



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL**

**AÇÃO DO FUNGO *ARTHROBOTRYX CLADODES* COMO CONTROLADOR
BIOLÓGICO DE NEMATÓDEOS GASTRINTESTINAIS DE OVINOS**

JOSSIARA ABRANTE RODRIGUES

**PATOS - PB
FEVEREIRO DE 2020**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL**

**AÇÃO DO FUNGO *ARTHROBOTRYX CLADODES* COMO CONTROLADOR
BIOLÓGICO DE NEMATÓDEOS GASTRINTESTINAIS DE OVINOS**

JOSSIARA ABRANTE RODRIGUES

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Campina Grande, como parte dos requisitos do Programa de Pós-graduação em Ciência Animal para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Orientador: Prof. Dr. Vinícius Longo Ribeiro Vilela

Co-orientador: Prof. Dr. Jackson Victor de Araújo

**PATOS - PB
FEVEREIRO DE 2020**

FICHA CATALOGRÁFICA

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA DO CSTR DA UFCG

R696a Rodrigues, Jossiara Abrante
 Ação do fungo *Arthrobotrys cladodes* como controlador biológico de nematódeos gastrintestinais de ovinos / Jossiara Abrante Rodrigues. – Patos, 2020.
 50f.: il. color.

 Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, 2020.

 “Orientação: Prof. Dr. Vinícius Longo Ribeiro Vilela”.
 “Corientação: Prof. Dr. Jackson Victor de Araújo”.

 Referências.

 1. A. Cladodes. 2. Controle biológico. 3. Pequenos ruminantes. I. Título.

CDU 614.9



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
COORDENAÇÃO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

PROVA DE DEFESA DO TRABALHO DE DISSERTAÇÃO


TÍTULO: “Ação do fungo *Arthrobotrys cladodes* como controlador biológico de nematódeos gastrintestinais de ovinos”

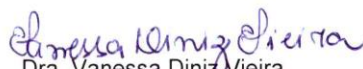
AUTORA: Jossiara Abrante Rodrigues

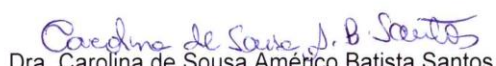
ORIENTADOR: Dr. Vinicius Longo Ribeiro Vilela

JULGAMENTO

CONCEITO: APROVADO


Dr. Vinicius Longo Ribeiro Vilela
DES-SS/IFPB
Presidente


Dra. Vanessa Diniz Vieira
FIP
1º Examinador


Dra. Carolina de Sousa Américo Batista Santos
UAMV/UFCG
2º Examinador

Patos - PB, 18 de fevereiro de 2020


Prof. Dr. José Paulo de Fátima Paulino de Moura
Coordenador PPGCA/CSTR/UFCG
Coordenador
MGL-SAP-E1506999

DEDICO

Aos meus pais, José e Cárcia, que sempre estiveram ao meu lado me apoiando em todos os momentos.

Amo vocês.

AGRADECIMENTOS

A Deus por mais essa conquista e por estar sempre ao meu lado, guiando os meus caminhos.

Aos meus pais, José e Cárzia, pelo amor e apoio incondicional, e por todos os sacrifícios para que eu chegasse até aqui.

A minha irmã Jussara e ao meu cunhado Cícero por todo incentivo e amizade. Agradeço mais ainda por terem me presenteado com o meu sobrinho Caio, por tornar os meus dias mais leves e felizes.

Ao meu namorado Ney pelo amor, amizade, companheirismo e por não me deixar abater diante das dificuldades.

A minha amiga de graduação Amanda que apesar de seguirmos caminhos diferentes sempre se fez presente em minha vida.

Ao professor Vinícius Longo pela disponibilidade, ensinamentos, paciência e por te me acolhido junto a sua equipe.

A equipe do laboratório de parasitologia veterinária, em especial a Felipe, Larissa, Juliana, Paulo, Wlysse, Clarisse, Leonardo e Júnior. Agradeço a todos pela ajuda para a realização deste trabalho.

As professoras Vanessa Diniz e Carolina de Sousa por todas as contribuições para o nosso trabalho.

A todos os colegas da pós-graduação, em especial, a Myrla pelo carinho, acolhimento e amizade.

A CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior), pelo apoio financeiro que viabilizou a realização deste estudo.

Ao Instituto Federal da Paraíba, pela estrutura disponibilizada.

A Universidade Federal de Campina Grande, por todos os conhecimentos transmitidos desde a graduação até a pós-graduação.

A todos os professores do Programa de Pós-graduação em Ciência Animal pelos conhecimentos repassados.

Ao secretário Ari pela disponibilidade e ajuda com a burocracia da pós.

A todos que direta ou indiretamente fizeram parte desta caminhada, o meu muito obrigada.

SUMÁRIO

	Pág.
LISTA DE TABELAS.....	Viii
LISTA DE FIGURAS.....	Ix
LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS.....	X
RESUMO.....	Xi
ABSTRACT.....	Xii
1. INTRODUÇÃO GERAL.....	13
1.1 REFERÊNCIAS.....	15
CAPÍTULO I.....	17
2 Revisão de literatura.....	18
2.1 Parasitoses gastrintestinais em pequenos ruminantes.....	18
2.2 Controle dos nematódeos gastrintestinais de pequenos ruminantes..	19
2.3 Classificação dos fungos nematófagos.....	20
2.4 Controle biológico por fungos nematófagos.....	23
2.5 Gênero <i>Arthrobotrys</i>	24
2.6 Controle biológico por <i>Arthrobotrys cladodes</i>	25
2.7 REFERÊNCIAS.....	26
CAPÍTULO II.....	33
RESUMO.....	34
ABSTRACT.....	35
1. INTRODUÇÃO.....	36
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	37
2.1 Local de realização dos ensaios experimentais.....	37
2.2 Parecer do comitê de ética no uso de animais.....	37
2.3 Isolados fúngicos e preparo dos péletes.....	37
2.4 Larvas infectantes de nematódeos gastrintestinais.....	38
2.5 Experimento 1.....	38
2.6 Experimento 2.....	39
2.6.1 Ensaio A.....	39
2.6.2 Ensaio B.....	40
2.7 Análise estatística.....	40
3. RESULTADOS.....	41

4. DISCUSSÃO.....	44
5. CONCLUSÃO.....	45
6. REFERÊNCIAS.....	46
7. CONCLUSÃO GERAL.....	50

LISTA DE TABELAS

Capítulo II

	Pág.
Tabela 1. Total de larvas infectantes recuperadas e percentual de redução após predação por <i>Arthobotrys cladodes</i> semeado em placas de Petri contendo AA 2% (Experimento 1).....	42

