio septado e bem desenvolvido, reproduzem-se agamicamente por esporos exógenos, que são formados sobre ramificações do micélio (Dreschsler, 1937).

Algumas espécies estão sendo reconhecidas como pertencentes ao filo Ascomycota porque foi observado estágios de reprodução sexuada destes fungos (Griffin, 1994).

No início do século XX, na França, estudos iniciais utilizando fungos nematófagos como controladores biológicos de parasitos gastrintestinais de animais foram realizados. Foi observada a ação de fungos predadores sobre larvas infectantes de *Strongyloides papillosus* e *Bunostomum phlebotomum* em condições laboratoriais e de campo (Descaseaux, 1939; Descaseaux & Capelle, 1939; Roubaud & Descaseaux, 1941).

Na década de setenta, foram retomados ensaios com diferentes espécies de fungos no combate a diversas espécies de nematóides parasitos de animais domésticos, onde esta interação foi observada em placas de Petri preenchidas com meio de cultura (Pandey, 1973).

Num estudo *in vitro*, a espécie *Duddingtonia flagrans* foi capaz de produzir armadilhas e clamidósporos (esporos de resistência). Sua taxa de crescimento, em presença de larvas infectantes (L3) de *Ostertagia ostertagi* também chamou a atenção de pesquisadores pela espécie, indicando a promissora agente no controle biológico (Grønvold et al., 1996b).

Para que um fungo nematófago possa ser empregado como agente de controle biológico de nematóides é necessário que ele seja hábil em capturar nematóides e que resista à passagem gastrintestinal (Waller et al., 1994).

As espécies de fungos predadores variam em sua capacidade de capturar os nematóides. São os organismos mais estudados e que apresentam maior potencial de comercializar, principalmente pela facilidade de cultivo e isolamento em laboratório (Grønvold et al., 1996a).

Os fungos predadores formam armadilhas produzidas, a intervalos, ao longo das hifas. Em cultura pura, muitos desses fungos não formam armadilhas. A formação dessas estruturas é a resposta à presença de nematóides ou de substância deles derivadas. Também são induzidas por condições adversas de cultivo, como escassez de água e/ou de nutrientes (Balan & Gerber, 1972). A diferenciação da hifa pode ocorrer em 24 horas e numerosas estruturas de captura podem ser produzidas (Pramer, 1964).

Após a captura, independente da armadilha utilizada, o fungo penetra e se desenvolve no interior do nematóide, consumindo o seu conteúdo e lançando para o meio externo as suas estruturas vegetativas e reprodutivas (Barron, 1977; Gray, 1987).

No Brasil, estudos com bovinos, em condições experimentais de campo, demonstraram que a administração oral de conídios do fungo nematófago, *Arthrobotys*

robusta, duas vezes por semana, durante quatro meses foi capaz de reduzir o OPG (ovos por grama de fezes) e a quantidade de vermes em animais traçadores infectados naturalmente com nematóides gastrintestinais (Araújo et al., 1998).

O fungo *D. flagrans* tem alta capacidade de atravessar o trato gastrintestinal de ruminantes, e isto pode ser devido a sua característica de produzir grande número de clamidósporos de parede espessa (Larsen et al., 1991a; Grønvold et al., 1993a; Bird & Herd, 1995; Nansen et al., 1995; Larsen, 1999).

Para ser útil no controle de parasitos, um agente de controle biológico como o fungo nematófago *D. flagrans* deve ser capaz de reduzir substancialmente o nível de contaminação de pastagens. Além disso, um efetivo agente de biocontrole deve ser ativo contra uma gama de parasitos (Waghorn et al., 2003).

Em trabalhos desenvolvidos por Wolstrup et al. (1994) e Larsen et al. (1995), o emprego do fungo nematófago *D. flagrans* não apenas reduziu a infectividade das pastagens e a carga parasitária nos animais, no final da estação de pastagem, como também preveniu o aparecimento de sinais clínicos de gastroenterite verminótica.

Em experimento *in vitro*, o fungo predador *D. flagrans* apresentou uma taxa de crescimento entre 15 e 60 mm por semana em temperaturas entre 20° e 30 °C. A presença de nematóides induziu o fungo a produzir armadilhas. A taxa de formação de armadilhas em *D. flagrans* é ativa a 30°C, produzindo 700 a 800 armadilhas por cm² em dois dias, quando induzida por 20 nematóides por centímetro quadrado em ágar. Durante o processo de envelhecimento, até certo limite, aumenta o número de clamidósporos produzidos. O tempo para alcançar a máxima concentração de clamidósporos coincide com o tempo para perda do potencial de indução de formação de armadilhas (Grønvold et al., 1996a).

O gênero *Duddingtonia* é caracterizado por produzir vários conídios na extremidade dos conidióforos (Cooke & Godfrey, 1964; Van Oorschot, 1985; Grønvold et al, 1993b). Os

conídios apresentam formato entre elíptico e ovóide apresentando um septo mediano. Predam nematóides por meio de hifas adesivas. Produzem conídios com morfologia de 25-50 µm de comprimento por 10-15 µm de largura (Cooke & Godfrey, 1964).

Administrada como esporo (clamidósporo) a ovinos e bovinos, o fungo predador *D. flagrans* tem demonstrado habilidade em reduzir eficientemente (acima de 90%) o desenvolvimento larval de um grande número de nematóides em fezes (Larsen, 1999).

A administração diária, por quatro meses de clamidósporos de *D. flagrans* administrados em grãos de cevada aos ovinos criados em sistema extensivo foi responsável pela conseqüente redução de *Nematodirus spathiger*, *Nematodirus battus*, *Ostertagia* spp. e *Trichostrongylus* spp. (Githigia et al. 1997).

Após a passagem pelo trato gastrointestinal e ser eliminado junto às fezes no meio ambiente, o fungo coloniza o bolo fecal, estabelece contato com as larvas eclodidas e produz armadilhas sobre essas, levando-as, posteriormente à morte (Graminha, 2004).

Assim, a passagem de fungos pelo trato gastrointestinal de animais domésticos e a avaliação da eficácia dos isolados após a passagem tem sido o foco de diversos estudos. (Mota et al., 2003).

Redução significativa do número de larvas infectantes (L3) nas pastagens de bovinos, caprinos e ovinos alimentados com fungo *D. flagrans* foram obtidas em estudos realizados por Larsen et al. (1992), Grønvold et al. (1993b), Wolstrup et al. (1994), Larsen et al. (1995), Larsen et al. (1996), Githigia et al. (1997), Faedo et al. (1997), Faedo et al. (1998), Larsen et al. (1998) e Mendonça de Gives et al. (1998), Fernández et al. (1999), Peña et al. (2002), Chandrawathani et al. (2002), Dimander et al. (2003), Fontenot et al. (2003), Waghorn et al. (2003), Paraud & Chartier (2003), Chartier & Pors (2003), Wright et al. (2003), Chandrawathani et al. (2003), Waller et al. (2004), Terrill et al. (2004), Chandrawathani et al. (2004) e Burke et al. (2005).

Em experimentos com diversos isolados de *Duddingtonia flagrans* também há relatos de maior ganho de peso do grupo tratado com esse fungo nematófago em relação ao grupo controle por Wolstrup et al. (1994), Githigia et al. (1997), Knox & Faedo, 2001; Fontenot et al. (2003), Waller et al. (2004).

O desenvolvimento de formulações fúngicas para uso no controle biológico é um dos principais passos para a produção comercial desses microorganismos. Mas, devem-se considerar os fatores econômicos. Desse modo, pesquisas que visam produzir material fúngico de maneira economicamente viável são extremamente necessárias e é um passo importante para viabilizar a produção comercial de fungos nematófagos (Mota et al. 2003).

Algumas formulações comerciais destinadas ao controle de fitonematóides já foram desenvolvidas baseadas nesta forma de produção. Os produtos Royal 300 e Royal 350 foram desenvolvidos na França, baseados no cultivo de fungos do gênero *Arthrobotrys* em grãos de centeio. Entretanto, por desempenho inconsistente e problemas de controle de qualidade, foram pouco utilizados e atualmente já foram retirados do mercado (Cayrol et al. 1978; Cayrol & Frankowski, 1979).

Recentemente, formulações a base de alginato de sódio têm sido avaliadas experimentalmente no controle de nematóides parasitos de animais por alguns laboratórios de pesquisa. Esta formulação tem demonstrado bons resultados em condições laboratoriais e a campo (Araújo & Sampaio, 2000; Araújo et al. 2000; Alves et al. 2003; Araújo et al. 2004a).

O fornecimento de material fúngico incorporado em blocos de suplementos minerais contendo clamidósporos do fungo *D. flagrans* tem obtido resultados positivos (Waller & Faedo, 1996). O obstáculo a este tipo de formulação se concentra na obtenção dos clamidósporos em grandes quantidades, pelo seu cultivo em grãos de cereais: cara e de difícil controle de qualidade (Stirling et al. 1998).

Em relação ao impacto ambiental no uso de fungos nematófagos, experimentos com o emprego de fungos nematófagos em animais criados em pastagens relatam que não ocorre mudança na constituição da fauna natural de nematóides do solo (Yeates & King, 1997).

Persmark et al. (1996), num experimento a campo com animais tratados com diversos fungos nematófagos, monitoraram a presença desses no solo, eles concluíram que eles estão onde há maior quantidade de matéria orgânica.

Segundo Cooke & Godfrey (1964), Gray (1985), Shepherd (1995) e Faedo et al (2002), o solo é um ambiente propício à germinação de fungos nematófagos e onde há matéria orgânica em maior quantidade, a probabilidade de ocorrer a proliferação desses fungos é maior. Assim, as fezes se constitui um meio propício para desenvolvimento fúngico.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral

Utilizar a formulação contendo o fungo *Duddingtonia flagrans* em matriz de alginato de sódio (péletes) no controle das nematodioses gastrintestinais de bovinos a campo.

3.2. Objetivos específicos

Comparar duas técnicas para contagem de ovos por gramas de fezes de animais, ovos por gramas de fezes (OPG) e Wisconsin modificado.

Identificar o isolado *D. flagrans* em fezes de bovinos nas pastagens após plaqueamento *in vitro*.

Verificar se peso, contagens de ovos por gramas de fezes e número de larvas recuperadas nas pastagens apresentam diferenças significativas entre os grupos de animais controle e tratado com o fungo *D. flagrans*.

4. HIPÓTESE

O fungo predador *Duddingtonia flagrans* ao ser administrado em péletes a um grupo de bovinos causa diminuição no número de larvas de helmintos nas pastagens de forma significativa se comparada ao grupo controle (administração de péletes sem fungo).

5. MATERIAL E MÉTODOS

5.1. Organismos

Panagrellus spp. (nematóide de vida livre), cedido pelo Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Viçosa e cultivado no laboratório de Parasitologia do Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Viçosa, foram mantidos em placas de Petri com meio de aveia em flocos, umedecida e amassada. Esses nematóides foram extraídos do meio de cultura através da imersão de pequenas quantidades de aveia em água destilada (em temperatura ambiente) no funil de Baermann e coletados em tubos de hemólise após seis horas de decantação para serem utilizados em placas de Petri para avaliação da capacidade predatória de *D. flagrans* sobre o nematóide, em ágar-água por 10 dias.

Os nematóides foram contados, utilizando microscópio óptico (objetiva de 10x), tomando-se três alíquotas de 10 µl, tirando a média e extrapolando para o volume total.

Um isolado brasileiro de 2004, de fungo predador da espécie *Duddingtonia flagrans* (AC001), oriundo da região de Viçosa, Minas Gerais, cedido pelo Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Viçosa foi mantido a 4°C, ao abrigo da luz e em tubos de ensaio contendo corn-meal-ágar (2%). E uma parte foi repicada para placas em meio ágar-água (2 %) onde o fungo cresceu por sete dias.

Para induzir a formação de micélio fúngico, discos de cultura de aproximadamente 5 mm foram transferidos para frascos Erlenmeyer de 250 ml, contendo 150 ml de meio líquido batata-dextrose, pH 6,5, sob agitação de 120 rpm, no escuro e em temperatura de 26°C, por dez dias. Após este período, a massa micelial cultivada foi retirada com a ajuda de uma alça de platina e pesada em balança de precisão para ser empregada na confecção de péletes em matriz de alginato de sódio para ser administrado para os animais.

5.2. Experimento *in vivo*

Os testes de controle biológico *in vivo* foram desenvolvidos em uma fazenda leiteira típica da região, no Município de Viçosa, latitude 20°45'20", longitude 42°52'40", Estado de Minas Gerais, no período de março a setembro de 2005.

Nessa fazenda, dezesseis bezerros, mestiços holandês-zebu, de aproximadamente um ano de idade foram divididos em dois grupos de oito animais (controle e tratado) e separados em dois piquetes, considerando o peso e ovos por gramas de fezes obtidos pela técnica de Gordon & Withlock (1939), modificada por Lima (1989).

Os dois piquetes, onde os animais foram separados, apresentaram áreas semelhantes (4 hectares cada) e as pastagens (*Brachiaria decumbens*) vinham sendo utilizadas para pastagem de bovinos, de sorte que no início do experimento achavam-se naturalmente infestadas por larvas de helmintos em intensidade equivalentes. Sendo que essa constatação foi obtida pelo diagnóstico de larvas recuperadas das pastagens coletadas de acordo com o preconizado por Raynaud & Gruner (1982) e processado, no laboratório, segunda a técnica descrita por Lima (1989).

Todos os animais foram previamente vermifugados com albendazole a 10 % na dose oral de 7,5 mg por quilo de peso vivo, quinze dias antes do início do experimento e ficaram estabulados.

No grupo tratado, cada animal recebeu 20 gramas de péletes de alginato de sódio contendo cerca de 1 grama de micélio do fungo *Duddingtonia flagrans*, duas vezes por semana, as terças e as sextas-feiras, por um período de vinte e oito semanas, a partir do começo do mês de março de 2005. No grupo controle, os animais receberam 20 gramas de péletes de alginato de sódio sem fungo.

Nessa fazenda, semanalmente, após a introdução dos bezerros, houve coleta de amostras de fezes de cada grupo diretamente do reto. Nessas amostras fecais, foram determinadas as contagens de ovos por grama de fezes (OPG) já citada e descrita, segundo a técnica modificada de Gordon e Whitlock (1939) e como já acima descrita por Lima (1989).

