

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA**

**ATIVIDADE PREDATÓRIA DO FUNGO
Duddingtonia flagrans SOBRE LARVAS INFECTANTES
DE ESTRONGILÍDEOS PARASITOS DE EQUINOS NA
PASTAGEM NO SUL DO BRASIL**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Gisane Lanes de Almeida

Santa Maria, RS, Brasil, 2009

**ATIVIDADE PREDATÓRIA DO FUNGO *Duddingtonia flagrans*
SOBRE LARVAS INFECTANTES DE ESTRONGILÍDEOS
PARASITOS DE EQUINOS NA PASTAGEM NO SUL DO
BRASIL**

por

Gisane Lanes de Almeida

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária, Área de Concentração em Medicina Veterinária Preventiva, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Medicina Veterinária.**

Orientador: Prof. Mário Luiz de la Rue

Santa Maria, RS, Brasil

2009

**Universidade Federal de Santa Maria
Centro de Ciências Rurais
Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária**

A Comissão Examinadora, abaixo assinada,
aprova a Dissertação de Mestrado

**ATIVIDADE PREDATÓRIA DO FUNGO *Duddingtonia flagrans* SOBRE
LARVAS INFECTANTES DE ESTRONGILÍDEOS PARASITOS DE
EQUINOS NA PASTAGEM NO SUL DO BRASIL**

elaborada por
Gisane Lanes de Almeida

como requisito parcial para obtenção do grau de
Mestre em Medicina Veterinária

Comissão Examinadora:

Mário Luiz de la Rue, Dr.
(Presidente/Orientador)

Janio Moraes Santurio, Dr. (UFSM)

Luís Antonio Sangioni, Dr. (UFSM)

Santa Maria, 9 de setembro de 2009

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Santa Maria e ao Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária, pela oportunidade através da oferta de cursos de qualidade e excelência.

Ao Haras Santa Ana do Rio Grande, Haras Espantoso e José Osvaldo Jardim Filho por disponibilizarem instalações, animais e funcionários em prol da pesquisa.

Ao Prof. Mário Luiz de la Rue, pela orientação, amizade e parceria neste estudo.

Ao Prof. Janio Morais Santurio e ao Laboratório de Pesquisas Micológicas (LAPEMI) da UFSM, pela disponibilização do material imprescindível para a realização do experimento.

Ao Prof. José Laerte Nörnberg e ao Núcleo Integrado de Desenvolvimento em Análise Laboratorial (NIDAL) da UFSM, pela valiosa colaboração através das análises prestadas.

À acadêmica do Curso de Medicina Veterinária da UFSM Giovana Camillo e ao Laboratório de Doenças Parasitárias da UFSM, pela ajuda na realização das análises e preciosa amizade.

Ao Prof. José Henrique Souza da Silva, pela ajuda na análise estatística dos dados.

Aos meus pais Adão Lanes de Almeida e Arlete Terezinha Bandeira de Almeida, que estimularam e apoiaram a busca deste objetivo.

E, finalmente, ao meu companheiro José Osvaldo Jardim Filho, por sempre estar ao meu lado me auxiliando, apoiando e compartilhando todos os momentos e sentimentos.

RESUMO

Dissertação de Mestrado
Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária
Universidade Federal de Santa Maria

ATIVIDADE PREDATÓRIA DO FUNGO *Duddingtonia flagrans* SOBRE LARVAS INFECTANTES DE ESTRONGILÍDEOS PARASITOS DE EQUINOS NA PASTAGEM NO SUL DO BRASIL

AUTORA: GISANE LANES DE ALMEIDA

ORIENTADOR: MÁRIO LUIZ DE LA RUE

Data e Local da Defesa: Santa Maria, 9 de setembro de 2009.

O controle biológico é um método para diminuir uma população de parasitos pela utilização de antagonistas naturais. Uma promissora opção de controle biológico para redução de larvas infectantes na pastagem é o uso de fungos nematófagos. No presente estudo, testou-se a eficácia do fungo nematófago *Duddingtonia flagrans* no controle de nematódeos parasitos gastrintestinais de equinos criados a campo. Utilizaram-se 10 potros com idade média de 12 meses, que foram divididos em dois grupos: 5 machos constituíram o grupo tratamento e 5 fêmeas constituíram o grupo controle. Cada grupo foi introduzido em uma área formada por pastagem mista com aproximadamente 5 hectares. O grupo tratamento recebeu o fungo *D. flagrans* numa concentração de 10^6 clamidósporos kg^{-1} de peso animal, misturados em ração, diariamente, durante 5 meses. O grupo controle não recebeu fungo. Foram colhidas amostras para contagem de ovos por grama de fezes (OPG) semanalmente. Mensalmente, foram realizadas coproculturas e colheita de pasto para contagem de larvas. Ao longo do estudo, não foi observada diferença significativa na contagem de OPG e no número de larvas recuperadas das coproculturas, onde foram identificados ciatostomíneos, *Strongylus* sp. e *Trichostrongylus* sp. O número de larvas recuperadas da pastagem foi significativamente menor no grupo tratamento no último mês, onde o percentual de redução foi de 73,5%. Portanto, o fungo *D. flagrans* foi capaz de reduzir o número de larvas infectantes na pastagem, mas isso não se refletiu em diminuição da infecção parasitária dentro do período estudado (5 meses).

Palavras-chave: controle biológico, nematódeos de equinos, *Duddingtonia flagrans*, fungo nematófago, equinos.

ABSTRACT

Master's Dissertation
Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária
Universidade Federal de Santa Maria

PREDATORY ACTIVITY OF THE FUNGUS *Duddingtonia flagrans* ON INFECTIVE LARVAE OF STRONGYLES PARASITES OF HORSES IN PASTURE IN SOUTH BRAZIL

AUTHOR: GISANE LANES DE ALMEIDA

ADVISOR: MÁRIO LUIZ DE LA RUE

Date and Place of Defense: Santa Maria, September, 9th, 2009.

Biological control is an alternative method used to reduce the population of parasites through natural antagonist. A promising option of biological control to reduce infective larvae in pasture is the use of nematophagous fungus. The efficacy of the nematophagous fungus *Duddingtonia flagrans* was tested to control gastrointestinal nematode parasites of horses in field. Ten foals with mean age of 12 months were divided in two groups: five males constituted the treated group and five females constituted the control group. Each group was introduced into a plot formed by mixed pasture with approximately 5 hectares. The treated group received *D. flagrans* fungus in a concentration of 10^6 clamidospores kg^{-1} body weight, mixed with horse ration, daily, for five months. The control group did not receive the fungus. Faecal egg count (FEC) samples were carried out weekly. Coproculture and collection of pasture were done monthly for larvae counting. No significant difference was observed in the FEC counting and in the number of larvae recovered from coprocultures, where cyathostomes, *Strongylus* sp. and *Trichostrongylus* sp. were found. The number of larvae recovered from pasture was significantly lower in the treated group in the last month of treatment, where the percentage reduction was 73.5%. Therefore, the fungus was able to reduce the number of infective larvae in pasture, but this was not reflected in the reduction of parasite infection during treatment (five months).