LISTA DE FIGURAS

Capítulo I

	Pág.
Figura 1. Armadilhas de captura dos fungos nematófagos predadores.....	22

Capítulo II

	Pág.
Figura 1. Produção de armadilhas e interação de <i>Arthrobotrys cladodes</i> com larvas infectantes de nematódeos gastrintestinais de ovinos. A: hifas adesivas e anel constritor; B: rede tridimensional; C e D: predação de larvas infectantes por anéis constritores (setas); E e F: predação de larvas infectantes por redes tridimensionais. Microscopia óptica (aumento de 100x).....	41
Figura 2. Total e percentual de redução de larvas infectantes predadas em placas de Petri por <i>Arthrobotrys cladodes</i> após passagem pelo trato gastrintestinal de ovinos (Experimento 2, Ensaio A).....	42
Figura 3. Total e percentual de redução de larvas infectantes predadas em coproculturas por <i>Arthrobotrys cladodes</i> após passagem pelo trato gastrintestinal de ovinos (Experimento 2, Ensaio B).....	43

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

AA – Ágar água

BOD – Demanda Química de Oxigênio

°C – Celcius

CMA – Corn Meal Agar

cm – Centímetro

CG 719 – Isolado fúngico da espécie *Arthrobotrys cladodes*

GPY – Glicose, peptona sódica e levedura

g – Grama

IFPB – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia da Paraíba

Kg – Quilo

L3 – Larva infectante

LPV – Laboratório de Parasitologia Veterinária

mm – milímetro

mL – mililitros

OPG – Contagem de Ovos Por Grama de fezes

PPGCA – Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal

($P < 0,01$) – Significância inferior a 1%

rpm – Rotações por minuto

% – Percentual

RESUMO

As helmintoses gastrintestinais ocupam lugar de destaque dentre os fatores que interferem na cadeia produtiva de pequenos ruminantes. Dentre as alternativas promissoras de controle, destaca-se a utilização de fungos nematófagos. A presente dissertação de mestrado é composta por dois capítulos, em que o primeiro é uma revisão de literatura relacionada ao tema controle biológico por fungos nematófagos; e o segundo é um artigo científico que objetivou avaliar a eficiência de isolados do fungo *Arthrobotrys cladodes* (CG 719) no controle biológico de nematódeos gastrintestinais de ovinos. No ensaio *in vitro* (experimento 1), foram utilizadas 30 placas de Petri divididas em dois grupos: tratado e controle. O grupo tratado foi composto por 15 placas, onde em cada placa foram difundidos 10 péletes e 2000 larvas infectantes de ovinos. No experimento 2, foram formados dois grupos (tratado e controle) com seis ovinos cada. Os animais do grupo tratado receberam 10g da formulação peletizada com o fungo e a partir de 12, 24, 36, 48, 60 e 72 horas após administração, foram obtidas as fezes dos animais. Constatou-se no ensaio *in vitro* redução larval de 72,3%, após sete dias de interação das larvas com os fungos. No ensaio A, houve redução larval significativa ($p < 0,01$), apresentando redução de 83,5%. No ensaio B, observou-se diferença estatisticamente significativa ($p < 0,01$) do número de larvas recuperadas a partir das coproculturas, com redução de 72,4%. Concluiu-se que *A. cladodes* peletizado em matriz de alginato de sódio foi capaz de predação de larvas e sobreviver à passagem pelo trato gastrintestinal de ovinos.

Palavras-chave: *A. cladodes*, controle biológico, pequenos ruminantes

ABSTRACT

Gastrointestinal helminths occupy a prominent place among the factors that interfere in the small ruminant productive chain. Among the promising control alternatives, the use of nematophagous fungi stands out. The present master's dissertation consists of two chapters, in which the first is a literature review related to the biological control theme by nematophagous fungi; and the second is a scientific article that aimed to evaluate the efficiency of isolates of the fungus *Arthrobotrys cladodes* (CG 719) in the biological control of gastrointestinal nematodes in sheep. In the *in vitro* test (experiment 1), 30 Petri dishes were used, divided into two groups: treated and control. The treated group consisted of 15 plates, where 10 pellets and 2000 infective sheep larvae were spread on each plate. In experiment 2, two groups were formed (treated and control) with six sheep each. The animals in the treated group received 10g of the formulation pelleted with the fungus and after 12, 24, 36, 48, 60 and 72 hours after administration, the animals feces were obtained. Larval reduction of 72.3% was found in the *in vitro* test, after seven days of interaction of the larvae with the fungi. In test A, there was a significant larval reduction ($p < 0.01$), with a reduction of 83.5%. In trial B, there was a statistically significant difference ($p < 0.01$) in the number of larvae recovered from cocultures, with a reduction of 72.4%. It was concluded that *A. cladodes* pelleted in a sodium alginate matrix was able to prey on larvae and survive the passage through the gastrointestinal tract of sheep.

Keywords: *A. cladodes*, biological control, small ruminants

1. INTRODUÇÃO GERAL

A criação de ovinos é uma atividade de grande importância econômica e social, principalmente nas regiões semiáridas brasileiras (FERREIRA et al., 2019). No entanto, as helmintoses gastrintestinais constituem em uma das principais limitações na cadeia produtiva de pequenos ruminantes, sendo responsáveis por perda de peso, crescimento retardado, redução do consumo de alimentos, queda da produção de leite, baixa fertilidade e até mesmo ocasionando mortalidade nos animais (LIMA et al., 2010; COUTINHO et al., 2015).

A utilização inadequada dos fármacos anti-helmínticos vem contribuindo para o desenvolvimento da resistência parasitária (SALGADO; SANTOS, 2016). O crescimento de populações de helmintos resistentes as principais bases de drogas anti-helmínticas, como avermectinas, imidotiazóis e benzimidazóis (BZs), vem agindo negativamente na cadeia produtiva de ruminantes no mundo todo (FORTES; MOLENTO, 2013).

Dentre os métodos alternativos para o controle das helmintoses gastrintestinais, destaca-se o controle biológico através da utilização de fungos nematófagos sendo responsáveis pela redução das formas parasitárias infectantes presentes no ambiente (ovos ou larvas) (BRAGA; ARAÚJO, 2014). Estes fungos são excretados juntamente com as fezes para o meio ambiente e produzem estruturas especializadas capazes de capturar e destruir os nematódeos (ARAÚJO et al., 2007).