Nas mesmas amostras fecais, foi realizada a técnica de Wisconsin de Cox & Todd (1962), modificada por Ito (1980), para determinação da contagem de ovos por grama de fezes, na qual 3 g de fezes foram adicionadas a uma solução supersaturada de 1,25 gramas de açúcar por mililitros de água, que foram coadas e centrifugadas a 1000 rpm durante 5 minutos. Após isso, deixou-se decantar o sobrenadante coberto por lamínula por 4 minutos e colocado sobre a lâmina e a leitura foi realizada em microscópio óptico, utilizando objetiva de 10 vezes.

Cerca de dez gramas de amostras de fezes foram coletadas dos animais para verificar o crescimento de fungos. As fezes foram distribuídas em 4 placas contendo ágar-ágar 2%, acrescidas de 1.000 *Panagrellus* spp. e colocadas em estufa a 25°C, durante dez dias e observadas de três em três dias para que fosse observado o aparecimento de forma fúngicas.

Paralelamente ao exame de OPG (Gordon & Whitlock) e Wisconsin modificado, foram realizadas as coproculturas, em que 20 g de fezes dos animais foram misturadas com vermiculita fragmentada e umedecida, e levadas à estufa a 26°C, durante quatorze dias, obtendo assim larvas de nematóides parasitos gastrintestinais. Estas larvas foram identificadas de acordo com os critérios estabelecidos por Keith (1953).

Em cada piquete, nos dois grupos de animais, foram coletadas duas amostras de pastagem de cerca de 600 gramas cada, em ziguezague, em pontos eqüidistantes em todo piquete, alternados de até 20 cm do bolo fecal e entre 20 e 40 cm distante do bolo fecal de acordo com Raynaud & Gruner (1982). De cada amostra, foram coletadas para utilizar em torno de 500 g de pastagem, de onde se recuperaram as larvas de nematóides parasitos de bovinos, segundo técnica descrita por Lima (1989). Posteriormente, as larvas foram contadas e identificadas segundo Keith (1953).

Os 500 gramas de pastagem, que serviram para a realização deste método, foram colocados em uma estufa de secagem a 100°C, por três dias, para se obter a matéria seca. Os dados obtidos foram transformados em número de larvas por kg de matéria seca. Foram registrados, diariamente, os dados meteorológicos, colhidos em estação especializada na região de Viçosa-MG, referentes às médias das temperaturas máxima, média e mínima mensais, à umidade relativa do ar e às precipitações pluviais mensais.

5.3. Análises estatísticas

Utilizou-se delineamento inteiramente casualizado. Foram comparadas as curvas referentes às contagens de ovos por gramas de fezes (obtidos pelas técnicas de Gordon & Whitlock modificado por Lima e pela técnica de Wisconsin de Cox & Todd, modificada por Ito), das coproculturas e larvas recuperadas das pastagens dos grupos de animais em cada pasto, durante os sete meses de experimento. Para análise estatística dos dados de OPG, Wisconsin modificado, coprocultura e número de larvas recuperadas das pastagens, esses dados foram transformados para $\log x+1$. Os resultados foram interpretados estatisticamente por meio de análise de variância (teste F) a 1 e 5% de probabilidade e de regressão linear. As médias dos fatores quantitativos foram comparadas pelo teste de Tukey em nível de 1 e 5% de probabilidade.

Os dados de peso também foram analisados e os resultados interpretados estatisticamente por meio de análise de variância (teste F) a 1 e 5 % de probabilidade e de regressão linear e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey em nível de 1 e 5 % de probabilidade.

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

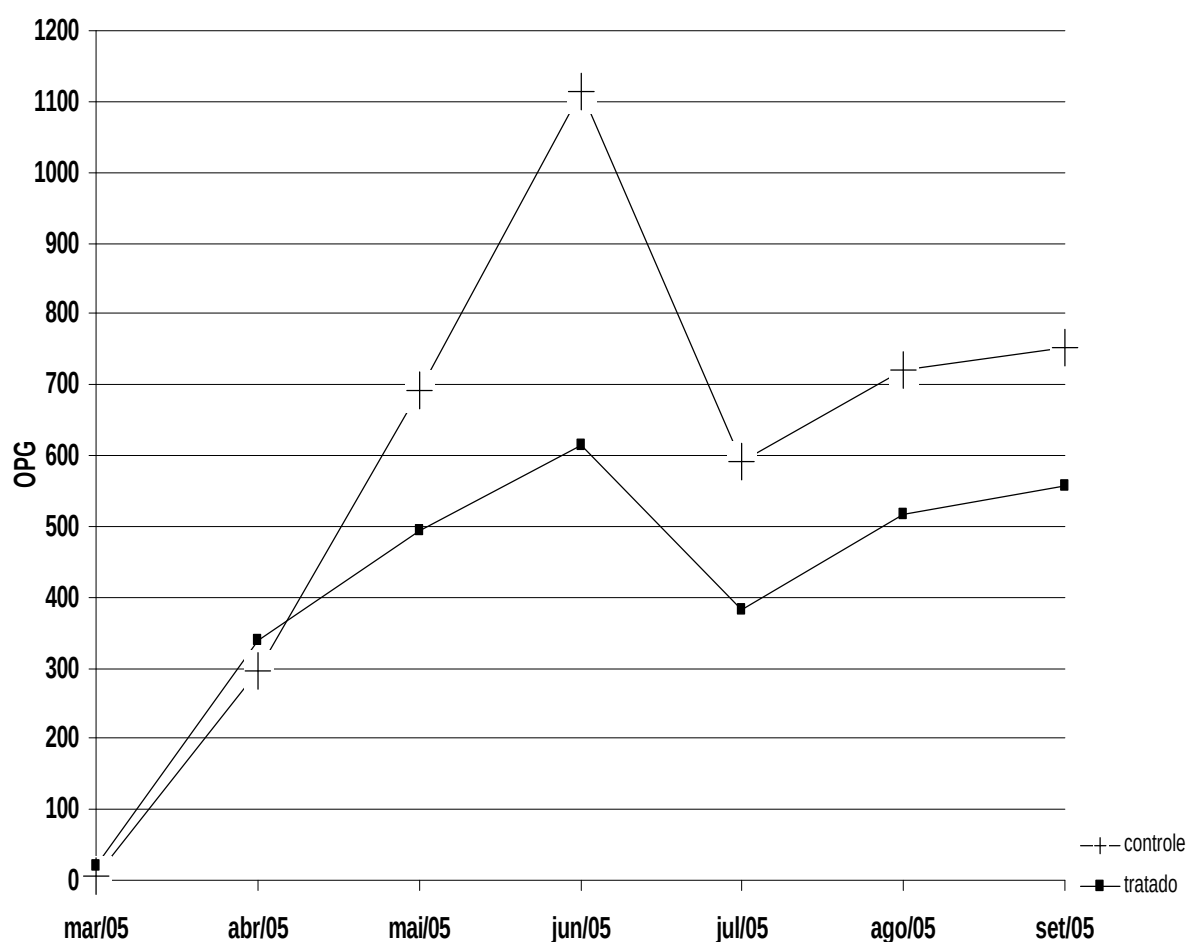
6.1. Ovos por gramas de fezes (OPG), técnica de Gordon & Whitlock (1939) modificada por Lima (1989)

Os valores médios mensais de OPG, obtidos pela técnica de Gordon & Whitlock, (1939) modificada por Lima (1989) são apresentados no gráfico 1. Esses valores nos animais do grupo tratado diferiram dos valores do grupo controle ($P < 0,05$) nos meses de maio, junho, julho e agosto com respectiva redução percentual de 35, 46, 36 e 30 % do grupo tratado em relação ao controle, sendo que no último mês (setembro) houve uma redução de 26 %, além disso, os animais do grupo tratado apresentaram menor média mensal durante quase todo o período experimental.

No início do experimento esses valores estavam baixos possivelmente porque os animais foram vermifugados e estavam estabulados. A redução na contagem de ovos por gramas de fezes no grupo tratado em relação ao grupo controle deveu-se possivelmente à aplicação do fungo nematófago *Duddingtonia flagrans* e ainda deve se considerar que essa redução foi adquirida após três meses de tratamento com o fungo.

No mês de junho, ocorreu um pico nesses valores. Esse período corresponde àquele em que os animais têm menor disponibilidade de alimento, devido ao período de baixos níveis de precipitação, estando os animais mais vulneráveis às verminoses, somado às cargas de

larvas acumuladas nas pastagens, o que contribuiu para aumentar a possibilidade dos animais se reinfestarem ao pastejo. Esses fatores possivelmente contribuem para explicar o fato de essas contagens ter se apresentado mais altas nesse período, tanto para o grupo tratado, quanto para o grupo controle.



OPG = ovos por gramas de fezes.

Gráfico 1 - Valores médios mensais das contagens de ovos de helmintos da superfamília Strongyloidea por gramas de fezes obtidos pela técnica de Gordon & Whitlock, 1939, modificada por Lima, 1989 (OPG), de bezerros do grupo controle e do grupo tratado com o fungo nematófago *Duddingtonia flagrans*, coletados no período de março a setembro de 2005, em Viçosa, Minas Gerais.

Nos meses subsequentes, é observada uma queda desses valores para os dois grupos. O aumento no nível de precipitação (gráfico 10, página 35) e o desenvolvimento dos animais

em relação à aquisição de imunidade na expulsão de nematóides podem explicar essas reduções.

Em trabalhos anteriores, com o fungo *D. flagrans* em ruminantes e eqüinos foi observado valores médios mensais de contagem de ovos por gramas para os animais do grupo tratado menores que os animais do grupo controle em experimentos com fungos nematófagos em Larsen et al. (1991b; 1992; 1995 e 1996), Grønvold et al (1993b), Wolstrup et al. (1994), Wright et al. (1997), Fernandez et al. (1999b), Knox & Faedo (2001), Wright et al. (2003), Fontenot et al. (2003) Waghorn et al. (2003), Paraud et al. (2004), Chandrawathani et al. (2004) e Burke et al. (2005).

6.2. Obtenção de contagem de ovos por gramas de fezes pela técnica de Wisconsin de Cox & Todd (1962) modificada por Ito (1980)

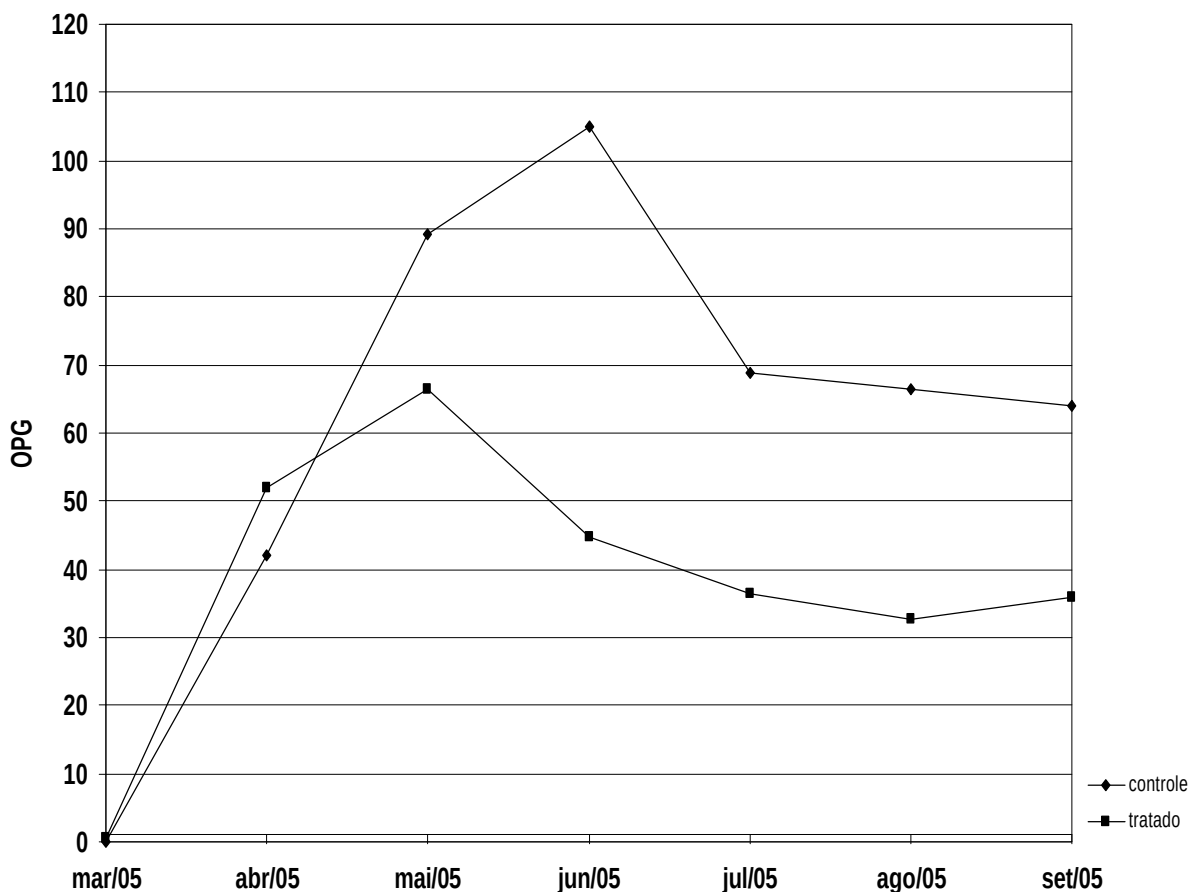


Gráfico 2 - Valores médios mensais das contagens de ovos de helmintos da superfamília Strongyloidea por gramas de fezes de bezerros dos grupos controle e tratado com o fungo nematófago *D. flagrans* obtidos pela técnica de Wisconsin de Cox & Todd (1962), modificada por Ito (1980), coletados no período de março a setembro de 2005, em Viçosa, Minas Gerais.

Os valores médios mensais apresentados no gráfico 2 são as contagens de ovos por gramas de fezes obtidas pela técnica de Wisconsin de Cox & Todd (1962), modificada por Ito (1980).

Nos meses de junho e agosto houve diferença ($P < 0,05$), tendo o grupo tratado a menor média mensal durante os cinco últimos meses com redução percentual nos valores de

contagem de ovos por gramas de fezes de 26 % em maio, 58 % em junho, 47% em julho, 51 % no mês de agosto e 25 % em setembro em relação ao grupo controle. Mesmo não havendo redução significativa no mês de setembro, houve uma considerável diminuição desse valor no grupo tratado em relação ao controle.

As contagens de ovos por gramas de fezes obtidas por essa técnica (Wisconsin) e por Gordon & Whitlock modificados apresentaram coeficiente de correlação positiva (0,99), ou seja, as variações cresceram no mesmo sentido, o que diferiu foi o valor absoluto das médias e o coeficiente de variação que foram cerca de dez vezes maiores nos dados obtidos por Gordon & Whitlock. Possivelmente, porque, enquanto na técnica de Gordon & Whitlock modificada é estimada por uma alíquota multiplicada pelo fator centesimal, a de Wisconsin modificada pressupõe que todos os ovos contidos numa quantidade de fezes sejam detectados e contados.