Key words: biological control, equine nematodes, *Duddingtonia flagrans*, nematophagous fungus, horses.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – Médias mensais de ovos por grama de fezes (OPG) (A), larvas infectantes de strongilídeos recuperadas da coprocultura (B), temperatura máxima, média e mínima (°C) e umidade relativa do ar (%) (C) e larvas infectantes de strongilídeos por quilograma de matéria seca recuperadas da pastagem e precipitação pluviométrica (D) de Outubro de 2007 a Fevereiro de 2008, Aceguá, RS, Brasil	29
--	----

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	8
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	10
3 MANUSCRITO	14
4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	30

1 INTRODUÇÃO

O controle das infecções parasitárias em equinos é realizado, quase que na totalidade dos criatórios, com o uso de princípios químicos antiparasitários de forma preventiva em intervalos regulares de tempo. Esta forma de manejo sanitário pode potencialmente provocar o aparecimento de populações parasitárias resistentes, o que acarretaria sérios transtornos para a criação, já que os equinos são passíveis de se infectarem por uma variedade de endoparasitos como *Parascaris equorum*, *Strongylus* spp. ciatostomíneos, *Strongyloides westeri* entre outros (MOLENTO, 2005). Os potros de até dois anos de idade são os mais acometidos com essas infecções e por isso geram preocupação constante quanto ao seu desenvolvimento e saúde geral, recebendo em média doze tratamentos anti-helmínticos durante esse período.

Atualmente, para se evitar ou contornar a instalação de resistência parasitária em consequência dos esquemas de tratamentos antiparasitários supressivos, faz-se necessária a adoção de estratégias alternativas para o controle das infecções por nematódeos em equinos, visto que o lançamento de novos princípios ativos com ação antinematódea ainda é uma incógnita. Entre tais estratégias, inclui-se a utilização de alternativas fundamentadas no controle biológico, onde os fungos nematófagos representam uma opção promissora neste aspecto (STEAR et al., 2007).

O fungo nematófago *Duddingtonia flagrans*, cuja atividade predatória se caracteriza pela adesão de hifas sobre as formas larvárias dos parasitos (MOTA et al., 2003), já demonstrou potencialidade no controle biológico de nematódeos de equinos em estudos *in vitro* (FERNÁNDEZ et al., 1997; FERNÁNDEZ et al., 1999; SANTOS et al., 2001). Porém sua atividade à campo continua pouco elucidada, pois poucos estudos nesse sentido foram realizados (LARSEN et al., 1996; BRAGA et al., 2009) e as condições climáticas variam muito de região para região, o que exige a avaliação do desenvolvimento deste fungo e conseqüente atividade nematófaga em condições climatológicas variadas, principalmente nos grandes centros criacionais.

A hipótese deste estudo é que, em piquetes onde forem alocados potros, na lotação de 1 animal por hectare, tratados com clamidósporos do fungo *D. flagrans*, ocorra redução na infestação da pastagem por larvas infectantes de estrongilídeos parasitos de equinos e, conseqüentemente, redução da infecção parasitária nos animais.

O presente estudo foi realizado com o objetivo de avaliar a eficácia do fungo *D.*

flagrans no controle biológico de estrongilídeos parasitos em equinos criados à campo, na concentração de 1 animal por hectare, nas condições climáticas existentes no município de Aceguá, Rio Grande do Sul, Brasil, pelo período de 5 meses.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Uma grande variedade de helmintos é capaz de parasitar equinos, tais como os pequenos estrôngilos – *Coronocyclus* spp., *Craterostomum* spp., *Cyathostomum* spp., *Cylicocyclus* spp., *Cylicodontophorus* spp., *Cylicostephanus* spp., *Paraposteriostomum* spp., *Petrovinema* spp., *Poteriostomum* spp. e *Triodontophorus* spp. –, os grandes estrôngilos – *Strongylus edentatus*, *S. equinus* e *S. vulgaris* – e ainda *Anoplocephala magna*, *Anoplocephala perfoliata*, *Dictyocaulus arnfieldi*, *Fasciola hepatica*, *Habronema* spp., *Oxyuris equi*, *Paranoplocephala mammilana*, *Parascaris equorum*, *Strongyloides westeri* e *Trichostrongylus axei* (FOREYT, 2005; MOLENTO, 2005; BOWMAN et al., 2006). As infecções parasitárias geradas por esses parasitos podem causar desde um pequeno desconforto abdominal até episódios fulminantes de cólica e morte (MOLENTO, 2005).

Frente aos prejuízos causados pelas infecções parasitárias em equinos, o controle parasitário nos criatórios é comumente realizado de forma preventiva em intervalos regulares, utilizando exclusivamente compostos químicos antiparasitários por sua praticidade, facilidade de aquisição e ótima relação custo-benefício, mas esta forma de manejo sanitário provocou o aparecimento de populações parasitárias resistentes (MOLENTO, 2005). A resistência de *Parascaris equorum* à ivermectina foi relatada na Alemanha (VON SAMSON-HIMMELSTJERNA et al., 2007), no Canadá (SLOCOMBE et al., 2007), na Dinamarca (SCHOUGAARD; NIELSEN, 2007), nos Estados Unidos (HEARN; PEREGRINE, 2004; LYONS et al., 2006), na Holanda (BOERSEMA et al., 2002), na Inglaterra (STONEHAM; COLES, 2006) e na Itália (VERONESI et al., 2009). Na Austrália, ivermectina, abamectina e oxibendazole administrados alternadamente falharam no tratamento de um equino infectado por estrongilídeos (EDWARD; HOFFMANN, 2008). A resistência de ciatostomíneos aos benzimidazóis foi relatada no Canadá (SLOCOMBE et al., 2008), nos Estados Unidos (LYONS et al., 2007), na Itália (TRAVERSA et al., 2007), no Marrocos (ZOUITEN et al., 2005) e na Ucrânia (KUZMINA; KHARCHENKO, 2008), à ivermectina na Alemanha (VON SAMSON-HIMMELSTJERNA et al., 2007) e ao pamoato de pirantel na Itália (TRAVERSA et al., 2007) e no Marrocos (ZOUITEN et al., 2005).

Molento et al. (2008), que testaram produtos anti-helmínticos comercialmente disponíveis no Brasil, observaram que fenbendazole e pirantel falharam no controle de *Strongylus equinus* e abamectina, ivermectina e moxidectina não controlaram adequadamente os ciatostomíneos. Em Santa Maria, RS, Brasil, Almeida et al. (2004) determinaram o número

de ovos de helmintos por grama de fezes (OPG) em 65 equinos Puro Sangue de Corrida residentes no Jockey Club Santamariense, sendo que 54,6% de potros e 50% de equinos adultos apresentaram OPG positivo para *Strongylus* sp. (7,4%), *Trichostrongylus* sp. (11,1%) e *Strongyloides* sp. (3,7%) mesmo recebendo tratamento anti-helmíntico com ivermectina (44,4%), doramectina (11,1%) e oxibendazole (22,2%) em intervalos de 30 a 60 dias em esquema alternado.

Com o surgimento de populações de nematódeos resistentes às principais classes de anti-helmínticos, torna-se cada vez maior a necessidade de serem desenvolvidos métodos suplementares ou alternativos de controle de nematódeos, onde se incluem as opções de controle biológico (STEAR et al., 2007). O controle biológico de parasitos se refere à diminuição da população parasitária pela utilização de antagonistas naturais disponíveis no ambiente cujas ações se concentram sobre os hospedeiros intermediários, paratênicos, vetores e estágios larvais de vida livre, não atuando, portanto, sobre estágios internos de parasitos (MOTA et al., 2003).

Uma proposta de controle biológico para redução de larvas infectantes na pastagem é o uso de fungos nematófagos, que são predadores naturais de nematódeos (BAUDENA et al., 2000). Eles são divididos em três grupos: predadores, endoparasitos e oportunistas. A maioria das espécies está classificada como fungos predadores de nematódeos, que aprisionam larvas através de armadilhas – anéis constritores e não constritores, hifas, botões e redes tridimensionais adesivas – produzidas ao longo do micélio. O aprisionamento é seguido pela penetração das hifas na cutícula do nematódeo, havendo crescimento no seu interior e a digestão dos conteúdos internos. Os fungos endoparasitos infectam os nematódeos através de esporos que, uma vez ingeridos pelos parasitos, desenvolvem hifas que acabam também absorvendo o seu conteúdo interno. Já os fungos oportunistas são parasitos de ovos. Suas hifas penetram na casca do ovo, causando alteração na permeabilidade da casca, e colonizam o conteúdo do ovo ou a larva em desenvolvimento no seu interior (MOTA et al., 2003).