O mecanismo de ação dos fungos nematófagos baseia-se na ação enzimática juntamente a uma ação física de captura e, posteriormente, a destruição dos ovos ou larvas. Os fungos usados como controladores biológicos não causam danos ao meio ambiente, já que são saprófitas, de origem do solo. Desta forma, não há uma inserção de organismos estranhos e maléficos ao meio ambiente (MOTA et al., 2003).

Estudos realizados no Semiárido nordestino, utilizando os fungos *Duddingtonia flagrans* e *Monacrosporium thaumasium* administrados por via oral sobre helmintos de pequenos ruminantes, demonstraram resultados promissores, em que os animais que receberam os fungos obtiveram menores cargas parasitárias, melhores índices de volume globular, maiores taxas de

ganho de peso e maior redução de parasitos nas pastagens (VILELA et al., 2012; VILELA et al., 2013; VILELA et al., 2016).

Fungos do gênero *Arthrobotrys* têm sido alvos de estudos devido ao seu potencial como prováveis agentes controladores biológicos de helmintos gastrintestinais de variadas espécies de animais como bovinos, caprinos eqüinos, caninos e ovinos (ARAÚJO et al., 2000; MOTA et al., 2000; CASTRO et al., 2003; BRAGA et al., 2009; FALBO et al., 2015). Entretanto, não foram encontrados na literatura, estudos em que formulações peletizadas do fungo *A. cladodes* tenha sido avaliado como método de controle das helmintoses gastrintestinais de ovinos. Neste contexto, a realização desse estudo caracteriza-se pelo seu ineditismo em descrever a atuação desse fungo sobre nematódeos gastrintestinais de ovinos.

Esta dissertação é composta por dois capítulos: o primeiro consiste de uma revisão de literatura acerca do tema controle biológico através do uso de fungos nematófagos. O segundo consta da parte experimental, constituído por um artigo científico original que foi enviado a revista *Biocontrol Science and Technology*, que descreveu a eficácia de isolados do fungo *A. cladodes* (CG 719) no controle biológico de nematódeos gastrintestinais de ovinos.

REFERÊNCIAS

- ARAÚJO, J. V.; STEPHANO, M.; SAMPAIO, W. M. Effects of temperature, mineral salt and passage through gastrointestinal tract of calves on alginate formulation of *Arthrobotrys robusta*. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 9, n.1, p. 55-59, 2000.
- ARAÚJO, J. V.; RODRIGUES, M. L. A.; SILVA, W. W.; VIEIRA, L. S. Controle biológico de nematóides gastrintestinais de caprinos em clima semi-árido pelo fungo *Monacrosporium thaumasium*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.42, n.8, ago. 2007.
- BRAGA, F. R.; CARVALHO, R. O.; ARAUJO, J. M.; SILVA, AR.; ARAÚJO, J. V.; LIMA, W. S.; TAVELA, A. O.; FERREIRA, S. R. Predatory activity of the fungi *Duddingtonia flagrans*, *Monacrosporium thaumasium*, *Monacrosporium sinense* and *Arthrobotrys robusta* on *Angiostrongylus vasorum* first-stage larvae. **Journal of Helminthology**, Dec;83(4):303-8, 2009.
- BRAGA, F. R.; ARAÚJO, J. V. Nematophagous fungi for biological control of gastrointestinal nematodes in domestic animals. **Applied Microbiology and Biotechnology**, n. 98, p.71–82, 2014.
- CASTRO, A. A.; OLIVEIRA, C. R. C.; ANJOS, D. H. S.; ORNELAS, E. I.; BITTENCOURT, V. R. E. P.; ARAÚJO, J. V.; SAMPAIO, I. B. M.; RODRIGUES, M. L. A. Potencial dos fungos nematófagos *Arthrobotrys* sp. e *Monacrosporium thaumasium* para o controle de larvas de ciatostomíneos de eqüinos (nematoda: cyathostominae). **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, 12, 2, 53-57. 2003.
- COUTINHO, R. M. A.; BENVENUTI, C. L.; JÚNIOR, A. L, F. A.; SILVA, F, C.; NEVES, M. R. M.; NAVARRO, A. M. C.; VIEIRA, L. S.; ZAROS, L. G. Phenotypic markers to characterize F2 crossbreed goats infected by gastrointestinal nematodes. **Small Ruminant Research**, v. 123, n. 1, p. 173–178, jan. 2015.
- FALBO, M. K.; SOCCOL, V. T.; SANDINI, I. E.; NOVAKOWISKI, J. H.; SOCCOL, C. R. Efeito da pulverização de conídios de *Arthrobotrys conoides* na pastagem no controle da verminose em ovinos. **Semina: Ciências Agrárias**, Vol. 36, No. 1, 2015.
- FERREIRA, J. B.; SOTOMAIOR, C. S.; BEZERRA, A. C. D. S.; SILVA, W. E.; LEITE, J. H. G. M.; SOUSA, J. E. R.; BIZ, J. F. F.; FAÇANHA, D. A. E. Sensitivity and specificity of the FAMACHA® system in tropical hair sheep. **Tropical Animal Health and Production**, 5 mar. 2019.
- FORTES F. S.; MOLENTO M. B. Resistência anti-helmíntica em nematóides gastrintestinais de pequenos ruminantes: avanços e limitações para seu diagnóstico. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 33, n. 12, p. 1391-1402, 2013.

LIMA, W. C.; ATHAYDE, A. C. R.; MEDEIROS, G. R.; LIMA, D. A. S. D., BORBUREMA, J. B.; SANTOS, E. M.; VILELA, V. L. R.; AZEVEDO, S. S. Nematóides resistentes a alguns anti-helmínticos em rebanhos caprinos no cariri paraibano. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, 2010.

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

MOTA, M. A.; BEVILAQUA, C. M. L.; ARAÚJO, J. V. Atividade predatória de fungos *Arthrobotrys conoides* e *Monacrosporium thaumasium* sobre larvas infectantes de *Haemonchus contortus* de caprinos. **Ciência Animal**, v. 10, p. 37-41, 2000.

SALGADO, J. A.; SANTOS, C. P. Visão geral da resistência anti-helmíntica de nematóides gastrointestinais de pequenos ruminantes no Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, 25 (1): 3-17, 2016.