A diferença encontrada pode ser explicada pelo fato de haver possibilidade de erro; por Gordon & Whitlock quanto à alíquota ser única e em Wisconsin, por existir grande possibilidade de parte dos ovos contidos na amostra não se concentrarem na lâmina, mas é necessário salientar que umas essas duas técnicas são satisfatórias para quantificar o índice de infestação em nível de rebanho.

6.3. Coprocultura das amostras coletadas dos animais

Os valores médios mensais do OPG (obtidos através da técnica de Gordon & Whitlock, 1939, modificada por Lima, 1989) obtidos das participações percentuais das larvas infectantes (L3), após coprocultura, são apresentados no gráfico 3 e os obtidos por Wisconsin modificado estão no gráfico 4.

O gênero *Cooperia* foi o mais prevalente e esse fato pode ser explicado por ser as fêmeas desse gênero bastante prolíferas e as médias mensais de temperatura mais amenas (gráfico 10) favorecer populações desse gênero (Costa et al., 1974).

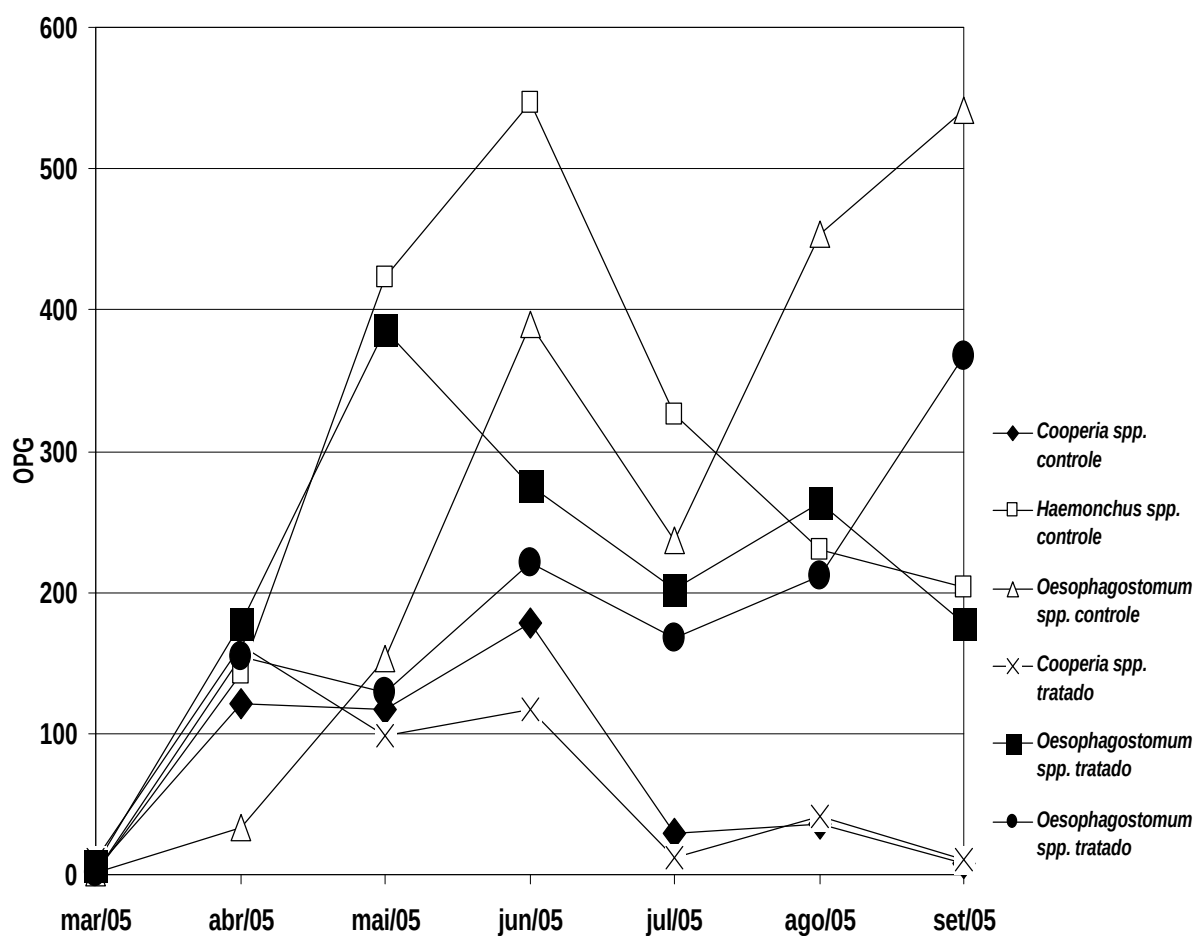


Gráfico 3 – Valores médios mensais das contagens de ovos de helmintos da superfamília Strongyloidea recuperados de cultura fecal por gramas de fezes obtidos pela técnica de Gordon & Whitlock, 1939, modificada por Lima, 1989 (OPG), de bezerros dos grupos controle e tratado com o fungo nematófago *D. flagrans*, coletados no período de março a setembro de 2005, em Viçosa, Minas Gerais.

No gráfico 4, há as mesmas proporções de valores para gêneros esboçados no gráfico 3, porque a coprocultura fornece os mesmos valores para as duas técnicas de contagem de ovos por gramas de fezes e constitui-se de forma qualitativa.

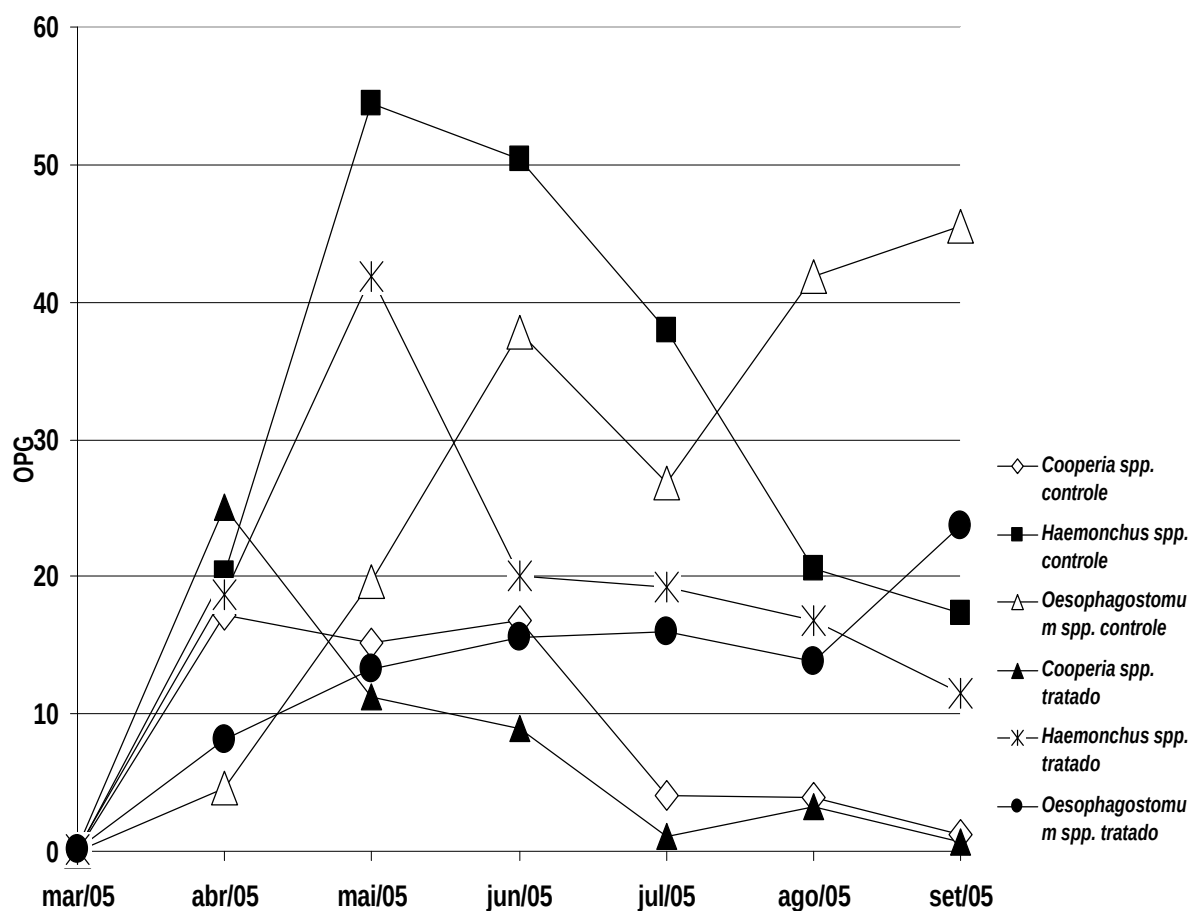


Gráfico 4 – Valores médios mensais da contagem de ovos de nematóides por grama de fezes obtidas pela técnica de Wisconsin de Cox & Todd, 1962, modificada por Ito, 1980 (Wisconsin modificado), recuperados da coprocultura dos bezerros dos grupos controle e tratado com o fungo nematófago *D. flagrans*, coletados no período de março a setembro de 2005, em Viçosa, Minas Gerais.

Há na tabela 1 os valores percentuais de cada gênero recuperados após coprocultura. Não houve diferença ($P < 0,05$) entre os gêneros nos grupos controle e tratado. Foram encontrados nas culturas de fezes os gêneros *Cooperia* spp. (21,38 %), *Haemonchus* spp. (43,65 %) e *Oesophagostomum* spp. (34,97 %). Os valores médios do número de larvas recuperadas da coprocultura dos animais do grupo controle e do grupo tratado não diferem em nenhum dos três gêneros.

Tabela 1 – Valores médios do número de larvas recuperadas da coprocultura dos animais do grupo controle e do grupo tratado com o fungo nematófago *D. flagrans*, coletadas no período de março a setembro de 2005, em Viçosa, Minas Gerais.

Tratamento	Larvas	Médias
Controle	<i>Cooperia</i> spp.	20,74a
Tratado	<i>Cooperia</i> spp. .	20,02a
Controle	<i>Haemonchus</i> spp.	42,65a
Tratado	<i>Haemonchus</i> spp.	44,85a
Controle	<i>Oesophagostomum</i> spp.	36,61a
Tratado	<i>Oesophagostomum</i> spp.	35,13a

As médias seguidas de pelo menos uma mesma letra na coluna não diferem entre si em nível de 5 % de probabilidade pelo teste de Tukey.

6.4. Pastagem

6.4.1. Amostras até 20 cm do bolo fecal

As contagens de larvas infectantes (L₃) por kg de matéria seca recuperadas das pastagens coletadas até 20 centímetros de distância do bolo fecal apresentaram o gênero *Cooperia* como o mais prevalente em ambas as pastagens e diferiram daqueles encontrados para os gêneros *Haemonchus* e *Oesophagostomum* (P<0,01) e essa diferença foi maior nos meses de junho, julho e agosto, período de menor pluviosidade.

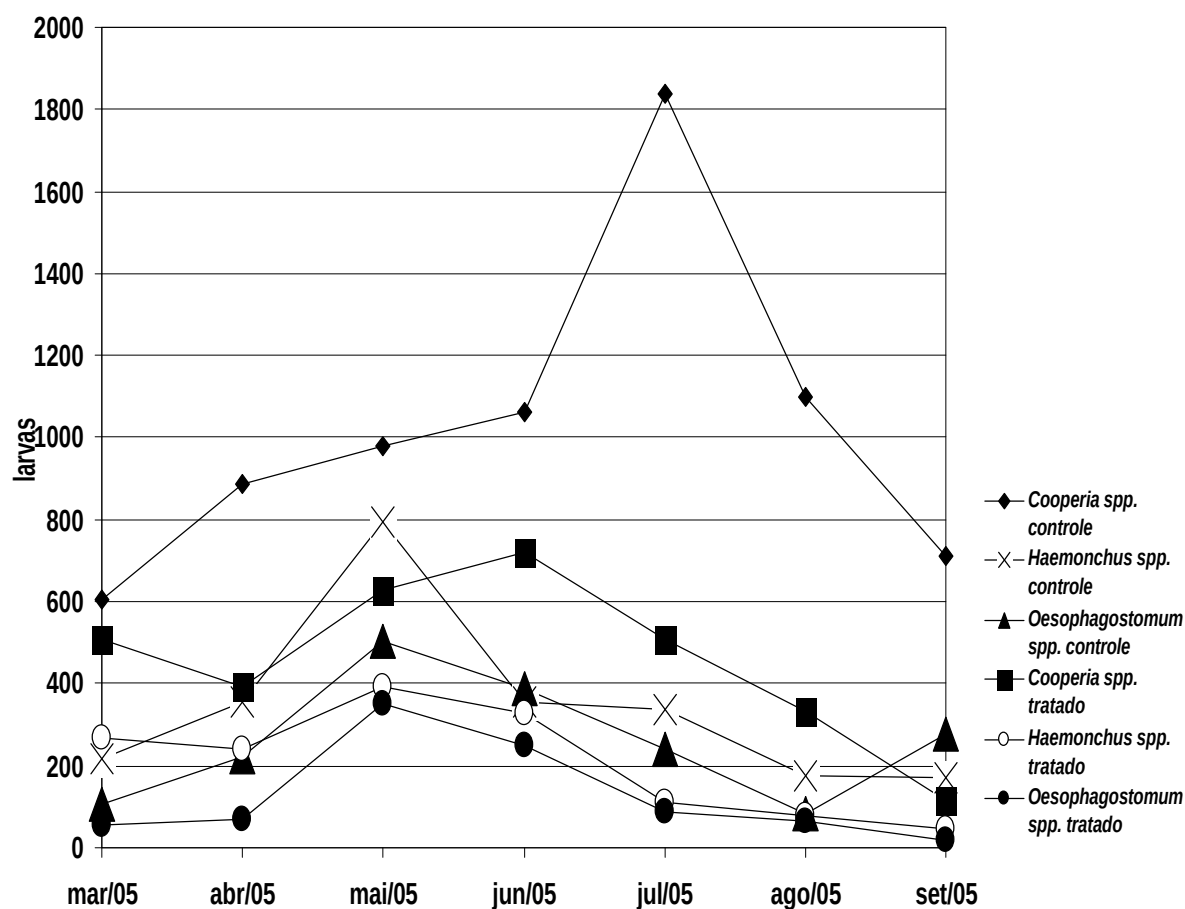


Gráfico 5 – Contagem mensal das larvas infectantes (L3) de nematóides por kg de matéria seca de pastagem obtidas nos pastos dos grupos controle e tratado com o fungo nematófago *D. flagrans*, em amostras adquiridas até 20 cm de distância do bolo fecal, coletados no período de março a setembro de 2005, em Viçosa, Minas Gerais.