Entre os fungos predadores de nematódeos, *Arthrobotrys* spp., *Monacrosporium* spp. e *Duddingtonia flagrans* têm demonstrado efetiva capacidade em reduzir populações de nematódeos em laboratório e em condições de campo, sendo *D. flagrans* a espécie mais estudada na Europa (MOTA et al., 2003). Estudos publicados recentemente concluíram que esta espécie foi eficaz no controle de nematódeos parasitos de bovinos (DIAS et al., 2007; JOBIM et al., 2008), caprinos (PARAUD et al., 2007) e ovinos (KAHN et al., 2007) em condições de campo. Além de demonstrar efetividade em reduzir larvas infectantes na

pastagem e a intensidade e severidade das infecções, *D. flagrans* parece não ter ação deletéria sobre nematódeos não parasitos do solo (STEAR et al., 2007)

O uso de fungos nematófagos representa uma promissora opção para o controle parasitário, mas para um controle ótimo, a dieta dos animais necessita de suplementação diária com o material fúngico (STEAR et al., 2007) e as espécies fúngicas devem ser capazes de sobreviver a passagem pelo trato gastrointestinal dos animais, germinar nas fezes e capturar larvas infectantes (MOTA et al., 2003). *D. flagrans* é um fungo capaz de produzir grandes números de clamidósporos em sua cultura (BAUDENA et al., 2000), que permanecem viáveis depois de ingeridos e eliminados nas fezes, colonizando-as logo após a sua deposição no solo e predando os nematódeos por meio de redes tridimensionais adesivas (LARSEN et al., 1992; WAGHORN et al., 2003). Em equinos, Larsen et al. (1995) testaram três diferentes níveis de dose oral de material fúngico – 10^5 , 10^6 e 10^7 unidades fúngicas kg^{-1} – e os resultados encontrados mostraram que o fungo foi capaz de sobreviver à passagem pelo trato gastrointestinal desses animais nos três níveis testados e também foi capaz de crescer e reduzir o número de larvas infectantes em culturas fecais nas doses de 10^6 e 10^7 unidades fúngicas kg^{-1} .

A atividade predatória de *D. flagrans* sobre nematódeos de equinos já foi estudada *in vitro* encontrando-se mais de 80% de eficácia em reduzir o número de larvas infectantes de estrogilídeos (BIRD & HERD, 1995; FERNÁNDEZ et al., 1997; FERNÁNDEZ et al., 1999; SANTOS et al., 2001). Fernández et al. (1997), Fernández et al. (1999) e Baudena et al. (2000), também avaliaram a atividade de *D. flagrans* no controle biológico de estrogilídeos equinos, depositando sobre pastagem misturas de bolos fecais provenientes de animais que receberam o fungo na alimentação, encontrando redução no número de larvas infectantes na pastagem quando comparadas com os locais onde as misturas de bolos fecais eram provenientes de animais que não ingeriram *D. flagrans*. Com relação a sua atividade predatória sobre nematódeos de equinos em condições de campo, os estudos de Larsen et al. (1996) e Braga et al. (2009) demonstraram eficácia deste fungo na redução de larvas infectantes na pastagem, o que se refletiu na diminuição do número de parasitos presentes no trato gastrointestinal dos animais que foram mantidos nos piquetes de experimentação.

Pesquisas em epidemiologia, biologia e no modo de ação de fungos nematófagos levarão ao conhecimento da viabilidade do emprego destes agentes no controle biológico de nematóides parasitos de animais em condições naturais e uma das perspectivas neste aspecto seria testar os isolados fúngicos com características predatórias promissoras em condições climáticas variadas (MOTA et al., 2003). O emprego de *D. flagrans* como estratégia de

controle parasitário em equinos poderá reduzir a dependência aos anti-helmínticos, reduzir a seleção para nematódeos resistentes e potencialmente aumentar a vida útil desses produtos, teoria esta que deve ser avaliada por experimentos à campo (BAUDENA et al., 2000).

3 MANUSCRITO

Os resultados desta dissertação são apresentados na forma de manuscrito científico, com sua formatação de acordo com as orientações da Ciência Rural, revista a que será submetido.

1 **Atividade predatória do fungo *Duddingtonia flagrans* sobre larvas infectantes de**
2 **estrongilídeos parasitos de equinos na pastagem no sul do Brasil**

3 **Predatory activity of the fungus *Duddingtonia flagrans* on infective larvae of strongyles**
4 **parasites of horses in pasture in south Brazil**

5
6 **Gisane Lanes de Almeida^I Janio Morais Santurio^{II} José Osvaldo Jardim Filho^{III} Régis**
7 **Adriel Zanette^{IV} Giovana Camillo⁵ Alexandra Geyer Flores^V Mário Luiz de la Rue^{VI*}**

8
9 **RESUMO**

10
11 O controle biológico é um método para diminuir uma população de parasitos pela
12 utilização de antagonista natural. No presente estudo, testou-se a eficácia do fungo
13 nematófago *Duddingtonia flagrans* no controle de nematódeos parasitos gastrintestinais de
14 equinos criados a campo. Utilizaram-se 10 potros com idade média de 12 meses, que foram
15 divididos em dois grupos: 5 machos constituíram o grupo tratamento e 5 fêmeas constituíram
16 o grupo controle. Cada grupo foi introduzido em uma área formada por pastagem mista com
17 aproximadamente 5 hectares. O grupo tratamento recebeu o fungo *D. flagrans* numa
18 concentração de 10^6 clamidósporos kg^{-1} de peso animal, misturados em ração, diariamente,
19 durante 5 meses. O grupo controle não recebeu fungo. Foram colhidas amostras para
20 contagem de ovos por grama de fezes (OPG) semanalmente. Mensalmente, foram realizadas
21 coproculturas e colheita de pasto para contagem de larvas. Não houve diferença significativa

^I Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria, RS, Brasil.

^{II} Departamento de Microbiologia e Parasitologia, Centro de Ciências da Saúde (CCS), UFSM, Santa Maria, RS, Brasil.

^{III} Departamento de Clínica de Grandes Animais, Centro de Ciências Rurais, UFSM, Santa Maria, RS, Brasil.

^{IV} Curso de Medicina Veterinária, UFSM, Santa Maria, RS, Brasil.

^V Haras Santa Ana do Rio Grande, Aceguá, RS, Brasil.

^{VI*} Departamento de Microbiologia e Parasitologia, CCS, UFSM, 97105-900, Santa Maria, RS, Brasil. E-mail: mldelarue@hotmail.com. Autor para correspondência.

1 na contagem de OPG e no número de larvas recuperadas das coproculturas, onde foram
2 identificados ciatostomíneos, *Strongylus* sp. e *Trichostrongylus* sp. O número de larvas
3 recuperadas da pastagem foi significativamente menor no grupo tratamento no último mês,
4 onde o percentual de redução foi de 73,5%. Portanto, o fungo foi capaz de reduzir o número
5 de larvas infectantes na pastagem, mas isso não se refletiu em diminuição da infecção
6 parasitária no período estudado (5 meses).

7

8 **Palavras-chave:** controle biológico, nematódeos de equinos, *Duddingtonia flagrans*, fungo
9 nematófago, equinos.