VILELA, V. L. R.; FEITOSA, T. F.; BRAGA, F. R.; ARAÚJO, J. V.; SOUTO, D. V. O.; SANTOS, H. E. S.; SILVA, G. L. L.; ATHAYDE, A. C. R. Biological control of goat gastrointestinal helminthiasis by *Duddingtonia flagrans* in a semi-arid region of the northeastern Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 188, p. 127-133, 2012.

VILELA, V. L. R.; FEITOSA, T. F.; BRAGA, F. R.; ARAÚJO, J. V.; LUCENA, S. C.; DANTAS, E. S.; ATHAYDE, A. C. R.; SILVA, W. W. Eficácia do *monacrosporium thaumasium* no controle da helmintíase gastrointestinal de caprinos em região semiárida do Brasil. **Parasitology Research**, 112, pp. 871 – 8, 2013.

VILELA, V. L. R.; FEITOSA, T. F.; BRAGA, F. R.; ARAÚJO, J. V.; SANTOS, A. D.; MORAIS, D. F.; SOUTO, D. V. O.; ATHAYDE, A. C. R. Coadministration of nematophagous fungi for biological control over gastrointestinal helminths in sheep in the semiarid region of northeastern Brazil. **Veterinary Parasitology**, 15;221:139-43, 2016.

CAPÍTULO I

Uso de fungos nematófagos no controle biológico de nematódeos gastrintestinais de pequenos ruminantes

2. Revisão de literatura

2.1 Parasitoses gastrintestinais em pequenos ruminantes

As helmintoses gastrintestinais configuram o maior e mais grave problema que afeta a saúde de caprinos e ovinos (AMARANTE, 2014). Infecções causadas por variadas espécies de helmintos são freqüentes e acomete a sanidade dos animais. Em ruminantes, podem causar letargia, perda de peso, diarreia, redução na produção de leite e lã, além de causar anemia, edema submandibular e ascite pelas espécies hematófagas (TAYLOR, 2015).

Os parasitos que apresentam maior prevalência entre os pequenos ruminantes são: *Haemonchus contortus* e *Trichostrongylus axei*, que parasitam o abomaso; *Trichostrongylus colubriformis* e *Cooperia* sp, que se localizam no intestino delgado; e *Oesophagostomum columbianum*, parasito do intestino grosso (FONSECA et al., 2013). Na Região Nordeste, os principais parasitos que causam sérios agravos são *H. contortus*, *T. colubriformis*, *Strongyloides papillosus* e *O. columbianum* (VIEIRA et al. 2014a; SOUZA NETO et al., 2017).

Haemonchus contortus é considerado a espécie mais patogênica para ovinos e caprinos, principalmente no Nordeste, causando os maiores prejuízos econômicos para a produção de pequenos ruminantes (COSTA et al., 2011). Além de ser o parasito mais prevalente, apresenta acentuada intensidade de infecção e alto potencial biótico. Tem ação hematófaga, ocasionando um quadro clínico de severa anemia, podendo levar o animal a morte (VILELA et al., 2012; VIEIRA et al., 2014b).

Os efeitos patogênicos causados pelas verminoses dependem da quantidade e das espécies de helmintos a que os animais são expostos, bem como do número de larvas estabelecidas em seu trato gastrintestinal (WALLER, 2005). No entanto, variados fatores influenciam no grau de infecção nos animais, como a temperatura, precipitação pluviométrica, solo, tipo e manejo da pastagem, espécie, raça, idade, estado fisiológico e nutricional, e manejo dos animais (RUAS; BERNE, 2001).

2.2 Controle dos nematódeos gastrintestinais de pequenos ruminantes

O controle das nematodeoses através do uso de fármacos anti-helmínticos tem sido a medida mais comumente utilizada, porém, geralmente são administrados de forma inadequada, não se levando em consideração os aspectos clínicos e epidemiológicos do ambiente que interferem na quantidade de parasitos e na reinfecção do rebanho (CEZAR et al., 2010). A resistência consiste em um dos entraves no controle das parasitoses e, associada aos prejuízos causados pelas verminoses, pode dificultar ou inviabilizar economicamente a criação de pequenos ruminantes (DUARTE et al., 2012).

Dentre os princípios ativos utilizados para o controle parasitário destacam-se os grupos dos benzimidazóis (Albendazole, Fenbendazole e Oxfendazole), milbemicinas (Moxidectina), avermectinas (Ivermectina e Doramectina), imidazotiazoles (Cloridrato de levamisole) e dos salicilanilídeos (Closantel) (BORGES, 2003). Falhas neste tipo de controle constituem o primeiro sinal do surgimento de resistência anti-helmíntica (SANGSTER, 2001).

A resistência refere-se à habilidade de uma população de parasitas em sobreviver a doses de anti-helmínticos que poderiam ser letais para populações susceptíveis (VIEIRA, 2008). Além da perda da eficiência dos anti-helmínticos, existem os efeitos de resíduos químicos na carne, leite e no meio ambiente (SALGADO; SANTOS, 2016). Diante do aumento da resistência nos rebanhos houve a necessidade de identificar métodos de manejo que limitem o impacto do problema (FALZON et al., 2014). Vários relatos de resistência foram descritos em pequenos ruminantes, no mundo (PAPADOPOULOS et al. 2012; GEURDEN et al., 2014), no Brasil (VERÍSSIMO et al., 2012; CINTRA et al., 2016) e, inclusive no Semiárido paraibano (MELO et al., 2013; SILVA et al. 2018).

Algumas alternativas ao uso de drogas são práticas de manejo importantes para programas integrados de controle dos nematódeos gastrintestinais, tendo como exemplos: rotação de pastagem, seleção de animais geneticamente resistentes, definição de cruzamentos raciais, adequada suplementação nutricional dos animais (LEATHWICK et al., 2015) e o controle biológico utilizando fungos nematófagos (BRAGA; ARAÚJO, 2014),

sendo este último considerado um dos mais promissores (FERREIRA et al., 2011; SILVA et al., 2011).

2.3 Classificação dos fungos nematófagos

Os fungos nematófagos são classificados como Deuteromycetes, classe Hyphomycetes, ordem Hyphomycetales e família Moliniaceae. Possuem micélio septado e bem desenvolvido, além de reprodução agamicamente por esporos exógenos, que são formados sobre ramificações do micélio (DRESCHLER, 1937). No entanto, estágios de reprodução sexuada foram observados em algumas espécies destes fungos, que passaram a ser reconhecidos como pertencentes ao filo Ascomycota (GRIFFIN, 1994). Estes fungos são divididos em três grupos principais: endoparasitas, oportunistas e predadores (BRAGA; ARAÚJO, 2014).