Esses resultados, provavelmente, refletem a maior resistência de estágios de vida livre de *Cooperia* spp. às variações climáticas, condições secas e maior capacidade migratória dessas larvas (Reinecke & Monoson, 1960).

Houve diferença significativa ($P < 0,01$) no número de larvas infectantes (L3) entre as pastagens dos grupos controle e tratado nos meses de abril, julho, agosto e setembro em coletas até 20 cm de distância do bolo fecal, no grupo tratado em relação ao controle com redução percentual respectiva de 53, 71, 65 e 85 %. O fungo nematófago *D. flagrans*

apresentou provavelmente capacidade em reduzir o número de larvas recuperadas nas pastagens após um mês de aplicação de péletes contendo o fungo ao grupo tratado. As médias mensais da contagem de larvas infectantes (L3) recuperadas das pastagens sempre foram menores no grupo tratado. Mesmo nos meses em que não houve diferença a 1% de significância (maio e junho) houve diferença a 5 % de significância, com redução percentual no número de larvas recuperadas de 40 e 29 %, respectivamente, no grupo tratado em relação ao controle.

6.4.2. Amostras coletadas entre 20 e 40 cm do bolo fecal

No gráfico 6, também há maior prevalência de larvas infectantes (L3) do gênero *Cooperia* recuperadas em ambas as pastagens dos grupos controle e tratado. As médias mensais do número de larvas infectantes (L3) para o gênero *Cooperia* foram maiores significativamente ($P < 0,05$) em relação aos gêneros *Haemonchus* e *Oesophagostomum*. No final do experimento, as contagens de larvas infectantes (L3) foram menores.

Apesar de não ter havido diferenças significativas a 5 % entre os valores de larvas infectantes coletadas nos grupos controle e tratado, houve redução percentual nos meses de julho (33 %), agosto (145 %) e setembro (25 %). E esse fato está relacionado à redução de estágios de vida livre de nematóides, possivelmente ligados à ação de predação do fungo nematófago a larvas no bolo fecal.

Entre 20 e 40 cm de distância do bolo fecal, a migração de larvas infectantes constituiu menos de 20 % das larvas que vieram do bolo fecal. Assim, tanto no grupo controle quanto no tratado, os animais seriam desafiados com uma carga de larvas infectantes muito menor se pastassem apenas após 20 cm de distância do bolo fecal, acontece que sob uma densidade populacional maior e com as pastagens um pouco mais degradadas, principalmente, na época seca, os animais não têm muita escolha e estão sujeitos a pastarem em qualquer ponto nas

pastagens, considerando também que a contaminação das pastagens é maior, apresentando risco maior de infectarem por uma carga parasitária maior e apresentando maiores perdas produtivas e doenças.

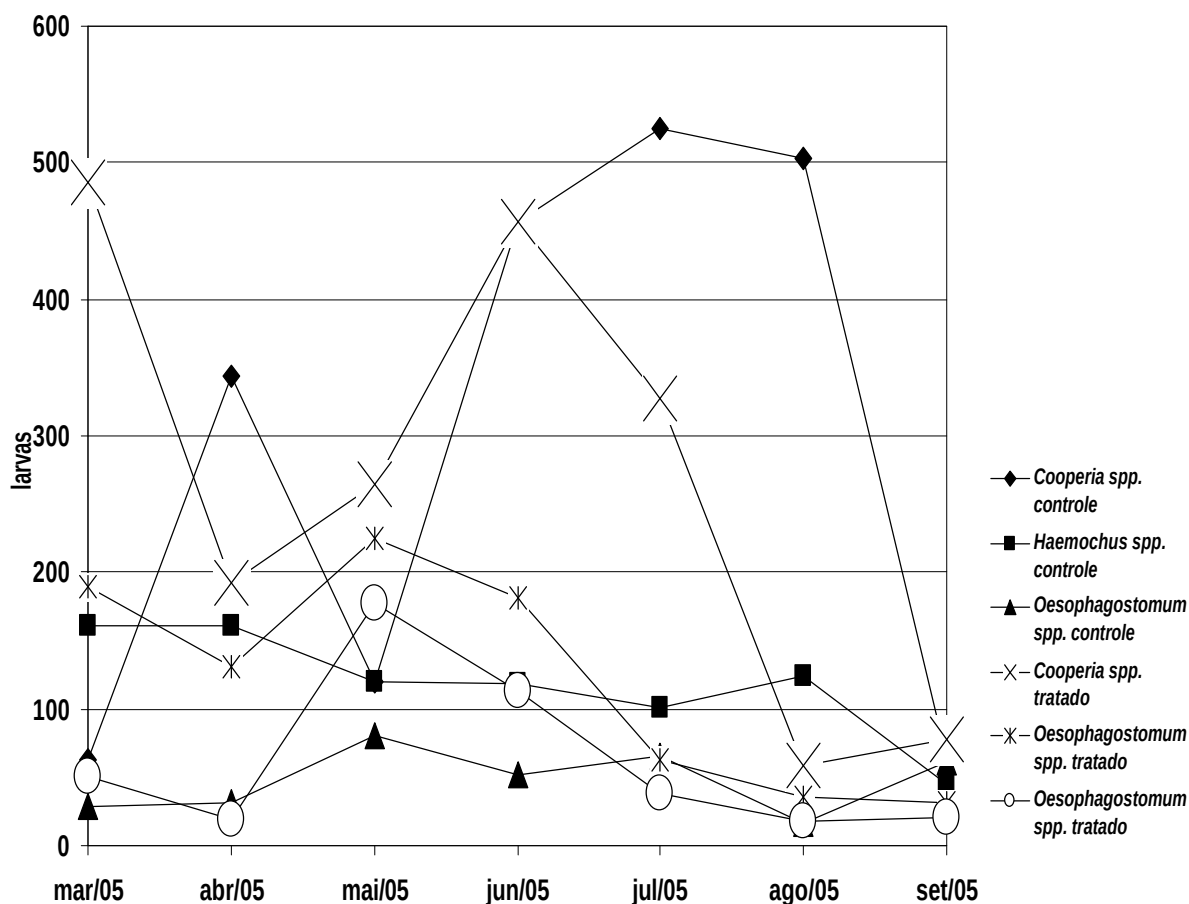


Gráfico 6 – Contagem mensal de larvas infectantes (L3) de nematóides por kg de matéria seca de pastagem obtidas nos pastos dos grupos controle e tratado com o fungo nematófago *D. flagrans*, em amostras adquiridas entre 20 e 40 cm de distância do bolo fecal, coletados no período de março a setembro de 2005, em Viçosa, Minas Gerais.

6.4.3. Análise geral

As contagens de larvas infectantes (L3) totais recuperadas da pastagem do grupo controle até 20 cm de distância do bolo fecal foi maior ($P < 0,01$) que as médias das outras amostras (do grupo tratado até 20 cm e dos grupos controle e tratado entre 20 e 40 cm de

distância do bolo fecal). Isso se deve ao fato de grande parte das larvas infectantes não se distanciarem mais que 20 cm do bolo fecal na pastagem e essa diferença entre os grupos controle e tratado (até 20 cm) possivelmente porque a aplicação do fungo nematófago contribuiu para redução do número de larvas nas pastagens.

Essa diferença observada a diferentes distâncias dos bolos fecais permite inferir que uma densidade populacional menor nas pastagens seria importante para diminuição da probabilidade dos animais se reinfetarem. Esses fatos permitem deduzir que a associação de aplicação do fungo nematófago *D. flagrans* e uma menor densidade populacional possivelmente contribuiriam para uma sensível diminuição no valor da carga reinfetante de larvas infectantes.

O período de maiores médias do número de larvas infectantes foi do mês de maio até o mês de julho. No início do experimento, houve aumento das contagens de larvas até o mês de julho, após isso, ocorreu diminuição no número de larvas infectantes recuperadas de julho até setembro. Em setembro, são observadas as menores contagens de larvas nas amostras de pastagens do grupo tratado e entre 20 e 40 cm de distância do bolo fecal no grupo controle.

Em todos os meses houve diferenças significativas ($P < 0,01$) entre número de larvas de amostras de pastagens coletadas entre 20 e 40 cm de distância do bolo fecal em relação às amostras coletadas até 20 cm de distância do bolo fecal na pastagem do grupo controle.

Entre as amostras de pastagem coletadas dos piquetes do grupo tratado até 20 cm e aquelas coletadas entre 20 e 40 cm de distância do bolo fecal dos grupos controle e tratado e entre aquelas do controle e tratado coletadas entre 20 e 40 cm de distância do bolo fecal também não houve diferença ($P < 0,05$). Assim, em grupos de animais tratados com o fungo, pode se inferir que se esses pastejarem próximos (até 20 cm de distância) dos bolos fecais, seja pelo fato das pastagens estarem degradadas ou pelo fato de maior densidade

populacional, o desafio em termos de número de larvas infectantes será menor, isso irá corresponder a um parasitismo menos intenso aos animais e menores perdas produtivas.

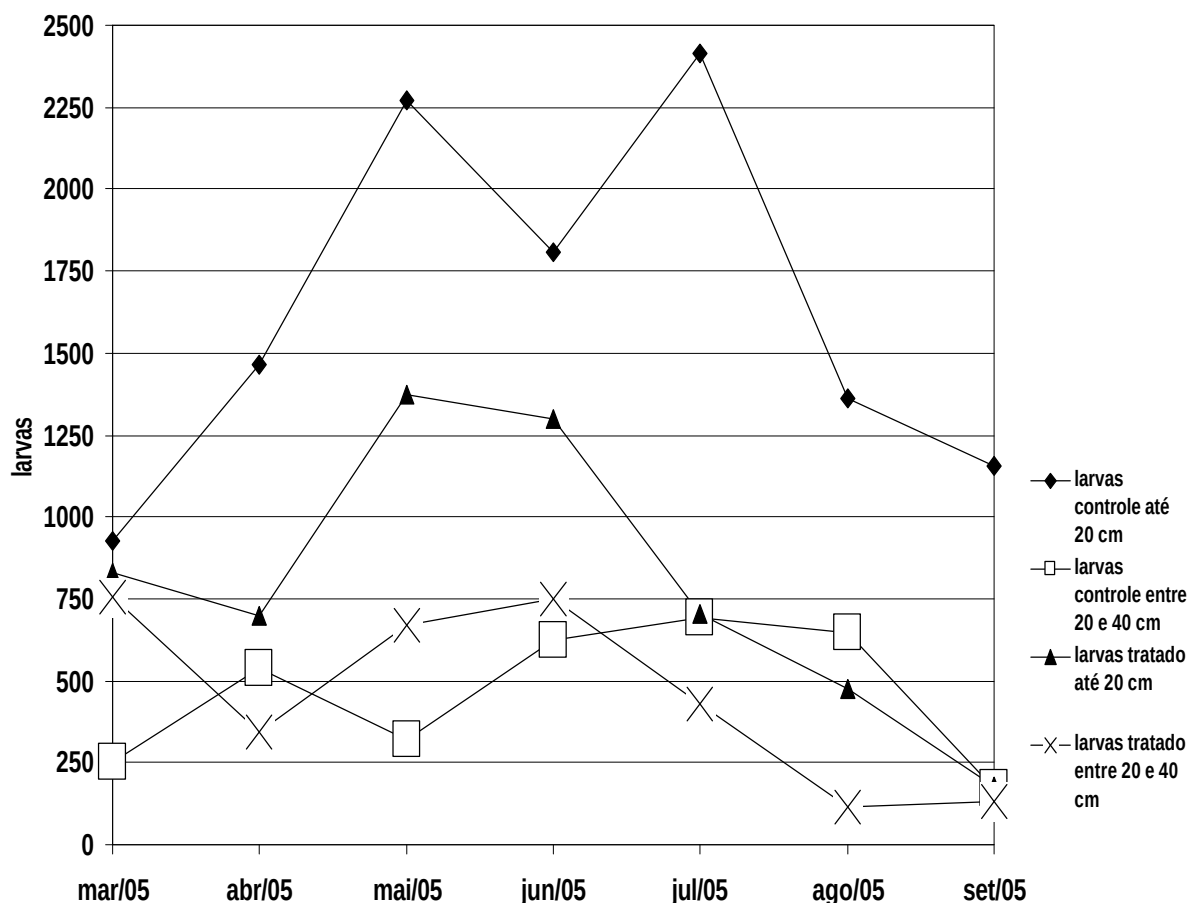


Gráfico 7 – Contagem de larvas de infectantes de nematóides por kg de matéria seca de pastagem obtidas nos pastos dos grupos controle e tratado com o fungo nematófago *D. flagrans*, em amostras adquiridas até 20 cm e entre 20 e 40 cm do bolo fecal, coletados no período de março a setembro de 2005, em Viçosa, Minas Gerais.

A aplicação do fungo, tendo como resultado a redução do número de larvas nas pastagens contribuiria também para que os animais com menor carga parasitária não apresentassem os sinais clínicos de verminose gastrintestinais e assim, redução nos custos com tratamento de quimioterápicos e, além disso, possibilitaria mais uma ferramenta útil para se fazer o controle estratégico das verminoses gastrintestinais. Além de contribuir para

pastagens cada vez menos infectadas, e consequentemente, os animais jovens introduzidos nessa pastagem seriam menos prejudicados.