10

11 **ABSTRACT**

12

13 Biological control is an alternative method used to reduce the population of parasites
14 through natural antagonist. A promising option of biological control to reduce infective larvae
15 in pasture is the use of nematophagous fungus. Efficacy of the nematophagous fungus
16 *Duddingtonia flagrans* was tested to control gastrointestinal nematode parasites of horses in
17 field. Ten foals with mean age of 12 months were divided in two groups: five males
18 constituted the treated group and five females constituted the control group. Each group was
19 introduced into a plot formed by mixed pasture with approximately 5 hectares. The treated
20 group received *D. flagrans* fungus in a concentration of 10^6 clamidospores kg^{-1} body weight,
21 mixed with horse ration, daily, for five months. The control group did not receive the fungus.
22 Faecal egg count (FEC) samples were carried out weekly. Coproculture and collection of
23 pasture were done monthly for larvae counting. No significant difference was observed in the
24 FEC counting and in the number of larvae recovered from coprocultures, where
25 cyathostomes, *Strongylus* sp. and *Trichostrongylus* sp. were found. The number of larvae

1 recovered from pasture was significantly lower in the treated group in the last month of
2 treatment, where the percentage reduction was 73.5%. Therefore, the fungus was able to
3 reduce the number of infective larvae in pasture, but this was not reflected in the reduction of
4 parasite infection during treatment (five months).

5
6 **Key words:** biological control, equine nematodes, *Duddingtonia flagrans*, nematophagous
7 fungus, horses.

8 9 **INTRODUÇÃO**

10
11 O controle biológico de parasitos se refere à diminuição da população parasitária pela
12 utilização de antagonistas naturais disponíveis no ambiente cujas ações se concentram sobre
13 os hospedeiros intermediários, paratênicos, vetores e estágios larvais de vida livre, não
14 atuando, portanto, sobre estágios internos de parasitos (MOTA et al., 2003).

15 Uma proposta de controle biológico para redução de larvas infectantes na pastagem é
16 o uso de fungos nematófagos, que são predadores naturais de nematódeos (BAUDENA et al.,
17 2000). O uso de fungos nematófagos representa uma promissora opção para o controle
18 parasitário, quando incluído na dieta dos animais uma suplementação diária com o material
19 fúngico (STEAR et al., 2007). É fundamental que as espécies fúngicas sejam capazes de
20 sobreviver a passagem pelo trato gastrintestinal dos animais, germinar nas fezes e capturar
21 larvas infectantes (MOTA et al., 2003).

22 *Duddingtonia flagrans* tem sido a espécie de fungo nematófago mais estudada na
23 Europa (MOTA et al., 2003) pela fácil obtenção de grandes números de clamidósporos de sua
24 cultura (BAUDENA et al., 2000). Estudos publicados recentemente concluíram que esta
25 espécie foi eficaz no controle de nematódeos parasitos de ovinos (KAHN et al., 2007),

1 bovinos (DIAS et al., 2007; JOBIM et al., 2008) e caprinos (PARAUD et al., 2007) em
2 condições de campo.

3 A atividade predatória de *D. flagrans* sobre nematódeos de equinos já foi estudada *in*
4 *vitro*, encontrando-se mais de 80% de eficácia em reduzir o número de larvas infectantes de
5 strongilídeos (BIRD & HERD, 1995; FERNÁNDEZ et al., 1997; FERNÁNDEZ et al., 1999;
6 SANTOS et al., 2001). FERNÁNDEZ et al. (1997), FERNÁNDEZ et al. (1999) e
7 BAUDENA et al. (2000) também avaliaram a atividade de *D. flagrans* no controle biológico
8 de strongilídeos de equinos, depositando sobre pastagem misturas de bolos fecais
9 provenientes de animais que receberam o fungo na alimentação, encontrando percentuais de
10 redução no número de larvas infectantes na pastagem que variaram de 55% a 99% em
11 comparação com locais onde as misturas de bolos fecais eram provenientes de animais que
12 não ingeriram *D. flagrans*. Com relação a sua atividade predatória sobre nematódeos de
13 equinos em condições de campo, LARSEN et al. (1996) e BRAGA et al. (2009) observaram a
14 eficácia deste fungo na redução de larvas infectantes na pastagem, o que se refletiu em um
15 menor parasitismo gastrointestinal nos animais em que foi administrado o fungo.

16 O presente estudo foi realizado com o objetivo de avaliar a eficácia do fungo *D.*
17 *flagrans*, produzido por meio de fermentação seca em sorgo, no controle biológico de
18 strongilídeos parasitos em equinos criados à campo, no município de Aceguá, Rio Grande do
19 Sul (RS), Brasil, pelo período de 5 meses.

20

21 MATERIAL E MÉTODOS

22

23 O experimento foi realizado no Haras Santa Ana do Rio Grande, localizado no
24 município de Aceguá, RS, latitude 31°30'16"S, longitude 54°07'46", de outubro de 2007 a
25 fevereiro de 2008. Foram utilizados para o estudo 10 potros da raça Puro Sangue de Corrida,

1 de ambos os sexos, com idade inicial aproximada de 12 meses, que foram divididos em dois
2 grupos com 5 animais cada (concentração de 1 animal hectare⁻¹). Um grupo, constituído por
3 machos, foi denominado tratamento e o outro, constituído por fêmeas, foi denominado
4 controle. Aproximadamente 30 dias antes do início do experimento, cada grupo foi
5 introduzido em um piquete com aproximadamente 5 hectares, tendo à disposição água e
6 pastagem nativa – *Andropogon lateralis*, *Axonopus compressua*, *Axonopus compressus*,
7 *Cynodon dactylon*, *Medicago hispida*, *Paspalum dilatatum*, *Paspalum notatum* e *Pennisetum*
8 *clandestinum* – e cultivada – *Lolium multiflorum*, *Lotus corniculatus*, *Trifolium pratense* e
9 *Trifolium repens* – (TORRES & JARDIM, 1984). Nessa ocasião, todos foram tratados com
10 anti-helmíntico à base de ivermectina (Ivermectina Ouro Fino Pasta para Equinos[®], Ouro
11 Fino-São Paulo, Brasil), que reduziu a contagem de ovos por grama de fezes (OPG) a zero,
12 comprovado pela realização de exame parasitológico de fezes (GORDON & WHITLOCK,
13 1939) sete dias após o tratamento. Os dois piquetes, anteriormente à realização do
14 experimento, eram utilizados para o pastejo de equinos, bovinos e ovinos em consórcio, sendo
15 naturalmente infestados com larvas de strongilídeos. Foram colocados 5 cochos móveis
16 individuais próprios para equinos em cada piquete, onde foi fornecido, diariamente, alimento
17 à base de aveia.

18 Foram utilizados clamidósporos do fungo *D. flagrans*, cepa ARSEF 5701, obtido no
19 Laboratório de Pesquisas Micológicas (LAPEMI) da Universidade Federal de Santa Maria
20 (UFSM), onde o fungo foi cultivado por 6 a 8 semanas em sorgo estéril (WALLER et al.,
21 2001), atingindo uma concentração aproximada de 10⁶ clamidósporos g⁻¹ de sorgo. Para os
22 animais do grupo tratamento, foi fornecido sorgo contendo *D. flagrans* na dose de 10⁶
23 clamidósporos kg⁻¹ de peso animal (LARSEN et al., 1995), diariamente, misturados ao
24 alimento. Os animais do grupo controle também receberam sorgo diariamente em quantidade
25 equivalente ao fornecido para o grupo tratamento, porém não contendo fungo.

1 Foram colhidas, semanalmente, amostras de fezes da ampola retal para determinação
2 da contagem de OPG conforme a técnica de GORDON & WHITLOCK (1939). A cada mês,
3 uma porção das amostras de fezes foi utilizada para a realização de coprocultura. A
4 recuperação de larvas infectantes foi realizada segundo a técnica de ROBERTS &
5 O’SULLIVAN (1950) e foram identificadas de acordo com as descrições em MAFF (1977).