Os fungos endoparasitas infectam os nematódeos através de esporos, que os infectam por adesão à parede corporal ou por ingestão pelo nematódeo. Após a infecção, ocorre a germinação do esporo que se difunde pela cavidade corpórea do nematódeo, crescendo e absorvendo o seu conteúdo. Após se desenvolverem internamente nos nematódeos a maior parte das espécies não desenvolve hifas externas, apenas hifas reprodutivas (tubo de evacuação e conidióforo) deslocam-se para o meio exterior através da parede corporal (BARRON, 1977). A maioria destes fungos são parasitos obrigatórios e possuem uma quantidade limitada de hospedeiros, sendo de difícil cultivo *in vitro* e, desta forma, apresentam pouca praticidade de serem usados em programas de controle biológico de nematódeos (WALLER; LARSEN, 1993). São pertencentes a este grupo *Drechmeria coniospora*, *Hirsutella rhossoliensis*, *Haptoglossa dickii* e *Catenaria anguillulae* (NORDBRING-HERTZ et al., 2006).

Os fungos oportunistas ou ovicidas são responsáveis por formar hifas que penetram a casca do ovo do helminto através de poros presentes na camada vitelínica, ocasionando alteração da permeabilidade da casca e aumentando seu volume, facilitando a penetração. A colonização ocorre quando hifas endógenas emergem do ovo e formam conidióforos, que funcionam como fonte de conídios, que posteriormente, irão colonizar o conteúdo do ovo ou a larva em desenvolvimento (MORGAN-JONES;

RODRÍGUES-KÁBANA, 1987). O uso destes fungos se torna inviável em certos parasitos, pois na maioria dos nematódeos, os ovos após serem eliminados para o ambiente se desenvolvem e eclodem em cerca de 12-24 horas (PADILHA, 1996). Dentre os fungos ovicidas, os principais são representados pelas espécies *Pochonia chlamydosporia*, *Paecilomyces lilacinus* e *Dactyella ovoparasitica* (LYSEK; STERBA, 1991).

Os fungos predadores são os antagonistas naturais de helmintos gastrintestinais mais estudados, pois reduzem populações de nematódeos em laboratório e são eficazes sobre nematódeos presentes no meio ambiente (ARAÚJO; GUIMARÃES, 2002). A sua atuação concentra-se no bolo fecal contra larvas de nematódeos de vida livre (BRAGA et al., 2009). Dentre os predadores, os mais estudados são pertencentes aos gêneros *Arthrobotrys*, *Duddingtonia* e *Monacrosporium*, devido à eficácia demonstrada no controle biológico de diferentes parasitos (LARSEN, 2000).

Estes fungos são capazes de produzir diferentes tipos de armadilhas, ao longo das suas hifas que capturam os nematódeos mecanicamente ou por adesão, tais como: hifas adesivas não modificadas ou não diferenciadas, ramificações hifais anastomosadas formando redes adesivas tridimensionais, ramificações adesivas que algumas vezes formam redes simples e na maioria das vezes bidimensionais, nódulos adesivos, anéis constritores e anéis não constritores (BRAGA; ARAÚJO, 2014) (Figura 1).

O processo de captura dos nematódeos pelos fungos inicia-se com a liberação de compostos quimioatrativos pelo micélio e armadilhas dos fungos, que podem ser atrativos para os nematódeos (WU et al., 2013). A adesão do fungo ao nematódeo ocorre através da interação de proteínas presentes nos fungos com os carboidratos presentes na cutícula do nematódeo (NORDBRING-HERTZ; MATTIASSON, 1979). A penetração do fungo no nematódeo envolve a liberação de enzimas hidrolíticas que solubilizam as macromoléculas da cutícula do nematódeo que juntamente com a pressão mecânica ocasionada pelo fungo consegue penetrar, degradar e digerir completamente o nematódeo (NORDBRING-HERTZ et al., 2006).

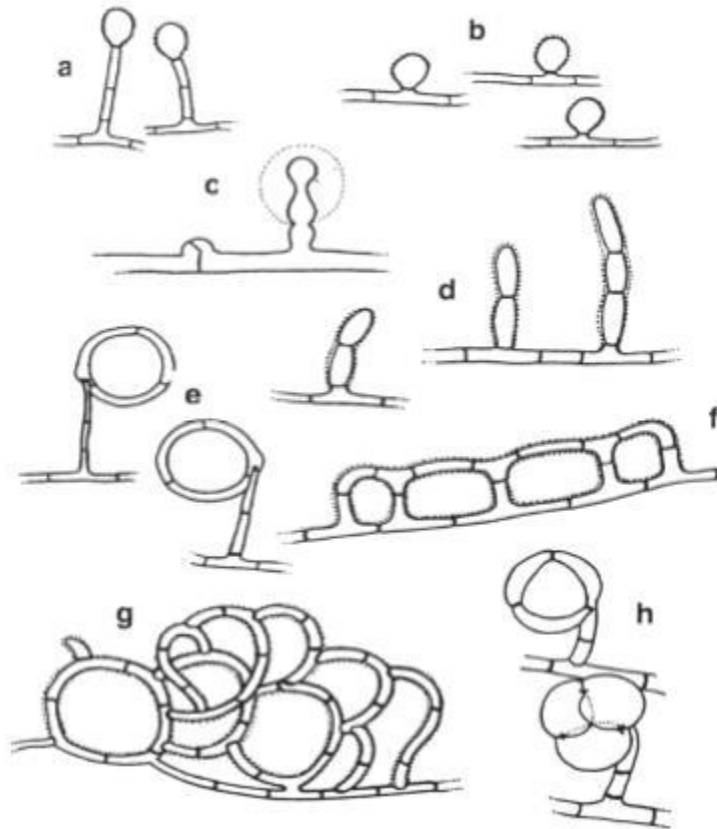


Figura 1. Armadilhas de captura dos fungos nematófagos predadores. A), B) e C) Botões adesivos. D) Hifas adesivas. E) Anéis não constrictores. F) Hifa adesiva bidimensional. G) Hifa adesiva tridimensional. H) Anéis constrictores (Fonte: BARRON, 1977).

A administração oral de material fúngico consiste na forma mais prática de fornecimento aos animais (ARAÚJO et al., 1999), sendo a sobrevivência do fungo à passagem pelo trato gastrointestinal do hospedeiro animal uma característica fundamental. Desta forma, após percorrer o trato digestivo, os fungos são eliminados juntamente com as fezes para o meio ambiente (CRUZ et al., 2008).