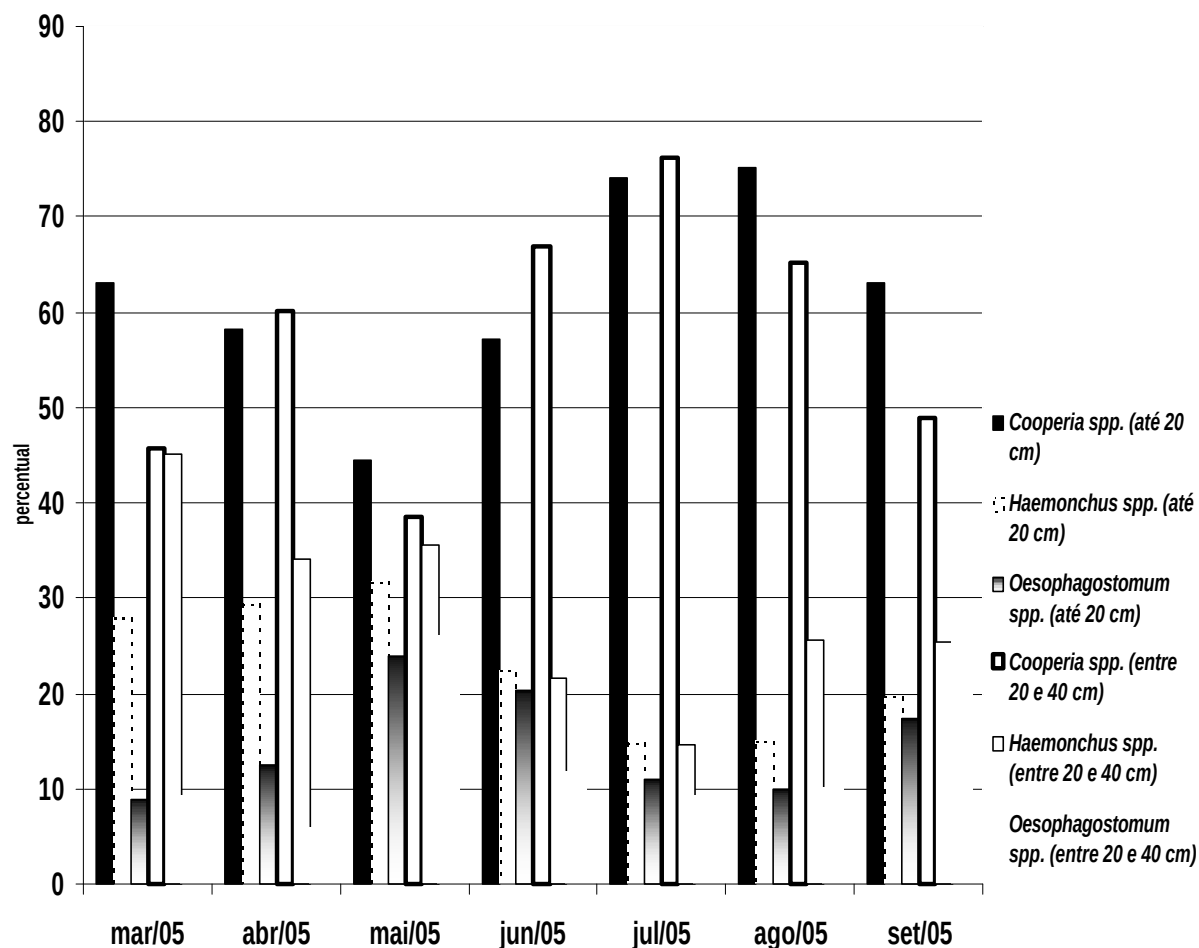


Gráfico 8 – Percentual de larvas infectantes de nematóides por kg de matéria seca de pastagem obtidas nos pastos dos grupos controle e tratado com o fungo nematófago *D. flagrans*, em amostras adquiridas até 20 cm e entre 20 e 40 cm do bolo fecal, coletados no período de março a setembro de 2005, em Viçosa, Minas Gerais.

O gráfico 8 apresenta o percentual de larvas recuperadas nas pastagens. O gênero *Cooperia* apresentou uma média de 59,96 %, *Haemonchus* foi o segundo mais prevalente, 26,48 % e *Oesophagostomum* prevaleceu 13,56 %, em média.

Não houve diferença significativa ($P < 0,05$) na prevalência de gêneros entre as amostras de pastagens, comparando os meses do experimento. Assim, não se pode inferir a

possibilidade do fungo *D. flagrans* ter favorecido a prevalência da fase de vida livre de um gênero em relação ao outro.

Em Minas Gerais, Costa et al. (1970 e 1974), Guimarães (1971), Leite et al. (1981), Furlong et al. (1985), Araújo (1996), Gomes (1998), Alves (2004) e Araújo et al. (2004a), encontraram maior prevalência de larvas infectantes de *Cooperia* spp. recuperadas das pastagens, seguido em ordem decrescente de larvas de *Haemonchus* spp., *Oesophagostomum* spp., *Trichostrongylus* spp. e *Bunostomum* spp.

O fato de que houve maior prevalência de larvas infectantes do gênero *Cooperia* na estação de menores taxas mensais de precipitação pluvial é devida à maior resistência à dessecação de larvas desse gênero, resultados similares foram observados em trabalhos de Roberts et al. (1952), Reinecke (1960) e Mello (1977). De acordo com Roberts et al. (1952), Costa et al. (1974), os estágios de vida livre de larvas do gênero *Oesophagostomum* e *Haemonchus* são mais prejudicados com relação ao desenvolvimento do que os de *Cooperia* em relação à quantidade de água presente no solo.

O uso de fungo nematófago (*Duddingtonia flagrans*) nos animais do grupo tratado reduziu a contaminação das pastagens atuando diretamente nas larvas infectantes (L3).

6.5. Peso dos animais

A administração de 20 gramas de péletes contendo cerca de 1 g de micélio de *D. flagrans*, administrado duas vezes por semana, diminuiu a infestação da pastagem e consequentemente contribuiu para uma menor carga parasitária nos animais do grupo tratado, o que permitiu melhor conversão alimentar dos animais tratados com o fungo. Nos meses de junho, julho e setembro a diferença de ganho de peso foi significativa (5 %), com 21, 13 e 20 % de diferença de ganho de peso dos animais do grupo tratado em relação aos do controle.

Além do ganho de peso, os animais do grupo tratado não apresentaram anorexia e nem

sinais clínicos de parasitismo por nematóides, enquanto que alguns animais do grupo controle apresentaram anorexia, emaciação e até perda de peso.

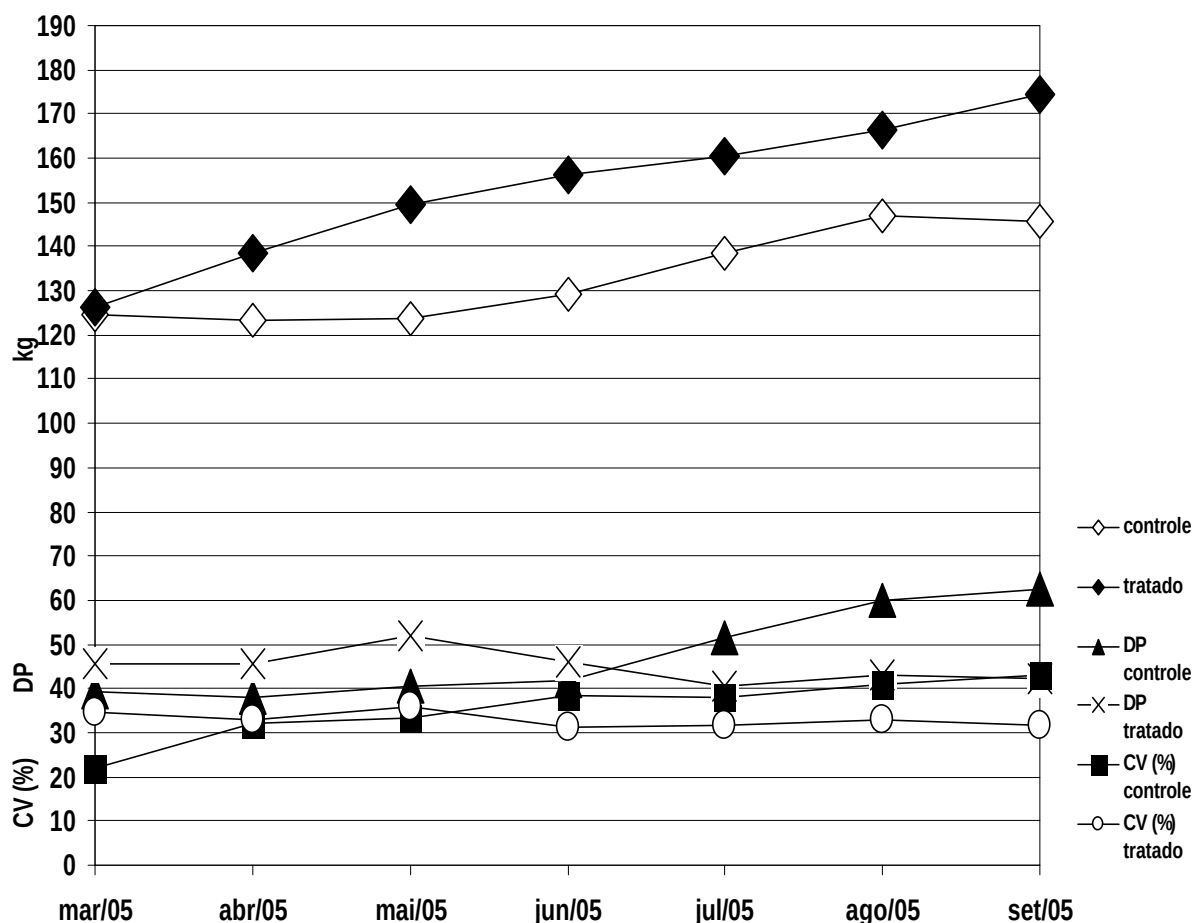


Gráfico 9 – Média mensal de peso (kg) dos animais do grupo controle e do grupo tratado com o fungo predador *Duddingtonia flagrans*, em Viçosa-MG, no período de março a setembro de 2005.

6.6. Correlação entre as variáveis quantitativas

As regressões entre os valores de ovos por gramas de fezes obtidos pelas técnicas de Gordon & Whitlock (1939), modificada por Lima (1989) e de Cox & Todd (1962), modificada por Ito (1980) foram realizadas separadamente entre os valores dos grupos controle e tratado.

Para o grupo controle, o coeficiente de correlação (r) foi igual 0,99 e para o tratado (r) foi igual a 0,99. Considerando os gráficos 1 e 2, é demonstrado que os dados obtidos pelas

duas técnicas são proporcionalmente semelhantes, seguiram as mesmas tendências ao longo do experimento e quase não houve divergências entre as curvas obtidas pelas duas técnicas de contagem de ovos por gramas de fezes acima citadas.

As correlações analisadas para ovos por gramas de fezes obtidos pela técnica de Gordon & Whitlock (1939), modificada por Lima (1989) e larvas infectantes (L3) recuperadas das pastagens foram nos grupos controle de: $r = 0,2115$ (até 20 cm) e $r = -0,0888$ (entre 20 e 40 cm) e no tratado de: $r = 0,2236$ (até 20 cm) e $r = -0,03673$ (entre 20 e 40 cm) e para ovos por gramas de fezes obtidos pela técnica de Cox & Todd (1962), modificada por Ito (1980) e larvas infectantes (L3) recuperadas das pastagens com valores nos grupos controle de: $r = 0,3464$ (até 20 cm) e $r = -0,02055$ (entre 20 e 40 cm) e no tratado de: $r = 0,1000$ (até 20 cm) e $r = 0,0845$ (entre 20 e 40 cm).

Não houve correlação significativa entre as contagens de ovos por gramas fezes e larvas recuperadas nas pastagens, uma vez que as contagens de larvas nas pastagens são influenciadas por fatores ambientais (Reinecke e Monoson, 1960) e ovos por gramas de fezes influenciadas pela interação parasito-hospedeiro e nível de infecção, ou seja, essas grandezas são influenciadas por grandezas diferentes.

6.7. Parâmetros climáticos

Os níveis de precipitação pluvial foram considerados regulares para o desenvolvimento de larvas infectantes (L3). Houve viabilidade para crescimento fúngico e larval durante todo o período experimental.

Estudos realizados por Araújo & Belém (1994), Araújo (1994), na mesma região, avaliaram que em todas as estações do ano as condições ambientais são favoráveis ao desenvolvimento de ovos e larvas de nematóides causadores de parasitoses gastrintestinais no meio ambiente. Lima et al. (1997) relataram que as larvas de nematóides possuem condições

de umidade no bolo fecal para se desenvolver e mesmo uma baixa taxa de precipitação permite que as larvas migrem do bolo fecal para as pastagens.

No presente estudo, o uso do agente de controle biológico ocorreu num período seco, época em que os bezerros da região passam por um período crítico porque há maior decorrência de larvas infectantes e menor disponibilidade de alimento nas pastagens, em virtude das péssimas condições das pastagens segundo Melo & Bianchin (1977) e Furlong et al. (1985). Sendo uma época em que a aplicação do fungo nematófago contribuiu significativamente para controle de população de larvas infectantes nas pastagens.

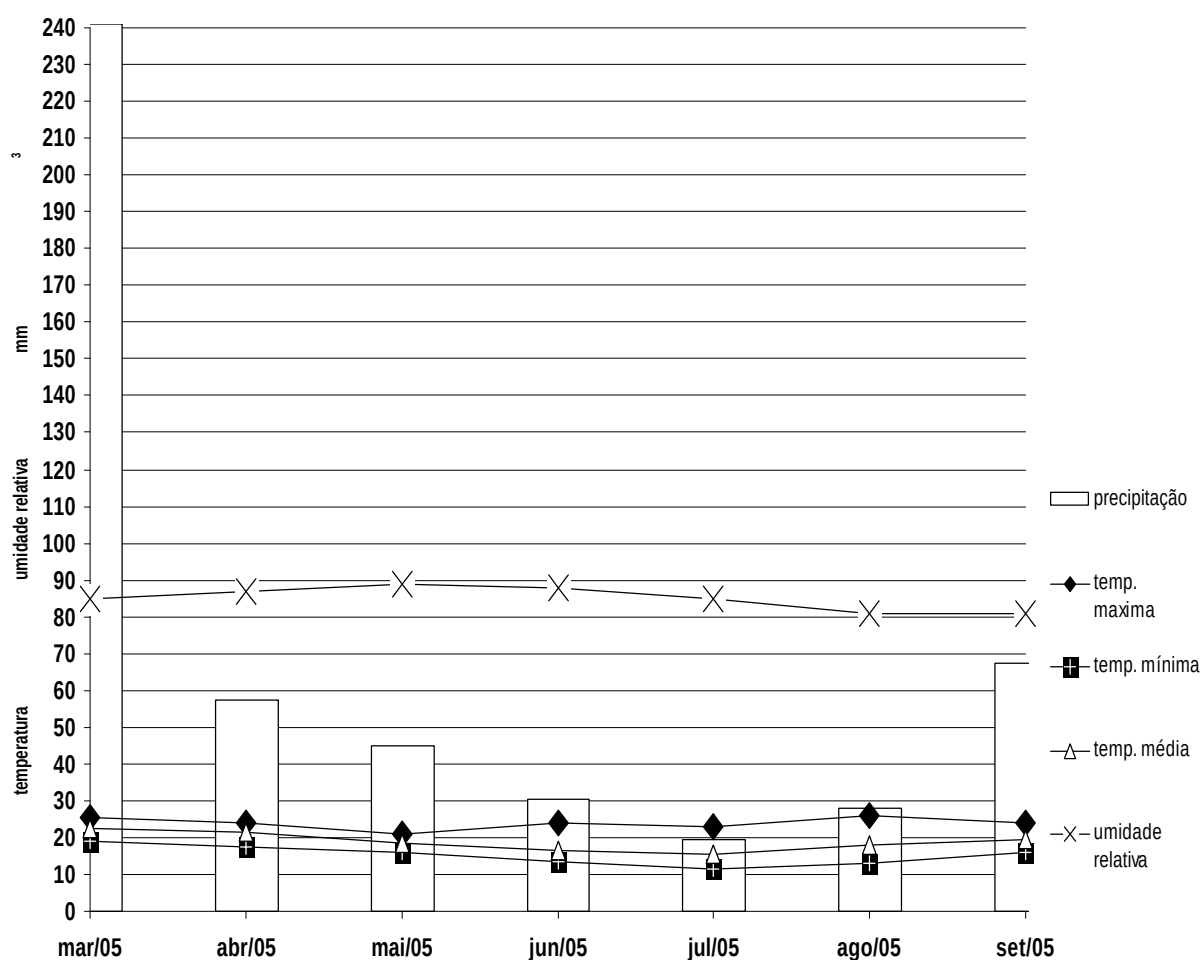


Gráfico 10 – Temperatura média mensal; mínima, média e máxima, umidade relativa do ar (%) e precipitação pluvial total mensal (mm³) registradas no período de março a setembro de 2005, em Viçosa, Minas Gerais.