6 Mensalmente, foi realizada pesagem dos animais e colheita de amostras de pastagem.
7 Os resultados da pesagem foram utilizados para ajuste da quantidade de alimento fornecido a
8 ambos os grupos e da dose de fungo no grupo tratamento. As amostras de pastagem foram
9 colhidas em padrão de “zigzag”, sendo 80% obtidas de perto (menos de 20 cm) e 20% de
10 longe (cerca de 1 m) dos bolos fecais e foram destinadas para contagem do número de larvas
11 infectantes kg^{-1} de matéria seca, conforme a técnica de lavagem de pasto descrita por
12 MOLENTO (2001).

13 O percentual de redução de OPG e de larvas foi calculado através da fórmula utilizada
14 por TERRILL et al. (2004): $\%redução = [(X-Y)/X].100$; onde X representa dados do grupo
15 controle e Y , dados do grupo tratamento, devendo $X > 0$ e $X \neq 0$.

16 Dados climáticos de temperatura máxima, média e mínima, umidade relativa do ar e
17 precipitação pluviométrica foram obtidos junto ao Aeroporto Internacional Comandante
18 Gustavo Kraemer, localizado no município de Bagé, RS a aproximadamente 12 km de
19 distância do local do experimento.

20 Todos os dados foram correlacionados e analisados estatisticamente através de análise
21 de variância (ANOVA) e teste de comparação múltipla de Tukey ($p < 0,05$), utilizando-se
22 delineamento inteiramente casualizado. A análise estatística foi realizada pelo programa
23 Statistical Analysis System, versão 8.02.

24

25 **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

1

2 O parâmetro OPG demonstra os níveis de infecção nos animais e os níveis de
3 infestação da pastagem por nematódeos parasitos gastrintestinais (AMARANTE et al., 1996).
4 As médias mensais de OPG são mostradas na Figura 1-A. A contagem de OPG foi maior no
5 grupo controle do que no grupo tratamento nos 4 primeiros meses, porém, não houve
6 diferença significativa ($p < 0,05$) entre os grupos durante todo o período avaliado, o que
7 conseqüentemente não provocou diferenças significativas nas médias dos pesos dos animais
8 (dados não mostrados). Não houve a necessidade de avaliar o efeito sexo, pois em outros
9 estudos envolvendo parasitismo por nematódeos em equinos, não foi observada diferença de
10 prevalência ou OPG entre machos e fêmeas (MFITILODZE & HUTCHINSON, 1990;
11 MARTINS et al., 2001; ALMEIDA et al., 2004). Os percentuais de redução de OPG para os
12 meses de Outubro, Novembro e Dezembro de 2007 e Janeiro de 2008 foram, respectivamente,
13 26,9%, 27,8%, 26,8% e 4,6%. LARSEN et al. (1996), que estudaram a capacidade do fungo
14 *D. flagrans* em prevenir infecções por estrongilídeos em potros mantidos em pastagem,
15 também não encontraram diferença significativa nas médias de OPG na primeira fase de seu
16 estudo, que durou 3 meses. Porém, na fase seguinte, de 5 meses, observaram diferença
17 significativa nas médias de OPG de potros traçadores. BRAGA et al. (2009), em estudo de 6
18 meses avaliando o uso de *D. flagrans* no controle biológico de ciatostomíneos em éguas
19 mantidas em pastagem, já a partir do 3º mês observaram diferença significativa nas médias de
20 OPG.

21 Visto que, no ambiente, a atividade predatória dos fungos nematófagos ocorre sobre as
22 larvas infectantes em desenvolvimento no bolo fecal (LARSEN, 1999), é provável que a
23 concentração animal por hectare tenha influenciado no surgimento rápido de diferenças
24 significativas nas médias de OPG observadas por LARSEN et al. (1996) e BRAGA et al.
25 (2009), pois segundo URQUHART et al. (1996), altas densidades populacionais nos rebanhos

1 podem induzir os animais a pastar mais perto de fezes do que o normal. No presente estudo, a
2 concentração utilizada foi de 1 animal hectare⁻¹ (potros de 1 ano), enquanto LARSEN et al.
3 (1996) e BRAGA et al. (2009) utilizaram, respectivamente, 6,25 animais hectare⁻¹ (potros de
4 1 ano) e 3,2 animais hectare⁻¹ (éguas). Não existe, para a equinocultura, uma definição de
5 concentração animal por hectare adequada para animais criados à campo, pois o número de
6 equinos que um hectare pode comportar varia muito de uma pastagem para outra (TORRES &
7 JARDIM, 1984) e carecem estudos no sentido de correlacionar a densidade populacional com
8 a atividade predatória do fungo.

9 A Figura 1-B ilustra os dados referentes à coprocultura, nos quais também não houve
10 diferença significativa ($p < 0.05$) entre os grupos em todo o período do experimento e onde
11 foram identificadas larvas infectantes de ciatostomíneos, *Strongylus* sp. e *Trichostrongylus* sp.
12 O total de larvas recuperadas foi maior no grupo controle nos meses de Novembro e
13 Dezembro de 2007 e Janeiro e Fevereiro de 2008 com percentuais de redução larval de 30%,
14 7,2%, 22% e 24,2%, respectivamente. LARSEN et al. (1996), diferentemente, já na primeira
15 fase de seu estudo, observaram diferenças significativas na quantidade de larvas recuperadas
16 das coproculturas de potros tratados e não tratados com o fungo, sendo que no grupo tratado
17 este número foi bem menor do que no grupo controle. Além disso, percentuais de redução
18 acima de 65% e 95 % foram observadas em coproculturas por FERNÁNDEZ et al. (1997) e
19 FERNÁNDEZ et al. (1999), respectivamente, em estudos utilizando equinos estabulados.
20 Quantidades de larvas recuperadas de coproculturas também significativamente menores,
21 foram observadas por BRAGA et al. (2009) do 3º ao 6º (último) mês de seu experimento em
22 coproculturas de éguas tratadas com o fungo, onde os percentuais de redução foram
23 superiores à 50%.

24 Esses achados citados reforçam que os resultados encontrados nas coproculturas no
25 presente estudo não foram os esperados. O fator que possivelmente influenciou nesses

1 resultados, além das diferentes metodologias empregadas, foi a dose administrada de material
2 fúngico, já que LARSEN et al. (1996) e FERNÁNDEZ et al. (1997) utilizaram doses
3 superiores (5×10^6 clamidósporos kg^{-1} de peso). BRAGA et al. (2009) não especificou a dose
4 utilizada em seu estudo.

5 Os dados relativos ao número de larvas infectantes recuperadas da pastagem podem
6 ser visualizados na Figura 1-D. A média de larvas recuperadas nos meses de Outubro e
7 Dezembro de 2007 e Fevereiro de 2008 foram maiores no grupo controle, havendo diferença
8 significativa ($p < 0,05$) apenas no último mês. Os percentuais de redução larval nas amostras de
9 pastagem em tais meses foram, respectivamente, 11,9%, 64,5% e 73,5%. Resultados similares
10 foram relatados por LARSEN et al. (1996) e FERNÁNDEZ et al. (1997), que observaram
11 redução significativa de larvas infectantes na pastagem apenas no 3º mês e nos 2 últimos
12 meses de seu estudo, respectivamente. Adicionalmente, BAUDENA et al. (2000), em seu
13 experimento de 12 meses dividido em 11 períodos, onde depositaram preparados de bolos
14 fecais com e sem o fungo sobre a pastagem, observaram redução significativa nos períodos 2,
15 9, 10 e 11, sendo que os percentuais de redução variaram de 55% a 99% no decorrer de todo o
16 estudo. Ao contrário, FERNÁNDEZ et al. (1999) e BRAGA et al. (2009) observaram
17 diferenças significativas durante todo o período de seu experimento, onde obtiveram,
18 respectivamente, percentuais de redução média de 94,8% e acima de 75%, o que pode ser
19 explicado pelas condições climáticas favoráveis que ocorreram ao longo de seus estudos.