Ao colonizar as fezes, os fungos entram em contato com as larvas e produzem armadilhas que as levam a morte, reduzindo a quantidade de larvas infectantes e evitando a reinfecção dos animais (SILVA et al., 2009). Vários fatores estimulam a formação de armadilhas, ao longo de suas hifas, como a presença da larva, o contato com suas excretas, compostos biológicos ou até mesmo por condições adversas, ocasionado pela escassez de nutrientes e água (MOTA et al., 2003).

2.4 Controle biológico por fungos nematófagos

Dentre os métodos alternativos de controle às verminoses destaca-se o controle biológico, possibilitando a diminuição do uso de anti-helmínticos, além de minimizar os efeitos negativos no meio ambiente quando comparado ao método químico (FONTENOT et al., 2003). O controle biológico consiste na utilização de antagonistas naturais encontrados no meio ambiente a fim de reduzir, a um limiar subclínico e consideravelmente econômico, a população de um agente responsável por perdas produtivas para os hospedeiros finais (GRØNVOLD et al., 1996).

Diversos antagonistas naturais de nematódeos foram descritos, entre eles: vírus, bactérias, amebas, nematódeos, fungos, vermes de vida livre, anelídeos e artrópodes (GRØNVOLD et al., 1996). No entanto, apenas a utilização de fungos nematófagos tem sido reconhecida como um controle alternativo eficiente, já que as demais alternativas são pouco estudadas (MOLENTO et al., 2013). Na prática, estes antagonistas não agem sobre os estágios parasitários no hospedeiro, mas as suas atuações aplicam-se sobre os hospedeiros intermediários, paratênicos, vetores e estágios larvais de vida livre, reduzindo a fonte de infecção para os hospedeiros finais (ARAÚJO et al., 2006; FERRAZ et al., 2010).

Os fungos nematófagos são cosmopolitas e podem ser encontrados em solos naturais e agrícolas, e em qualquer ambiente que contenha matéria orgânica em decomposição, locais também favoráveis ao desenvolvimento de nematódeos (CARVALHO et al., 2007). No ambiente, esses fungos apresentam uma característica biológica muito importante, sendo responsáveis por reciclar carbono, nitrogênio e outros elementos que se originam da degradação do nemátodeo (VAN OOIJ, 2011).

Estes fungos ocupam variados nichos no solo (rizosfera), vivendo como parasitas obrigatórios, alimentando-se de uma diversidade de helmintos de vida livre; ou vivendo como saprófitos, nutrindo-se de matéria orgânica (LARSEN et al., 1997). A mudança da fase saprofítica para a fase parasitária ocorre através da diferenciação morfológica com a produção das armadilhas, após capturar os nematódeos os fungos destroem o seu conteúdo interno. Essa condição é

afetada por fatores bióticos e abióticos e possibilita vantagem nutricional para os fungos no solo (NORDBRING-HERTZ et al., 2006).

Os fungos apresentam particularidades desejáveis para serem utilizados como uma alternativa sustentável de controle, tais como: atividade reprodutiva elevada, ciclo de vida reduzido, formação de esporos dentro e fora dos animais, manutenção em fase saprofítica na ausência do hospedeiro, não serem patogênicos para os animais (LARSEN, 1999), além de não causarem danos ao meio ambiente (JACKSON; MILLER, 2006).

2.5 Gênero *Arthrobotrys*

O gênero *Arthrobotrys* foi descrito pela primeira vez por Corda no Século XIX e tem sido considerado como o gênero 'clássico' (BRAGA; ARAÚJO, 2014). Este gênero reúne um grande número de espécies de fungos nematófagos, cujas espécies formam conídios blásticos de até três septos, com formato ovóide, proliferando-se na extremidade dos conidióforos. Há abundância na formação de conidióforos e no processo de conidiogênese, iniciado de forma simpodial (ZHANG et al. 1996).

Todas as espécies do gênero *Arthrobotrys*, na presença de nematódeos de vida livre, são capazes de produzir armadilhas (ARAÚJO et al., 2004). A maior parte das espécies do gênero produz armadilhas do tipo rede adesiva, consistindo de um único anel ou uma rede tridimensional totalmente desenvolvida, seguindo uma seqüência de mecanismos, tais como: atração, adesão, imobilização, penetração e destruição dos nematódeos (NORDBRING-HERTZ et al., 2006).

As espécies *A. robusta*, *A. conoides*, *A. cladodes*, *A. oligospora* e *A. musiformis* pertencentes a esse gênero demonstraram capacidade de destruição sobre larvas infectantes parasitos de diversas espécies de animais (ARAÚJO et al., 1998; MOTA et al., 2000; ESLAMI et al., 2005; BRAGA et al., 2009; MACIEL et al., 2009).

2.6 Controle biológico por *Arthrobotrys cladodes*

O fungo *A. cladodes* apresenta conidióforos eretos de até 300µm de comprimento, em que os arranjos podem conter até 28 conídios. Os conídios apresentam medidas de 20-25µm x 5-7,5µm, podendo ser alongados obovóides a alongados-elipsoidais, o septo pode está presente no meio ou próximo ao meio (OLIVEIRA et al., 2018a).

Este fungo tem apresentado resultados promissores no controle de variados parasitos, tanto em condições laboratoriais quanto de campo. Estudos *in vitro* demonstraram alta capacidade predatória deste fungo sobre larvas infectantes de *Ancylostoma spp.*, onde observaram uma redução de 71,3% (CARVALHO et al., 2009). Paula et al. (2013) observaram após sete dias de experimento uma diminuição de 84,7% de larvas de primeiro estágio de *Angyostrongylus cantonensis*. A atuação de *A. cladodes* sobre larvas de *Libyostrongylus douglassii* um parasito de avestruzes foi reportada pela primeira vez por Braga et al. (2013) que observaram uma redução de 89,2% na média de larvas predadas pelo fungo.

Oliveira et al. (2018a) observaram em teste *in vitro* que o número de larvas de parasitas gastrintestinais de bovinos foi reduzido em 68,7% pelo fungo *A. cladodes*. Vieira et al. (2019), em condições laboratoriais, observaram que *A. cladodes* reduziu 81,73% de larvas infectantes de nematódeos de bovinos. Em ovinos, Eslami et al. (2005) constataram uma diminuição de 63,27% no número de larvas recuperadas de *H. contortus* ao adicionarem 8000 conídios do fungo nas fezes de ovinos.