6. CONCLUSÕES

Pelos resultados positivos obtidos com o emprego de péletes de alginato de sódio com o fungo nematófago *D. flagrans* conclui-se que essa medida é efetiva no controle de nematodioses gastrintestinais e poderá ser uma ferramenta útil para incremento no manejo integrado.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, P. H. **Controle biológico das nematodioses gastrintestinais de bovinos na microrregião de Viçosa-MG com o fungo predador de nematóides *Monacrosporium thaumasium*** (Drechsler, 1937). Viçosa, MG: UFV. 39p. Dissertação de Mestrado em Medicina Veterinária – Departamento de Veterinária, Universidade Federal de Viçosa, 2004.

ALVES, P.H. ARAÚJO, J.V.; GUIMARÃES, M.P. ASSIS, R.C.; SARTI, P.; CAMPOS, A.K. Aplicação da formulação do fungo predador de nematóides *Monacrosporium thaumasium* (Drechsler, 1937) no controle de nematóides de bovinos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, 55, 6, 568-573, 2003.

ALVES, S.B. **Controle microbiano de insetos**. 1 ed. São Paulo: Malone, 1986, 407p.

AMARANTE, A.F.T.; PADOVANI, C.R.; BARBOSA, M.A. Contaminação de pastagens por larvas de nematóides gastrintestinais parasitos de bovinos e ovinos em Botucatu-SP. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, 5, 2, 65-73, 1996.

ANDERSEN, F.L.; WANG, G.; LEVINE, N.D. Effect of desiccation on survival of the free-living stages of *Trichostrongylus colubriformis*. **Journal Nematology**, 54, 117-128, 1968.

ANDERSON, N. The efficiency of levamisole, thiabendazole and febendazole against naturally acquired infection of *Ostertagia ostertagi* in cattle. **Reviews in Veterinary Science**, 23, 2, 298-302, 1977.

ANDERSON, N.; LORD, V. Anthelmintic efficiency of oxfendazole, febendazole, levamisole against naturally acquired infections of *Ostertagia ostertagi* and *Trichostrongylus axei* in cattle. **Australian Veterinary Journal**, 55, 158-162, 1979.

ARAÚJO, J.V. Controle estratégico experimental do carrapato *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) (ACARINA: IXODIDAE) em bezerros no município de Viçosa, Zona da Mata de Minas Gerais, Brasil. **Brasil Journal Veterinary Research Animal Science**, 31, 216-220, 1994.

ARAÚJO, J.V. Interação entre larvas infectantes de *Cooperia punctata* e fungos predadores do gênero *Arthrobotrys*, caracterização de isolados de *Arthrobotrys* e seu uso no controle biológico de nematóides parasitos gastrintestinais de bovinos, 1996. 110p. Tese de Doutorado. Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1996.

ARAÚJO, J.V.; BELÉM, P.A.D. Curso natural da eliminação de ovos de *Eurytrema* sp, (Loss, 1907) nas fezes de bezerros. **Brasil Journal Veterinary Research Animal Science**, 31,125-129, 1994.

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

ARAÚJO, J.V.; GUIMARÃES, M.P.; CAMPOS, A.K.; SÁ, N.C. de; SARTI, P.; ASSIS, R.C.L. Control of bovine gastrointestinal nematode parasites using pellets of the nematode trapping fungus *Monacrosporium thaumasium*. **Ciência Rural**, 34, 457-463, 2004a.

ARAÚJO, J.V.; SAMPAIO, W.M. Effects of temperatures, mineral salt and passage through gastrointestinal tract of calves on alginate formulation of *Arthrobotrys robusta*. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, 9, 55-59, 2000.

ARAÚJO, J.V.; SAMPAIO, W.M.; VASCONCELOS, R.S.; CAMPOS, A.K. Effects of different temperatures and mineral salt on pellets of *Monacrosporium thaumasium* – a nematode-trapping fungus. **Veterinarski Arhiv**, 80, 181-190, 2000.

ARAÚJO, J.V.; MOTA, M.A.; CAMPOS, A.K. Controle biológico de helmintos parasitos de animais por fungos nematófagos. In: CONGRESSO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA & SIMPÓSIO LATINO-AMERICANO DE RICKETISIOSES, 13, 2004, Ouro Preto. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**. Ouro Preto: CBPV. 2004b. 13, suplemento 1, 165-170.

BALAN, J., GERBER, N. Attraction and killing of the nematode *Panagrellus redivivus* by the predacious fungus *Arthrobotrys dactiloides*. **Nematologica**, 18, 163-173, 1972.

BARRON, G.L. (Ed.) **The nematode-destroying fungi**. Canada: Canadian Biological Publications, 1977. 140p.

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

BIRD, J.; HERD, R.P. Nematophagous fungi for the control of equine cyathostomes. **The Compendium (Equine)**, 16, 658-665, 1994.

BURKE, J.M.; MILLER, J.E.; LARSEN, M.; TERRILL, T.H. Interaction between copper oxide wire particles and *Duddingtonia flagrans* in lambs. **Veterinary Parasitology**, 134, 141-146, 2005.

CASTRO, A.A.; ALMEIDA, L.R.; GUEDES, D.S.; FARIA, M.F.R.; FONSECA, A. H. Migração vertical das larvas infectantes de nematóides gastrintestinais de ruminantes em pastagens, durante a estação chuvosa no município de Seropédica, RJ, Brasil. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 12, 2002, Rio de Janeiro. **Anais do Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária**. Rio de Janeiro: CBPV [2002]. 1 CDROM.

CAYROL, J.C.; FANKOWISKI, J.P. Une méthode de lutte biologique contre lês nematodes à galles des racines appartenat au genre Meloidogyne. **Revue Horticole**, 193, 15-23, 1979.

CAYROL, J.C.; FANKOWISKI, J.P.; LANIECE, A.; D'HARDEMARE, G.; TALON, J.P. Contre les nematodes en champignonnière. Mise au point d'une méthode de lutebiologique a l'aide d'un hyphomycete prédateur : *Arthrobotrys robustus* souche antipolis (Royal 300). **Revue Horticole**, 184, 23-30, 1978.

CHANDRAWATHANI, P., JAMNAH, O., ADNAN, M., WALLER, P.J., LARSEN, M., GILLESPIE, A.T. Field studies on the biological control of nematode parasites of sheep in the tropics, using the microfungus *Duddingtonia flagrans*. **Veterinary Parasitology**, 120, 177–187, 2004.

CHANDRAWATHANI, P., JAMNAH, O., HÖGLUND, J.; LARSEN, M.; ZAHARI, W.M. Nematophagous fungi as a biological control agent for nematode parasites of small ruminants in Malaysia: a special emphasis on *Duddingtonia flagrans*. **Veterinary Research**, 33, 685–696, 2002.

CHANDRAWATHANI, P., JAMNAH, O., WALLER, P.J., LARSEN, M., GILLESPIE, A., ZAHARI, W.M. Biological control of nematode parasites of small ruminants in Malaysia using the nematophagous fungus *Duddingtonia flagrans*. **Veterinary Parasitology**, 117, 173–183, 2003.

CHARTIER, C.; PORS, I. Effect of the nematophagous fungus, *Duddingtonia flagrans*, on the larval development of goat parasitic nematodes: a plot study. **Veterinary Research**, 34, 221–230, 2003.

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

CONDER, G.A.; CAMPBELL, W.C. Chemotherapy of nematode infections of veterinary importance. **Advanced Parasitology**, 35, 58-62, 1995.

COLES, G.C. Anthelmintic resistance – looking to the future: a UK perspective. **Research in Veterinary Science**, 78, 99–108, 2005.

COSTA, H.M.A., FREITAS, M.G., GUIMARÃES, M.P. Prevalência e intensidade de infecção por helmintos de bovinos procedentes da área de Três Corações. **Arquivo da Escola de Veterinária da UFMG**, 22, 95-101, 1970.

COSTA, H.M.A., GUIMARÃES, M.P., COSTA, J.O., FREITAS, M.G. Variação estacional da intensidade da infecção por helmintos parasitos de bezerros em algumas áreas de produção leiteira em Minas Gerais. **Arquivo da Escola de Veterinária da UFMG**, 26, 95-101, 1974.

COX, D.; TODD, A.C. **Survey of Gastrointestinal Parasitism in Wisconsin Dairy Cattle**. Department Veterinary Science, University of Madison, 1962.

DESCASEAUX, J. Action de champignons Hyphomycètes prédateurs sur le larves de certains nêmatodes parasites des ruminants. **Bulletin Société Patologé Exothique**, 32, 457-459, 1939.

DESCASEAUX, J. CAPELLE, R. Contribution à l'étude des champignons prédateurs des larves de nêmatodes parasites des animaux domestiques. **Bulletin Academic Veterinarie France**, 12, 284-288, 1939.

DIMANDER, S-O; HÖGLUND, J, WALLER, P. J. Seasonal translation of infective larvae of gastrointestinal nematodes of cattle and the effect of *Duddingtonia flagrans*: a 3-year plot study. **Veterinary Parasitology**, 117, 99–116, 2003.

DRECHSLER, C. Some Hyphomycetales that prey on free living terricolous nematode. **Mycologia**, 23, 447-552, 1937.

FAEDO, M., BARNES, E., DOBSON, R.J., WALLER, P.J. The potential of nematophagous fungi to control the free-living stages of nematode parasites of sheep: pasture plot study with *Duddingtonia flagrans*. **Veterinary Parasitology**, 76, 129–135, 1998.

FAEDO, M.; LARSEN, M.; DIMANDER, S.O.; YEATES, G.W.; HÖGLUND, J.; WALLER, P.J. Growth of the Fungus *Duddingtonia flagrans* in soil surrounding feces deposited by cattle or sheep fed the fungus to control nematode parasites. **Biological Control**, 23, 64-70, 2002.

FAEDO, M., LARSEN, M., WALLER, P.J. The potential of nematophagous fungi to control the free-living stages of nematode parasites of sheep: comparison between Australian isolates of *Arthrobotrys* spp. and *Duddingtonia* spp. **Veterinary Parasitology**, 72, 149–155, 1997.

FEDER, W.A. A comparison of nematode capturing efficiencies of five *Dactylela* species at four temperatures. **Mycopathology on Mycology Appliance**, 19, 100-104, 1963.

FERNÁNDEZ, A.S; LARSEN, M.; WOLSTRUP, J.; GRØNVOLD, J.; NANSEN, P.; BJØRN, H. Growth rate and trapping efficacy of nematode-trapping fungi under constant and fluctuating temperatures. **Parasitology Research**, 88, 661-668, 1999.

FONTENOT, M.E.; MILLER, J.E.; PEÑA, M.T.; LARSEN, M.; GILLESPIE, A. Efficiency of feeding *Duddingtonia flagrans* chlamydospores to grazing ewes on reducing availability of parasitic nematode larvae on pasture. **Veterinary Parasitology**, v.118, p.203-213, 2003.

FURLONG, J.; ABREU, H.J.L.; VERNEQUE, R.S. Parasitoses dos bovinos na Zona da Mata de Minas Gerais. Comportamento estacional de nematóides gastrintestinais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 29, 143-153, 1985.

GITHIGIA, S.M.; THAMSBORG, S.M.; LARSEN, M.; KYVSGAARD, N.C.; NANSEN, P. The preventive effect of the fungus *Duddingtonia flagrans* on Trichostrongyle infections of lambs on pasture. **International Journal Parasitology**, 27, 931-939, 1997.

GOMES, A. P. S. **Controle biológico in vivo de nematódeos parasitos gastrintestinais de bovinos pelo fungo *Arthrobotrys robusta* e atividade in vitro de isolados do fungo *Monacrosporium* sobre nematódeos**. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária). Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, 81p. 1998.

GORDON, H.M., WHITLOCK, H.V. A new technique for counting nematode eggs in sheep faeces. **Journal of the Council for Scientific Industrial Research**, 12, 50-52, 1939.

GRAMINHA, E.B.N. **Isolamento e atividade predatória de fungos nematófagos sobre nematóides gastrintestinais de ovinos da micro região de Jaboticabal-SP**. Jaboticabal, SP, Unesp, 2004. 72p. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Departamento de Medicina Veterinária/ Universidade Estadual Paulista, 2004.

GRAMINHA, E.B.N; MONTEIRO, A.C.; SILVA, H.C.da; OLIVEIRA, G.P.; COSTA, A.J.da. Controle de nematóides parasitos gastrintestinais por *Arthrobotrys musiformis* em ovinos naturalmente infestados mantidos em pastagens. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 40, 927-933, 2005.

GRAY, N.F. Ecology of nematophagous fungi: effect of soil moisture, organic matter, pH and e nematode density on distribution. **Soil Biology and Biochemistry**. 17, 499-507, 1985.

GRAY, N.F. Fungi attacking vermiform nematodes. In: POINAR JR., G.O. & JANSSON, H.B. **Disease of nematodes**. 1 ed. Boca Raton, FL: CRC Press, 1988. 2, 38p.

GRAY, N.F. Nematophagous fungi with particular reference to their ecology. **Biological Review**, 62, 245-304, 1987.