20 Temperatura e umidade são fatores essenciais para o desenvolvimento das larvas
21 infectantes (STROMBERG, 1997). Durante períodos de seca, seu desenvolvimento é menor
22 enquanto sua sobrevivência é mais longa (COURTNEY, 1999). Alguns autores relataram que,
23 em determinados momentos, a transmissão de larvas para a pastagem foi muito pequena
24 devido à baixa precipitação pluviométrica, não sendo possível avaliar a atividade predatória
25 de *D. flagrans* (LARSEN et al., 1996; FERNÁNDEZ et al., 1997; BAUDENA et al., 2000).

1 Da mesma forma, essas características climáticas podem ter sido responsáveis pelo menor
2 número de larvas infectantes recuperadas da pastagem no mês de Janeiro de 2008 no presente
3 experimento. Este fato pode representar um provável reflexo do menor índice pluviométrico e
4 umidade relativa do ar observados no mês de Dezembro de 2007 (Figura 1-C e D) e o que
5 impediu uma avaliação satisfatória da atividade predatória do fungo entre os dois meses –
6 Dezembro de 2007 e Fevereiro de 2008 - em que foi observado um marcado aumento no
7 percentual de redução larval na pastagem. As médias de temperatura foram satisfatórias para a
8 atividade fúngica durante todo o período estudado (Figura 1-C), com base nas observações de
9 SANTOS et al. (2001) que, ao testarem a atividade predatória de *D. flagrans* sobre larvas
10 infectantes de ciatostomíneos sob diferentes temperaturas, concluíram que o fungo
11 demonstrou melhores percentuais de redução sob 25-30°C.

12

13 **CONCLUSÃO**

14

15 O fungo nematófago *Duddingtonia flagrans* demonstrou atividade predatória sobre
16 larvas infectantes de estrongilídeos parasitos de equinos na pastagem na concentração de 1
17 animal hectare⁻¹. Mesmo assim, isso não se refletiu em diminuição da infecção parasitária nos
18 animais testados durante o período estudado.

19 Baseado nas observações deste estudo, é possível que *D. flagrans* possa ser usado em
20 um programa de controle parasitário equino nesta região, associando seu fornecimento diário
21 aos animais com tratamentos anti-helmínticos periódicos e/ou seletivos. O efeito predatório
22 do fungo na pastagem poderá diminuir a taxa de translação, aumentando o intervalo entre os
23 tratamentos, reduzindo a seleção de estrongilídeos resistentes e aumentando a vida útil dos
24 produtos anti-helmínticos disponíveis no mercado.

25

1 **AGRADECIMENTOS**

2

3 Nossos agradecimentos às equipes do Haras Santa Ana do Rio Grande, do Laboratório
4 de Pesquisas Micológicas (LAPEMI-UFSM), do Laboratório de Doenças Parasitárias
5 (UFSM), do Núcleo Integrado de Desenvolvimento em Análise Laboratorial (NIDAL-UFSM)
6 e ao professor José Henrique Souza da Silva (UFSM) pela inestimável colaboração.

7

8 **REFERÊNCIAS**

9

10 ALMEIDA, G. L. et al. Frequência de tratamento antiparasitário e falta de eficácia em
11 helmintos de equinos PSC no Jockey Club de Santa Maria, RS. **Revista Brasileira de**
12 **Parasitologia Veterinária**, v. 13, supl. 1, p. 128, 2004.

13 AMARANTE, A. F. T. et al. Contaminação de larvas de nematóides gastrintestinais parasitos
14 de bovinos e ovinos em Botucatu-SP. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 5,
15 n. 2, p.65-73, 1996.

16 BAUDENA, M. A. et al. Efficacy of the nematophagous fungus *Duddingtonia flagrans* in
17 reducing equine cyathostome larvae on pasture in south Louisiana. **Veterinary Parasitology**,
18 v. 89, p. 219-230, 2000.

19 BIRD, J.; HERD, R. P. In vitro assessment of two species of nematophagous fungi
20 (*Arthrobotrys oligospora* and *Arthrobotrys flagrans*) to control the development of infective
21 cyathostome larvae from naturally infected horses. **Veterinary Parasitology**, v. 56, p. 181-
22 187, 1995.

23 BRAGA, F. R. et al. Biological control of horse cyathostomin (Nematoda: Cyathostominae)
24 using the nematophagous fungus *Duddingtonia flagrans* in tropical southeastern Brazil.
25 **Veterinary Parasitology**, v. 164, p. 335-340, 2009.

- 1 COURTNEY, C. H. Seasonal transmission of equine cyathostomin in warm climates.
2 **Veterinary Parasitology**, v. 85, p. 173-180, 1999.
- 3 DIAS, A. S. et al. Application of a formulation of the nematophagous fungus *Duddingtonia*
4 *flagrans* in the control of cattle gastrointestinal nematodiosis. **World Journal of**
5 **Microbiology & Biotechnology**, v. 23, p.1245-1252, 2007.
- 6 FERNÁNDEZ, A. S. et al. Effect of the nematode-trapping fungus *Duddingtonia flagrans* on
7 the free-living stages of horse parasitic nematodes: a plot study. **Veterinary Parasitology**, v.
8 73, p. 257-266, 1997.
- 9 FERNÁNDEZ, A. S. et al. A new isolate of the nematophagous fungus *Duddingtonia*
10 *flagrans* a biological control agent against free-living larvae of horse strongyles. **Equine**
11 **Veterinary Journal**, v. 31, n. 6, p. 488-491, 1999.
- 12 GORDON, H. L.; WHITLOCK, H. V. A new technique for counting nematode eggs in sheep
13 faeces. **Journal of the Council for Scientific and Industrial Research**, v. 12, p. 50-52,
14 1939.
- 15 JOBIM, M. B. et al. *Duddingtonia flagrans*: controle biológico de nematódeos de bovinos a
16 campo. **Ciência Rural**, v. 38, n. 8, p. 2256-2263, 2008.
- 17 KAHN, L. P. et al. Trapping efficacy of *Duddingtonia flagrans* against *Haemonchus*
18 *contortus* at temperatures existing at lambing in Australia. **Veterinary Parasitology**, v. 146,
19 p. 83-89, 2007.
- 20 LARSEN, M. Biological control of helminths. **International Journal for Parasitology**, v.
21 29, p. 139-146, 1999.
- 22 LARSEN, M. et al. Predacious activity of the nematode-trapping fungus *Duddingtonia*
23 *flagrans* against cyathostome larvae in faeces after passage through the gastrointestinal tract
24 of horses. **Veterinary Parasitology**, v. 60, p. 315-320, 1995.
- 25 LARSEN, M. et al. The capacity of the fungus *Duddingtonia flagrans* to prevent strongyle