Em estudo realizado a campo em bovinos, Oliveira et al. (2018b) demonstraram que este fungo administrado em matriz de alginato de sódio, duas vezes por semana, reduziu 59% das larvas recuperadas na pastagem.

A espécie *A. cladodes* possui alta capacidade de produção de conídios, além de produzir clamidósporo (OLIVEIRA et al., 2018a). Desta forma, ao selecionar um fungo nematófago, deve-se levar em conta que as espécies que apresentam alta produção de conídios e clamidósporos levam vantagem na dispersão e colonização do ambiente, em consequência terão maior êxito no controle biológico de nematódeos (ANAN'KO; TEPLYAKOVA, 2011; SILVA et al., 2015).

REFERÊNCIAS

ANAN'KO, G. G.; TEPLYAKOVA, T. V. Factors responsible for transition of the *Duddingtonia flagrans* carnivorous fungus from the saprotrophic to the zootrophic nutrition type. **Microbiologia**, v. 80, n. 2, p. 200–206, 2011.

AMARANTE, A. F. T. Classe cestoda. In: Os Parasitas de Ovinos [online]. São Paulo, Editora UNESP, 263p. 2014.

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**, v. 47, p.117- 122, 1998.

ARAÚJO, J. V.; STEPHANO, M. A.; SAMPAIO, W. M. Passage of nematode-trapping fungi through the gastrointestinal tract of calves. **Veterinarski Arhiv**, v.69, p.69-78, 1999.

ARAÚJO, J. V.; GUIMARÃES, M. P. Ação do fungo predador de nematódeos *Monacrosporium thaumasium* sobre *Rhabditisspp*. **Ciência Animal**, 12(2):129-132, 2002.

ARAÚJO, J. V.; MOTA, M. A.; CAMPOS, A. K. Controle biológico de helmintos parasitos de animais por fungos nematófagos. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.13, s.1, p.165-171, 2004.

ARAÚJO, J. V.; ASSIS, R. C. L.; CAMPOS, A. K.; MOTA, M. A. Efeito antagônico de fungos predadores dos gêneros *Monacrosporium*, *Arthrobotrys* e *Duddingtonia* sobre larvas infectantes de *Cooperia* sp. e *Oesophagostomum* sp. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.58, n.3, p.373-380, 2006.

BARRON, G. L. **The nematode destroying fungi**. Topics in Microbiology. Canadian Biological Publications Ltdm Guelph, Canada, 140 pp., 1977.

BRAGA, F. R.; ARAÚJO, J. V.; ARAÚJO, J. M.; SILVA, A. R.; CARVALHO, R. O.; CAMPOS, A. K. Avaliação in vitro do fungo predador de nematóides *Duddingtonia flagrans* sobre larvas infectantes de ciatostomíneos de equinos (Nematoda: Cyathostominae). **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Jaboticabal, v. 18, supl. 1, p. 83-85, dez. 2009.

BRAGA, F. R.; ARAUJO, J. V.; TAVELA, A. O.; VILELA, V. L. R.; SOARES, F. E. F.; ARAUJO, J. M.; MAGALHAES, L. Q.; SILVEIRA, W. F.; FEITOSA, T. F.; DANTAS, E. S.; ATHAYDE, A. C. R. First report of interaction of nematophagous fungi on *Libyostrongylus douglassii* (Nematoda: Trichostrongylidae). **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária** (Online), v. 22, p. 147-151, 2013.

BRAGA, F. R.; ARAÚJO, J. V. Nematophagous fungi for biological control of gastrointestinal nematodes in domestic animals. **Applied Microbiology and Biotechnology**, n. 98, p.71–82, 2014.

BORGES, C. C. L. Atividade *in vitro* de anti-helmínticos sobre larvas infectantes de nematóides gastrintestinais de caprinos, utilizando uma técnica de coprocultura quantitativa (Ueno, 1995). **Parasitologia Latinoamericana**, 58 (3-4): 142-147, 2003.

CARVALHO, L. M. M.; GILLESPIE, A. T.; SERRA, P. M.; BERNARDO, F. A.; FARRIM, A. P. Eficácia do fungo nematófago *Duddingtonia flagrans* no controle biológico da estrogilidose equina no Ribatejo. **Revista Portuguesa Ciências Veterinárias**. RPCV 102 (563-564) 233-247, 2007.

CARVALHO, R. O.; ARAÚJO, J. V.; BRAGA, F. R.; ARAUJO, J. M.; SILVA, A. R. E.; TAVELA, A. O. Predatory activity of nematophagous fungi on infective larvae of *Ancylostoma* sp.: evaluation in vitro and after passing through the gastrointestinal tract of dogs. **Journal of Helminthology**, v. 83, p. 231-236, 2009.

CEZAR, A. S.; TOSCAN, G.; CAMILLO, G.; SANGIONI, L. A.; RIBAS, H. O.; VOGEL, F. S. Multiple resistance of gastrointestinal nematodes to nine diferente drugs in a sheep flock in southern Brazil. **Veterinary Parasitology**. V. 173, p. 157-160, 2010.

CINTRA, M. C. R.; TEIXEIRA, VN, NASCIMENTO LV, SOTOMAIOR CS. Falta de eficácia do monepantel em ovinos no Brasil. *Trichostrongylus colubriformis*. **Veterinary Parasitology**. 216: 4-6. 2016.

COSTA, V. M. M.; SIMÕES, S. V. D.; RIET-CORREA, F. Controle das parasitoses gastrintestinais em ovinos e caprinos na região semiárida do Nordeste do Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, 31(1):65-71, 2011.

CRUZ, D. G.; CORDEIRO, R. C.; LOPES, A. J. O.; ROCHA, L. V.; SANTOS, C. P. Comparação da eficácia de diferentes isolados dos fungos nematófagos *Arthrobotrys* SPP. e *Duddingtonia flagrans* na redução de larvas infectantes de nematoides após a passagem pelo trato digestivo de ovinos. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, 17, Supl. 1, 133-137(Brazil. J. Vet. Parasitol.), 2008.

DRECHESLER, C. Some Hyphomycetes that prey on free living terricolos nematode. **Mycologia**, 23: 447 – 552, 1937.

DUARTE, E. R.; SILVA, R. B.; VASCONCELOS, V. O.; NOGUEIRA, F. A.; OLIVEIRA, N. J. F. Diagnóstico do controle e perfil de sensibilidade de nematódeos de ovinos ao albendazol e ao levamisol no norte de Minas Gerais. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, 32(2):147-152, fevereiro 2012.