GRIFFIN, D.H. **Fungal Physiology**. Wiley-Liss, New York, 458p., 1994.
Scandinavia, 30, 77-87, 1989.

GRÖNVOLD, J.; HENRIKSEN, S. A.; LARSEN, M.; NANSEN, P. WOLSTRUP, J. Biological control. Aspects of Biological Control – with special reference to arthropods, protozoa and helminths of domesticated animals. **Veterinary Parasitology**, 64, 1-2, 47-64, 1996b.

GRÖNVOLD, J.; NANSEN, P.; HENRIKSEN, S. A.; LARSEN, M.; WOLSTRUP, J; BRESCIANI, J.; RAWAT, H.; FRIBERT, L. Induction of traps by *Ostertagia ostertagi* larvae, chlamidospore production and growth rate in nematode-trapping fungus *Duddingtonia flagrans*. **Journal of Helminthology**, 70, 291-297, 1996a.

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

GRØNVOLD, J.; WOLSTRUP, J.; NANSEN, P.; HENRIKSEN, S. A.; LARSEN, M.; BRESCIANI, J. Biological control of nematode parasite in cattle with nematode-trapping fungi: a survey of Danish studies. **Veterinary Parasitology**, v.48, p.311-325, 1993a.

GUIMARÃES, M.P. **Variação estacional de larvas infectantes de nematóides parasitos de bovinos em pastagens de cerrado de Sete Lagoas**, 45f. Tese (Mestrado). Instituto de Ciências Biológicas da UFMG, Belo Horizonte, 1971.

GUIMARÃES, M.P. **Desenvolvimento das helmintoses gastrintestinais de bovinos de corte em pastagens de cerrado**, 81f. Tese (Doutorado). Instituto de Ciências Biológicas da UFMG, Belo Horizonte, 1977.

HASHMI, H.A.; CONNAN, R.M. Biological control of ruminant Trichostrongylids by *Arthrobotrys oligospora*, predacious fungi. **Parasitology Today**, 5, 28-30, 1989.

HONER, M.R. Relatório da I reunião sobre epidemiologia de nematóides de bovinos no Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, 1, 5-7, 1991.

ITO, S. Modified Wisconsin sugar centrifugal-flotation technique for nematode eggs in bovine feces. **Journal of Japan Medicine Veterinary Association**, 33, 424-429. 1980.

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

KNOX, M.R.; FAEDO, M. Biological control of field infections of nematode parasites of young sheep with *Duddingtonia flagrans* and effects of spore intake on efficacy. **Veterinary Parasitology**, 101, 155–160, 2001.

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

LARSEN, M. Prospects for controlling animal parasitic nematodes by predacious micro fungi. **Parasitology**, 120, 121-131, 2000.

LARSEN, M., FAEDO, M., WALLER, P.J., HENNESSY, D.R. The potential of nematophagous fungi to control the free-living stages of nematode parasites of sheep: studies with *Duddingtonia flagrans*. **Veterinary Parasitology**, 76, 121–128, 1998.

LARSEN, M., NANSEN, P., GRØNDAHL, C., THAMSBORG, S.M., GRØNVOLD, J., WOLSTRUP, J., HENRIKSEN, S.A., MONRAD, J. The capacity of the fungus *Duddingtonia flagrans* to prevent strongyle infections in foals on pasture. **Parasitology**, 133, 1–6, 1996.

LARSEN, M.; NANSEN, P.; WOLSTRUP, J.; GRØNVOLD, J.; HENRIKSEN, S.A.; *In vivo* passage through calves of nematophagous fungi selected for biocontrol of parasitic nematodes. **Journal of Helminthology**, 66: 137-141, 1991a.

LARSEN, M., NANSEN, P., WOLSTRUP, J., GRØNVOLD, J., HENRIKSEN, S.A., ZORN, A. Biological control of trichostrongyles in calves by the fungus *Duddingtonia flagrans* fed to animals under natural grazing conditions. **Veterinary Parasitology**, 60, 321–330, 1995.

LARSEN, M.; WOLSTRUP, J.; HENRIKSEN, Sv. Aa.; DACKMAN, C.; GRØNVOLD, J.; NANSEN, P. *In vitro* stress selection of nematophagous fungi for biocontrol of parasitic nematode in ruminants. **Journal of Helminthology**, 65, 193-200, 1991b.

LARSEN, M., WOLSTRUP, J., HENRIKSEN, S.A., GRØNVOLD, J., NANSEN, P., *In vivo* passage through calves of nematophagous fungi selected for biocontrol of parasite nematodes. **Journal of Helminthology**, 66, 137–141, 1992.

LEITE, A.C.R.; GUIMARÃES, M.P.; COSTA, H.M.; LIMA, W.S. Curso natural das infecções helmínticas gastrintestinais em bezerros. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 16, 891-894, 1981.

LIMA, W.S. **Dinâmica das populações de nematóides parasitos gastrintestinais em bovinos de corte, alguns aspectos da relação parasito-hospedeiro e do comportamento dos estádios de vida livre na região do Vale do Rio Doce, MG, Brasil**, 178f. Tese (Doutorado). Instituto de Ciências Biológicas da UFMG, Belo Horizonte, 1989.

LIMA, W.S., FAKURI, E., GUIMARÃES, M.P. Dinâmica de helmintoses de bovinos de leite na região Metarlúgica de Minas Gerais. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 6, p. 97- 103, 1997.

MACRAE, J.C. Metabolic consequences of intestinal parasitism. **Proc. Nutr. Soc.** 52:121-130, 1993.

MELO, H.J.H. Efeito de diferentes esquemas de tratamentos anti-helmínticos no ganho de peso de bezerros nelore desmamados e criados extensivamente em pastagens de Jaraguá (*Hyparrehenia rufa*). **Arquivo da Escola de Veterinária**, UFMG, 29, 269-277, 1977.

MELO, H.J.H.; BIANCHIN, I. Estudos epidemiológicos de infecções por nematóides gastrintestinais de bovinos de corte em zona de cerrado de Mato Grosso. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 12, 205-216, 1977.

MELO, I.S.; SANHUEZA, R.M.V. **Métodos de seleção de microrganismos antagônicos a fitopatógenos**. 1 ed. Jaguariúna: EMBRAPA – CNPMA, 1995. Documentos1, 72p.

MENDOZA DE GIVES, P., FLORES CRESPO, J., HERRERA RODRIGUEZ, D., VAZQUEZ PRATS, V., LIEBANO HERNANDEZ, E., ONTIVEROS FERNANDEZ, G.E. Biological control of *Haemonchus contortus* larvae in ovine faeces by administering an oral suspension of *Duddingtonia flagrans* chlamydospores to sheep. **Journal of Helminthology**, 72, 343–347, 1998.

MOTA, M.A.; CAMPOS, A.K.; ARAÚJO, J.V. Controle biológico de helmintos parasitos de animais: estágio atual e perspectivas futuras. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, 23(3), 93-100, 2003.

NANSEN, P., LARSEN, M.; GRONVOLD, J., WOLSTRUP, J., ZORN, A.; HENRIKSEN, S.Aa. Prevention of clinical trichostrongylidosis in calves by strategic feeding with the predacious fungus *Duddingtonia flagrans*. **Parasitology Research**, 81, 371-374, 1995.

NORDBRING-HERTZ, B. Ecology and Recognition in the Nematode Nematophagous Fungus System. **Advances in Microbial Ecology**, 10, 31-114, 1988.

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

PARAUD, C., CHARTIER, C. Biological control of infective larvae of a gastro-intestinal nematode (*Teladorsagia circumcincta*) and a small lungworm (*Muellerius capillaris*) by *Duddingtonia flagrans* in goat feces. **Parasitology Research**, 89, 102– 106, 2003.

PESRMARK, L.; BANCK, A.; JANSSON, H.B. Population dynamics of nematophagous fungi and nematodes in an arable soil: Vertical and seasonal fluctuations. **Soil biological Biochemistry**, 28, 1005-1014, 1996.

PARAUD, C.; PORS, I; CHARTIER, C. Activity of *Duddingtonia flagrans* on *Trichostrongylus colubriformis* larvae in goat feces and interaction with a benzimidazole treatment. **Small Ruminant Research**, 55, 199–207, 2004.

PEÑA, M.T.; MILLER, J.E.; FONTENOT, M.E.; GILLESPIE, A.; LARSEN, M. Evaluation of *Duddingtonia flagrans* in reducing infective larvae of *Haemonchus contortus* in feces of sheep. **Veterinary Parasitology**, 103, 259–265, 2002.

PRAMER, D. Nematode trapping fungi. **Science**, 144, 382-388, 1964.

RAYNAUD, J.P.; GRUNER, L. Feasibility of herbage sampling in large extensive pastures and availability of cattle nematode infective larvae in mountain pastures. **Veterinary Parasitology**, 10, 57-64, 1982.

REINECKE, R.K. A field study of some nematode parasites in a semi-arid area, with special for their biology and possible methods of prophylaxis. **Journal Veterinary Research**, 28, 365-464, 1960.

REINECKE, R.K.; MONOSON, H.L. A field study of some nematode parasites of bovines in a semi-arid area, with special reference to their biology and possible methods of prophylaxis. **Journal Veterinary Research**, 28, 365-464, 1960.

ROBERTS, F.H.S.; O'SULLIVAN, P.J. Methods of egg count and larval culture for strongyles infesting the gastrointestinal tract of cattle. **Australian Journal of Agricultural Research**, 1, 99-103, 1949.

ROBERTS, F.H.S.; O'SULLIVAN, P.J. ; RIEK, R.F. The epidemiology of parasitic gastro-enteritis of cattle. **Australian Journal of Agricultural Research**, 3, 187-226, 1952.

ROUBAUD, E.; DESCASEAUX, J. Action des Hyphomycètes prédateurs sur le larves de Synthétocauls et de Bunostomes. **Bulletin Société Patologie Exotique**, 34, 127-130, 1941.

SANGSTER, N.C. Anthelmintic resistance: past, present and future. **International Journal for Parasitology**, 29, 115-124, 1999.

SHEPHERD, A. M. A short survey of Danish nematophagous fungi. **Friesia**, 5, 396-408, 1956.

STIRLING, G.R.; SMITH, L.J.; LICASTRO, K.A.; EDEN, L.M. Control of root-knot nematode with formulations of the nematode-trapping fungus *Arthrobotrys dactyloides*. **Biological Control**, 11, 224-230, 1998.

TERRILL, T.H.; LARSEN, M.; SAMPLES, O.; S. HUSTED, S.; MILLER, J.E.; KAPLAN, R.M.; GELAYE, S. Capability of the nematode-trapping fungus *Duddingtonia flagrans* to reduce infective larvae of gastrointestinal nematodes in goat feces in the southeastern United States: dose titration and dose time interval studies. **Veterinary Parasitology**, 120, 285–296, 2004.

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

WAGHORN, T.S.; LEATHWICK, D.M.; CHEN, L.-Y.; SKIPP, R.A. Efficacy of the nematode-trapping fungus *Duddingtonia flagrans* against three species of gastro-intestinal nematodes in laboratory faecal cultures from sheep and goats. **Veterinary Parasitology**, 118, 227-234, 2003.

WALLER, P.J.; FAEDO, M. The prospects of the Free-living Stages of Nematode Parasites of Livestock. **International Journal for Parasitology**, 26, 8/9, 915-925, 1996.

WALLER, P.J.; SCHWAN, O.; LJUNGSTRØM, B.-L.; RYDZIK, A.; YEATES, G.W. Evaluation of biological control of sheep parasites using *Duddingtonia flagrans* under commercial farming conditions on the island of Gotland, Sweden. **Veterinary Parasitology**, 126, 299–315, 2004.

WHARTON, D.A.; MURRAY, D.S. Carbohydrate/lectin interactions between the nematophagous fungus *Arthrobotrys oligospora* and the infective juveniles of *Trichostrongylus colubriformis* (Nematoda). **Parasitology**, 101, 101-106, 1990.

WOLSTRUP, J.; GRÖNVOLD, S.A.; HENRIKSEN, P.; NANSEN, M.; BÖRG, H.O; ILSØE, B. 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, 1994.

WRIGHT, D.A.; MCANULTY, R.W.; NOONAN, M.J.; STANKIEWICZ, M. The effect of *Duddingtonia flagrans* on trichostrongyle infections of Saanen goats on pasture. **Veterinary Parasitology**, 118, 61–69, 2003.

YEATES, G. W.; KING, K. L. Soil nematodes as indicators of the effect of management on grasslands in the New England Tablelands (NSW); Comparison of native and improved grasslands. **Pedobiologia**, 41, 526-536, 1997.

9. ANEXOS

9.1. Encapsulamento de microorganismos

Segundo Melo e Sanhueza (1995), a formulação do tipo granulado encapsulado (pélete) do fungo nematófago que mantém atividade antagônica em nível de campo, pode ser obtida através do seguinte protocolo:

- a) Pesar 5 g de caulim ou bentonita esterilizados a 120⁰C por 1 hora e adicionar a este 25 mL de suspensão de conídios (10^8 / mL) de *Duddingtonia flagrans*.
- b) Preparar uma solução de alginato de sódio a 1% (utilizar água destilada, previamente aquecida a 60°C).
- c) Adicionar 75 ml da solução de alginato de sódio à mistura e agitar com um bastão de vidro.
- d) Misturar os ingredientes suavemente numa chapa de aquecimento com agitação.
- e) Gotejar a mistura, sob agitação, sobre uma solução de cloreto de cálcio (0,25M). Para homogeneizar o tamanho das gotas e, portanto, dos grânulos, serão usadas pipetas de diâmetro semelhantes a uma bomba peristáltica.

- f) Decorridos 5 a 20 minutos, os péletes serão separados da solução através de filtração com funil de Buchner.
- g) A secagem dos péletes é feita em estufa a 35⁰C, com circulação de ar.
- h) Para determinar a viabilidade dos esporos encapsulados, plaquear aproximadamente 20 péletes em meio BDA 2% com gentamicina 1%. Incubar as culturas a 25⁰C por 24 horas e contar o número de péletes germinados.

Tabela 2 – Análise de variância do número de ovos por gramas de fezes (OPG), obtidos pela técnica de Gordon & Withlock (1939), modificada por Lima (1989), encontrados nos animais dos grupos controle e tratado com o fungo nematófago *D. flagrans*, coletados no período de março a setembro de 2005, em Viçosa, Minas Gerais.

Fonte de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Tratamento	1	2,3537	2,3537	2,3537 ^{n.s.}
Resíduo	430	460,5831	1,0711	
Total	431	462,9368	1,0710	
CV = 88,89 %				

n.s. = não significativo em nível de 5 % de probabilidade.