- 1 infections in foals on pasture. **Parasitology**, v. 113, p. 1-6, 1996.
- 2 MARTINS, I. V. F. et al. Frequência e distribuição de larvas de ciatostomíneos (Strongylidae:
3 Cyathostominae) encistadas nas mucosas intestinais de equinos oriundos de apreensão, no
4 estado do Rio de Janeiro. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 10, n. 1, p. 45-
5 47, 2001.
- 6 MAFF (MINISTRY OF AGRICULTURE, FISHERIES AND FOOD). **Manual of**
7 **Veterinary Parasitological Laboratory Technique: Technical Bulletin**, n. 18. London: Her
8 Majesty's Stationery Office, 1977. 129 p.
- 9 MFITILODZE, M. W.; HUTCHINSON, G. W. Prevalence and abundance of equine
10 strongyles (Nematoda: Strongyloidea) in Tropical Australia. **The Journal of Parasitology**, v.
11 76, n. 4, 1990.
- 12 MOLENTO, M. B. Técnica de contagem de larvas no pasto como ferramenta para diagnóstico
13 parasitológico. In: 2º SIMPÓSIO DA REDE DE HELMINTOLOGIA PARA AMÉRICA
14 LATINA E CARIBE. **Anais...** Buenos Aires, Argentina, 2001, CD-ROM.
- 15 MOTA, M. A. et al. Controle biológico de helmintos parasitos de animais: estágio atual e
16 perspectivas futuras. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 23, n. 3, p. 93-100, 2003.
- 17 PARAUD, C. et al. Efficiency of feeding *Duddingtonia flagrans* chlamydozoospores to control
18 nematode parasites of first-season grazing goats in France. **Veterinary Research**
19 **Communications**, v. 31, p. 305-315, 2007.
- 20 ROBERTS, F. H. S; O'SULLIVAN, J. P. Methods for egg counts and larval cultures for
21 strongyles infesting the gastro-intestinal tract of cattle. **Australian Agricultural Research**,
22 v.1, 1950, 99p.
- 23 SANTOS, C. P. et al. Predatory activity of *Arthrobotrys oligospora* and *Duddingtonia*
24 *flagrans* on pre-parasitic larval stages of cyathostominae under different constant
25 temperatures. **Ciência Rural**, v. 31, n. 5, p. 839-842, 2001.

- 1 STEAR, M. J. et al. Alternatives to anthelmintics for the control of nematodes in livestock.
2 **Parasitology**, v. 134, p. 139-151, 2007.
- 3 STROMBERG, B. E. Environmental factors influencing transmission. **Veterinary**
4 **Parasitology**, v. 72, p. 247-264, 1997.
- 5 TERRIL, T. H. et al. Capability of the nematode-trapping fungus *Duddingtonia flagrans* to
6 reduce infective larvae of gastrointestinal nematodes in goat feces in the southeastern United
7 States: dose titration and dose time interval studies. **Veterinary Parasitology**, v. 120, p. 285-
8 296, 2004.
- 9 TORRES, A. P.; JARDIM, W. R. **Criação do cavalo e de outros equinos**. 2 ed. São Paulo:
10 Nobel, 1984.
- 11 URQUHART, G. M. et al. **Parasitologia Veterinária**. 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara
12 Koogan, 1996.
- 13 WALLER, P. J. et al. The potential of nematophagous fungi to control the free-living stages
14 of nematode parasites of sheep: towards the development of a fungal controlled release
15 device. **Veterinary Parasitology**, v. 102, p. 299-308, 2001.

16

17

18

19

20

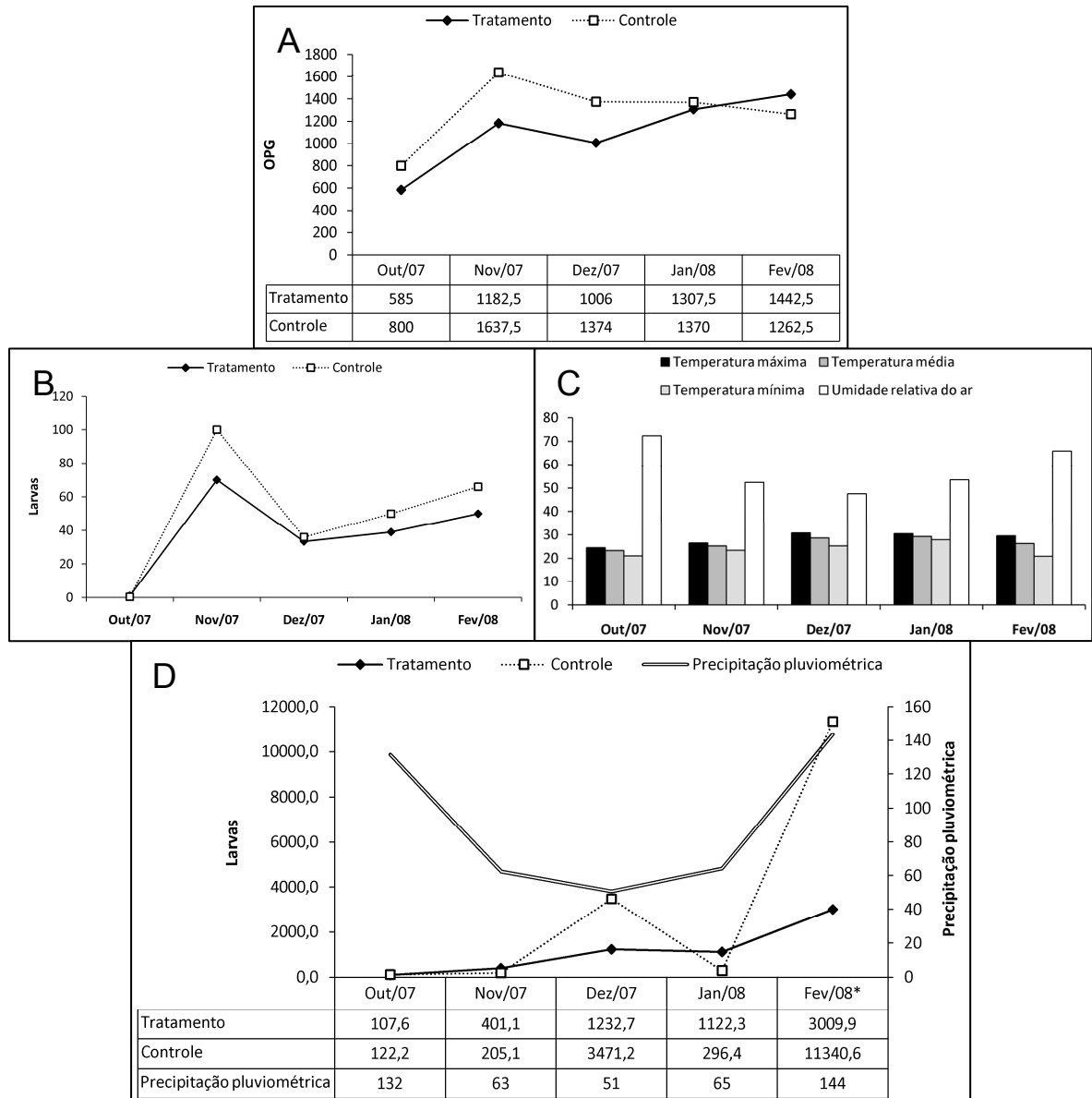
21

22

23

24

25



1

2 Figura 1 – Médias mensais de ovos por grama de fezes (OPG) (A), larvas infectantes de
 3 estrongilídeos recuperadas da coprocultura (B), temperatura máxima, média e mínima (°C) e
 4 umidade relativa do ar (%) (C) e larvas infectantes de estrongilídeos por quilograma de
 5 matéria seca recuperadas da pastagem e precipitação pluviométrica (D) de Outubro de 2007 a
 6 Fevereiro de 2008, Aceguá, RS, Brasil. Diferença significativa entre os grupos assinalada pelo
 7 * – teste de Tukey ($p < 0,05$).

8

9

4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, G. L. et al. Frequência de tratamento antiparasitário e falta de eficácia em helmintos de equinos PSC no Jockey Club de Santa Maria, RS. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Rio de Janeiro, v. 13, p. 128, set. 2004, supl. 1.

BAUDENA, M. A. et al. Efficacy of the nematophagous fungus *Duddingtonia flagrans* in reducing equine cyathostome larvae on pasture in south Louisiana. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 89, n. 3, p. 219-230, Apr. 2000.