G.L. = graus de liberdade.

S.Q. = soma dos quadrados.

Q.M. = quadrado médio.

F = teste F.

Tabela 3 – Valores médios mensais das contagens de ovos por gramas de fezes (OPG) obtidos pela técnica de Gordon & Withlock (1939), modificada por Lima (1989), nos animais do grupo controle e do grupo tratado com o fungo nematófago *D. flagrans*, coletadas no período de março a setembro de 2005, em Viçosa, Minas Gerais.

Grupos	Tempo						
	Mar.	Abr.	Mai.	Jun.	Jul.	Ago.	Set.
Controle	0,13a	1,69a	2,65a	2,89a	2,46a	2,63a	2,53a
Tratado	0,15a	1,80a	2,42b	2,68b	2,29b	2,24b	2,47a

As médias seguidas de pelo menos uma mesma letra na coluna não diferem entre si em nível de 5 % de probabilidade pelo teste de Tukey.

Tabela 4 – Análise de variância do número de ovos por gramas obtidos pela técnica de Wisconsin de Cox & Todd (1962), modificado por Ito (1980), encontrados nos animais dos grupos controle e tratado com o fungo nematófago *D. flagrans*, coletados no período de março a setembro de 2005, em Viçosa, Minas Gerais.

Fontes de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F.
Tratamento	1	0,8121	0,8121	1,5439 ^{n.s.}
Resíduo	430	226,1847	0,5260	
Total	431	226,9968	0,5268	
CV = 66,28				

n.s. = não significativo em nível de 5 % de probabilidade.

Tabela 5 – Valores médios mensais das contagens de ovos por gramas de fezes, obtidos pelo método Wisconsin de Cox & Todd (1962), modificado por Ito (1980), nos animais do grupo controle e do grupo tratado com o fungo nematófago *D. flagrans*, coletadas no período de março a setembro de 2005, em Viçosa, Minas Gerais.

Grupos	Tempo						
	Mar.	Abr.	Mai.	Jun.	Jul.	Ago.	Set.
Controle	0,03a	0,91b	1,69a	1,83a	1,34a	1,34a	1,64a
Tratado	0,13a	1,19a	1,56a	1,33b	1,30a	1,20b	1,57a

As médias seguidas de pelo menos uma mesma letra na coluna não diferem entre si em nível de 5 % de probabilidade pelo teste de Tukey.

Tabela 6 – Valores médios mensais das contagens de ovos por gramas de fezes (OPG) recuperados na coprocultura dos animais dos grupos controle e tratado com o fungo nematófago *D. flagrans*, coletadas no período de março a setembro de 2005, em Viçosa, Minas Gerais.

Meses	Controle			Tratado		
	<i>Cooperia</i>	<i>Haemonchus</i>	<i>Oesophagostomum</i>	<i>Cooperia</i>	<i>Haemonchus</i>	<i>Oesophagostomum</i>
Março	7,3909a	3,3253a	1,8081b	8,8494a	5,0826a	1,5586b
Abril	69,9708a	81,9968a	17,4143b	86,7693a	64,8230a	28,0063b
Mai	45,0587b	160,6309b	59,0333a	38,5349b	151,3832a	49,8018b
Junho	46,9023b	140,2453a	101,4763a	51,0728b	120,9034a	95,9524a
Julho	12,8239b	136,3032a	96,5964a	5,1498b	121,8786a	101,8516a
Agosto	13,4022c	83,4553b	166,2526a	21,5895b	115,1437a	93,5436a
Setembro	1,1595c	68,5616b	181,0393a	4,0939c	79,1008b	163,9952a

As médias seguidas de pelo menos uma mesma letra na coluna não diferem entre si em nível de 5 % de probabilidade pelo teste de Tukey.

Tabela 7 – Valores médios mensais das contagens de ovos por gramas de fezes, obtidos pelo método Wisconsin de Cox & Todd (1962), modificado por Ito (1980), recuperados na coprocultura dos animais dos grupos controle e tratado com o fungo nematófago *D. flagrans*, coletadas no período de março a setembro de 2005, em Viçosa, Minas Gerais.

Meses	Controle			Tratado		
	<i>Cooperia</i>	<i>Haemonchus</i>	<i>Oesophagostomum</i>	<i>Cooperia</i>	<i>Haemonchus</i>	<i>Oesophagostomum</i>
Março	2,5836a	1,1607b	0,6309c	3,0447a	1,4156b	0,7696c
Abril	23,7491a	28,0487a	5,9562b	25,2899a	22,0943a	9,5442b
Maio	15,2254b	58,2699a	21,4000b	13,2194b	51,9156a	17,0832b
Junho	15,6081b	46,6706a	33,7718a	17,3160b	40,9915a	32,5424a
Julho	4,6609b	49,5292a	35,0959a	1,7611b	41,6788a	34,8301a
Agosto	4,5255b	28,2022a	56,1822a	7,3242b	39,0623a	31,7314a
Setembro	1,0676c	23,1632b	63,6773a	1,3992c	26,9728b	55,9179a

As médias seguidas de pelo menos uma mesma letra na coluna não diferem entre si em nível de 5 % de probabilidade pelo teste de Tukey.

Tabela 8 – Análise de variância do número de larvas infectantes da Superfamília Strongyloidea recuperadas das pastagens nos grupos controle e tratado com o fungo nematófago *D. flagrans*, coletadas em amostras de pasto até 20 cm e entre 20 a 40 cm de distância do bolo fecal, realizadas no período de março a setembro de 2005, em Viçosa, Minas Gerais.

Fontes de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F.
Tratamento	3	8,7371	2,9124	22,0971**
Resíduo	104	13,7046	0,1318	
Total	107	22,4417	0,2097	
CV = 16,74				

** = significativo em nível de 1 % de probabilidade.

Tabela 9 – Valores médios mensais das contagens do número de larvas infectantes da Superfamília Strongyloidea recuperadas das pastagens nos grupo controle e tratado com o fungo nematófago *D. flagrans*, coletadas em amostras de pastagem até 20 cm e entre 20 a 40 cm de distância do bolo fecal, realizadas no período de março a setembro de 2005, em Viçosa, Minas Gerais.

Grupos	Tempo						
	Mar.	Abr.	Mai.	Jun.	Jul.	Ago.	Set.
Controle Até 20 cm	2,9541a	3,1169a	3,3201a	3,1610a	3,3763a	3,0976a	3,0487a
Controle Entre 20 e 40 cm	2,3550b	2,7109b	2,4304c	2,6865b	2,6272b	2,6202b	2,1767b
Tratado Até 20 cm	2,9195a	2,7649b	3,1125a	3,1053a	2,8341b	2,5982b	2,1300b
Tratado Entre 20 e 40 cm	2,4901b	2,5005b	2,7968b	2,8405b	2,4842c	2,0419c	2,0280b

Médias seguidas pela mesma letra nas linhas não diferem estatisticamente entre si em nível de 1 % de probabilidade pelo teste de Tukey com diferença mínima significativa = 0,3144.

Tabela 10 – Valores médios mensais dos números de larvas infectantes da superfamília Strongyloidea divididas em amostras de pastagem até 20 cm e entre 20 e 40 cm de distância do bolo fecal dos grupos controle e tratado com o fungo nematófago *D. flagrans*, divididas por gênero, coletadas no período de março a setembro de 2005, em Viçosa, Minas Gerais.

Até 20 cm		Controle			Tratado		
Meses	<i>Cooperia</i>	<i>Haemonchus</i>	<i>Oesophagostomum</i>	<i>Cooperia</i>	<i>Haemonchus</i>	<i>Oesophagostomum</i>	
Março	2,7655a	2,3398b	1,9219c	2,6943a	2,4199b	1,7381c	
Abril	2,9210a	2,4971b	1,8013c	4920a	2,2962a	1,8058c	
Maio	2,9492a	2,8733a	2,5676b	2,7605a	2,5618a	2,5253b	
Junho	2,7926a	2,4860b	2,5064b	2,7307a	2,4464b	2,3313b	
Julho	3,2596a	2,4745a	2,3041b	2,6886a	2,0270b	1,8644b	
Agosto	3,0056a	2,1370b	1,8232c	2,4242a	1,8692b	1,2853c	
Setembro	2,8084a	2,2250b	2,3286b	1,5839a	1,5272b	1,0133c	
Entre 20 e 40 cm		Controle			Tratado		
Meses	<i>Cooperia</i>	<i>Haemonchus</i>	<i>Oesophagostomum</i>	<i>Cooperia</i>	<i>Haemonchus</i>	<i>Oesophagostomum</i>	
Março	1,7820a	1,9010a	1,4423b	2,3531a	1,8649b	1,0021c	
Abril	2,5589a	2,0327b	1,5346c	2,2690a	2,0489b	0,4720c	
Maio	1,9437a	2,0060a	1,8000a	2,3189a	2,2880a	2,1811b	
Junho	2,5282a	1,9812b	1,5738c	2,5721a	2,2403b	2,0320c	
Julho	2,5126a	1,7890b	1,4352c	2,3517a	1,7288b	1,2301c	
Agosto	2,4686a	1,9079b	1,0136c	1,7512a	1,2537b	1,0334c	
Setembro	1,7536a	1,6343a	1,2642b	1,6827a	1,4337b	1,0419c	

Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem estatisticamente entre si em nível de 5 % de probabilidade pelo teste de Tukey com diferença mínima de 0,2134

Tabela 11 – Valores médios do número de larvas recuperadas dos pastos dos animais dos grupos controle e tratado com o fungo nematófago *D. flagrans*, coletadas de 20 cm e entre 20 e 40 cm de distância do bolo fecal, no período de março a setembro de 2005, em Viçosa, Minas Gerais.

Tratamento	Nematódeo	Médias
Controle 20 cm	<i>Cooperia</i> spp.	62,44a
Controle entre 20 e 40 cm	<i>Cooperia</i> spp.	59,51a
Tratado 20 cm	<i>Cooperia</i> spp.	59,00a
Tratado entre 20 e 40 cm	<i>Cooperia</i> spp.	58,87a
Controle 20 cm	<i>Haemonchus</i> spp.	23,59a
Controle entre 20 e 40 cm	<i>Haemonchus</i> spp.	28,45a
Tratado 20 cm	<i>Haemonchus</i> spp.	26,74a
Tratado entre 20 e 40 cm	<i>Haemonchus</i> spp.	27,13a
Controle 20 cm	<i>Oesophagostomum</i> spp.	13,97a
Controle entre 20 e 40 cm	<i>Oesophagostomum</i> spp.	12,04a
Tratado 20 cm	<i>Oesophagostomum</i> spp.	14,26a
Tratado entre 20 e 40 cm	<i>Oesophagostomum</i> spp.	14,00a

As médias seguidas de pelo menos uma mesma letra na coluna não diferem entre si em nível de 5 % de probabilidade pelo teste de Tukey.

Tabela 12 – Análise de variância das médias mensais de peso dos animais dos grupos controle e tratado com o fungo nematófago *D. flagrans*, medidos durante o período de março a setembro de 2005, em Viçosa, Minas Gerais.

Fontes de variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F.
Tratamento	2	9.417,2231	9.417,2231	4,2298*
Resíduo	110	244.904,8512	2.226,4072	
Total	111	254.322,0743	2.291,8986	
CV = 36,95				

* = significativo em nível de 5 % de probabilidade.

Tabela 13 – Média de peso mensal (kg) dos animais dos grupos controle e tratado com o fungo predador *Duddingtonia flagrans*, em Viçosa-MG, no período de março a setembro de 2005.

Meses	Grupo A	DP	CV (%)	Grupo B	DP	CV (%)
Março	124,63	39,14	22,15	126,25	45,45	34,76
Abril	123,30	38,18	31,88	138,63	45,40	32,76
Maio	123,62	40,71	33,44	149,63	52,00	35,87
Junho	129,25	41,78	38,33	156,13	46,01	31,35
Julho	138,62	51,63	37,99	160,25	40,69	31,73
Agosto	147,12	60,06	40,82	166,35	43,08	33,04
Setembro	145,63	62,43	42,87	174,38	42,15	31,67

Dv= desvio padrão

Cv= coeficiente de variação

Tabela 14 – Valores médios mensais dos pesos dos animais dos grupos controle e tratado com o fungo nematófago *D. flagrans*, medidos durante o período de março a setembro de 2005, em Viçosa, Minas Gerais.

Grupos	Tempo						
	Mar.	Abr.	Mai.	Jun.	Jul.	Ago.	Set.
Controle	124,62a	123,62a	123,62a	129,25a	138,62a	147,12a	145,62a
Tratado	126,25a	138,62a	149,62a	156,12b	156,25b	159,62a	174,37b

Médias seguidas pela mesma letra nas linhas não diferem estatisticamente entre si em nível de 5 % de probabilidade pelo teste de Tukey com diferença mínima de 17,65.

Tabela 15 – Valores dos coeficientes de correlação (r), no grupo controle, para ovos por gramas de fezes (OPG) versus Wisconsin modificado (WM), ovos por gramas de fezes (OPG) versus larvas recuperadas das pastagens e Wisconsin modificado versus larvas recuperadas das pastagens (LRP), dos dados coletados no período de março a setembro de 2005, em Viçosa, Minas Gerais.

Variáveis	Equação	r
OPG x WM	$OPG = - 0,038082531 + 3,010809011*WM$	0,997048137*
OPG x LRP	$OPG = - 0,174215104 + 0,774554877*LRP$	0,044723508 ^{n.s.}
WM x LRP	$WM = - 0,694018153 + 0,458480167 *LRP$	0,122419801 ^{n.s.}

* = significativo em nível de 5 % de probabilidade.

n.s. = não significativo em nível de 5 % de probabilidade

Tabela 16 – Valores dos coeficientes de correlação (r), no grupo tratado com o fungo nematófago *D. flagrans*, para ovos por gramas de fezes (OPG) e Wisconsin modificado (WM), ovos por gramas de fezes (OPG) versus larvas recuperadas das pastagens e Wisconsin modificado versus larvas recuperadas das pastagens (LRP), dos dados coletados no período de março a setembro de 2005, em Viçosa, Minas Gerais.

Variáveis	Equação	r
OPG x WM	$OPG = - 0,022451128 + 2,968874705*WM$	0,998237746*
OPG x LRP	$OPG = 3,39237375 - 0,4437819* LRP$	0,05149638 ^{n.s.}
WM x LRP	$WM = 0,613366001 + 0,051030037*LRP$	0,007141176 ^{n.s.}

* = significativo em nível de 5 % de probabilidade.

n.s. = não significativo em nível de 5 % de probabilidade