BIRD, J.; HERD, R. P. In vitro assessment of two species of nematophagous fungi (*Arthrobotrys oligospora* and *Arthrobotrys flagrans*) to control the development of infective cyathostome larvae from naturally infected horses. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 56, n. 1-3, p. 181-187, Jan. 1995.

BOERSEMA, J. H. et al. Apparent resistance of *Parascaris equorum* to macrocyclic lactones. **The Veterinary Record**, London, v. 150, n. 9, p. 279-281, Mar. 2002.

BOWMAN, D. D. et al. **Parasitologia veterinária de Georgis**. 8. ed. Barueri: Manole, 2006. 422 p.

BRAGA, F. R. et al. Biological control of horse cyathostomin (Nematoda: Cyathostominae) using the nematophagous fungus *Duddingtonia flagrans* in tropical southeastern Brazil. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 163, n. 4, p. 335-340, Aug. 2009.

DIAS, A. S. et al. Application of a formulation of the nematophagous fungus *Duddingtonia flagrans* in the control of cattle gastrointestinal nematodiosis. **World journal of microbiology & biotechnology**, Dordrecht, v. 23, n. 9, p. 1245-1252, Sept. 2007.

EDWARD, C. L.; HOFFMANN, A. A. Ivermectin resistance in a horse in Australia. **The Veterinary Record**, London, v. 162, n. 2, p. 56-57, Jan. 2008.

FERNÁNDEZ, A. S. et al. Effect of the nematode-trapping fungus *Duddingtonia flagrans* on

the free-living stages of horse parasitic nematodes: a plot study. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 73, n. 3-4, p. 257-266, Dec. 1997.

FERNÁNDEZ, A. S. et al. A new isolate of the nematophagous fungus *Duddingtonia flagrans* a biological control agent against free-living larvae of horse strongyles. **Equine Veterinary Journal**, London, v. 31, n. 6, p. 488-491, Nov. 1999.

FOREYT, W. J. Parasitas de equinos. In: FOREYT, W. J. **Parasitologia veterinária: manual de referência**. 5. ed. São Paulo: Roca, 2005. p. 131-147.

HEARN, F. P.; PEREGRINE, A. S. Identification of foals infected with *Parascaris equorum* apparently resistant to ivermectin. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, New York, v. 225, n. 4, p. 903-910, Aug. 2004.

JOBIM, M. B. et al. *Duddingtonia flagrans*: controle biológico de nematódeos de bovinos a campo. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 8, p. 2256-2263, nov. 2008.

KAHN, L. P. et al. Trapping efficacy of *Duddingtonia flagrans* against *Haemonchus contortus* at temperatures existing at lambing in Australia. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 146, n. 1-2, p. 83-89, May 2007.

KUZMINA, T. A.; KHARCHENKO, V. O. Anthelmintic resistance in cyathostomins of brood horses in Ukraine and influence of anthelmintic treatments on strongyloid community structure. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 154, n. 3-4, p. 277-288, July 2008.

LARSEN, M. et al. *In vivo* passage through calves of nematophagous fungi selected for biocontrol of parasitic nematodes. **Journal of Helminthology**, London, v. 66, n. 2, p. 137-141, June 1992.

LARSEN, M. et al. Predacious activity of the nematode-trapping fungus *Duddingtonia flagrans* against cyathostome larvae in faeces after passage through the gastrointestinal tract of horses. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 60, n. 3-4, p. 315-320, Dec. 1995.

LARSEN, M. et al. The capacity of the fungus *Duddingtonia flagrans* to prevent strongyle

infections in foals on pasture. **Parasitology**, London, v. 113, n. 1, p. 1-6, July 1996.

LYONS, E. T. et al. Field studies on endoparasites of Thoroughbred foals on seven farms in central Kentucky in 2004. **Parasitology Research**, Berlin, v. 98, n. 5, p. 496-500, Apr. 2006.

LYONS, E. T. et al. Study (1991 to 2001) of drug-resistant Population B small strongyles in critical tests in horses in Kentucky at the termination of a 40-year investigation. **Parasitology Research**, Berlin, v. 101, n. 4, p. 689-701, Mar. 2007.

MOLENTO, M. B. Resistência parasitária em helmintos de equídeos e propostas de manejo. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 35, n. 6, p. 1469-1477, nov./dez. 2005.

MOLENTO, M. B. et al. Anthelmintic resistant nematodes in Brazilian horses. **The Veterinary Record**, London, v. 162, n. 12, p. 384-385, Mar. 2008.

MOTA, M. A. et al. Controle biológico de helmintos parasitos de animais: estágio atual e perspectivas futuras. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 23, n. 3, p. 93-100, jul./set. 2003.

PARAUD, C. et al. Efficiency of feeding *Duddingtonia flagrans* chlamydozoospores to control nematode parasites of first-season grazing goats in France. **Veterinary Research Communications**, Amsterdam, v. 31, n. 3, p. 305-315, Apr. 2007.

SANTOS, C. P. et al. Predatory activity of *Arthrobotrys oligospora* and *Duddingtonia flagrans* on pre-parasitic larval stages of cyathostominae under different constant temperatures. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 31, n. 5, p. 839-842, set./out. 2001.

SCHOUGAARD, H.; NIELSEN, M. K. Apparent ivermectin resistance of *Parascaris equorum* in foals in Denmark. **The Veterinary Record**, London, v. 160, n. 13, p. 439-440, Mar. 2007.

SLOCOMBE, J. O. D. et al. Macrocytic lactone-resistant *Parascaris equorum* on stud farms in Canada and effectiveness of fenbendazole and pyrantel pamoate. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 145, n. 3-4, p. 371-376, Apr. 2007.

SLOCOMBE, J. O. D. et al. The persistence of benzimidazole-resistant cyathostomes on horse farms in Ontario over 10 years and the effectiveness of ivermectin and moxidectin against these resistant strains. **The Canadian Veterinary Journal**, Guelph, v. 49, n. 1, p. 56-60, Jan. 2008.

STEAR, M. J. et al. Alternatives to anthelmintics for the control of nematodes in livestock. **Parasitology**, London, v. 134, n. 2, p. 139-151, Feb. 2007.

STONEHAM, S.; COLES, G. Ivermectin resistance in *Parascaris equorum*. **The Veterinary Record**, London, v. 158, p. 572, Apr. 2006.

TRAVERSA, D. et al. Occurrence of anthelmintic resistant equine cyathostome populations in central and southern Italy. **Preventive Veterinary Medicine**, Amsterdam, v. 82, n. 3-4, p. 314-320, Dec. 2007.

VERONESI, F. et al. Field effectiveness of pyrantel and failure of *Parascaris equorum* egg count reduction following ivermectin treatment in Italian horse farms. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 161, n. 1-2, p. 138-141, Apr. 2009.

VON SAMSON-HIMMELSTJERNA, G. et al. Cases of reduced cyathostomin egg-reappearance period and failure of *Parascaris equorum* egg count reduction following ivermectin treatment as well as survey on pyrantel efficacy on German horse farms. **Veterinary Parasitology**, London, v. 144, n. 1-2, p. 74-80, Mar. 2007.

WAGHORN, T. S. et al. Efficacy of the nematode-trapping fungus *Duddingtonia flagrans* against three species of gastrointestinal nematodes in laboratory faecal cultures from sheep and goats. **Veterinary Parasitology**, London, v. 118, n. 3-4, p. 227-234, Dec. 2003.

ZOUITEN, H. et al. Poor efficacy of the most commonly used anthelmintics in sport horse nematodes in Morocco in relation to resistance. **Parasite**, Paris, v. 12, n. 4, p. 347-351, Dec. 2005.