ESLAMI, A.; RANJBAR-BAHADORI, S.; ZARE, R.; RAZZAGHI-ABYANEH, M. The predatory capability of *Arthrobotrys cladodes* var. *macroides* in the

control of *Haemonchus contortus* infective larvae. **Veterinary Parasitology**, 133, 263–266, 2005.

FALZON, L. C.; O'NEILL, T. J.; MENZIES, P. I.; PEREGRINE, A. S.; JONES-BITTON, A.; VAN LEEUWEN, J.; MEDEROS, A. Revisão sistemática e metanálise de fatores associados à resistência anti-helmíntica em ovinos. **Preventive Veterinary Medicine**; 117 (2): 388-402. 2014.

FERRAZ, S.; FREITAS, L. G.; LOPES E. A.; DIAS-ARIEIRA, C. R. Manejo sustentável de fito nematoides. Editora: UFV, Viçosa, MG, 306 p., 2010.

FERREIRA, S. R.; ARAÚJO, J. V.; BRAGA, F. R.; ARAÚJO, J. M.; FERNANDES, F. M. *In vitro* predatory activity of nematophagous fungi *Duddingtonia flagrans* on infective larvae of *Oesophagostomum* spp. after passing through gastrointestinal tract of pigs. **Tropical Animal Health and Production**, v. 43, p. 1589-1593, 2011.

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**, 118, 203-213, 2003.

FONSECA, J. A. A. S.; PEREIRA, J. S. P.; BEZERRA, C. A.; AVELINO, D. B.; MARQUES, A. S. C.; PAIVA, K. A. R.; VIEIRA, L. S.; AHID, S. M. M. Helmintos gastrintestinais de caprinos leiteiros do Município de Afonso Bezerra, Rio Grande do Norte, Brasil. **PUBVET** 7(19), Ed. 242, 1598. 2013.

GEURDEN, T.; HOSTE, H.; JACQUIET, P.; TRAVERSA, D.; SOTIRAKI, S.; REGALBONO, A. F. Resistência anti-helmíntica e multidrogas em nematoides gastrintestinais de ovinos na França, Grécia e Itália. **Veterinary Parasitology**; 201 (1-2): 59-66. 2014.

GRIFFIN, D. H. **Fungal Physiology**. New York: Wiley-Liss, 1994.

GRØNVOLD, J.; HENRIKSEN, S.A.; LARSEN, M.; NANSEN, P.; WOLSTRUP, J. Aspects of biological control with special reference to arthropods, protozoans and helminths of domesticated animals. **Veterinary Parasitology**. 64:47-64, 1996.

JACKSON, F.; MILLER, J. M. Alternative approaches to control – quo vadit? **Veterinary Parasitology**. 139, 371–384, 2006.

LARSEN, M.; NANSEN, P.; GRONVOLD, J.; WOLSTRUP, J.; HENRIKSEN, S. A. biological control of gastro-intestinal nematodes – factus, future, or fiction? **Veterinary Parasitology**, v. 72, p. 470-492, 1997.

LARSEN, M. Biological control of helminths. **International Journal for Parasitology**, Oxford, v. 29, p.139-146, 1999.

LARSEN, M. Prospects for controlling animal parasitic nematodes by predacious microfungi. **Parasitol.** v.120, p. 121-131, 2000.

LEATHWICK, D. M.; GANESH, S.; WAGHORN, T. S. Evidence for reversion towards anthelmintic susceptibility in *Teladorsagia circumcincta* in response to resistance management programmes. **International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance**, n.5, p.9-15, 2015.

LYSEK, H.; STERBA, J. Colonization of *Ascaris lumbricoides* eggs by the fungus *Verticillium chlamydosporium* Goddard. **Folia Parasitologica**, v.38, n.3, p.255-259, 1991.

MACIEL, A. S.; ARAÚJO, J. V.; CAMPOS, A. K.; LOPES, E. A.; FREITAS, L. G. Predation of *Ancylostoma* spp. dog infective larvae by 11 nematophagous fungi in different conidial concentrations. **Veterinary Parasitology**, 161:239-247, 2009.

MELO, L. R. B.; VILELA, V. L. R.; FEITOSA, T. F.; ALMEIDA NETO, J. L.; MORAIS, D.F. Resistência anti-helmíntica em pequenos ruminantes do semiárido do estado da paraíba, Brasil. **Ars Vet**; 29 (2): 104-108, 2013.

MOLENTO, M. B.; VERÍSSIMO, C. J.; AMARANTE, A. T.; VAN WYK, J. A.; CHAGAS, A. C. S.; ARAÚJO, J. V.; BORGES, F. A. Alternativas para o controle de nematódeos gastrintestinais de pequenos ruminantes. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.80, n.2, p.253-263, abr./jun., 2013.

MORGAN JONES, G.; RODRIGUEZ-KÁBANA, R. Infections events in the fungus-nematode system. In: Diseases of Nematodes. POINAR, O.G.; BORNE, J.H., CRC press, Boca Raton, USA, 1988, p.59-62.

MOTA, M. A.; BEVILAQUA, C. M. L.; ARAÚJO, J. V. Atividade predatória de fungos *Arthrobotrys conoides* e *Monacrosporium thaumasium* sobre larvas infectantes de *Haemonchus contortus* de caprinos. **Ciência Animal**, v. 10, p. 37-41, 2000.

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

NORDBRING-HERTZ, B.; MATTIASSON, B. Action of a nematode-trapping fungus shows lectinmediated host-microorganism interaction. **Nature**, 281: 477-479, 1979.

NORDBRING-HERTZ, B.; JANSSON, H. B.; TUNLID, A. Nematophagous Fungi. **Wiley Blackwell**, Hoboken, NJ. 2006.

OLIVEIRA, I.C.; CARVALHO, L. M.; VIEIRA, I. S.; CAMPOS, A. K.; FREITAS, S. G.; ARAÚJO, J. M.; BRAGA, F. R.; ARAÚJO, J. V. Using the fungus *Arthrobotrys cladodes* var. *macroides* as a sustainable strategy to reduce numbers of infective larvae of bovine gastrointestinal parasitic nematodes. **Journal of invertebrate pathology**. v. 158, p. 1-6, 2018a.

OLIVEIRA, I. C.; VIEIRA, I. S.; CARVALHO, L. M.; CAMPOS, A. K.; FREITAS, S. G.; ARAUJO, J. M.; BRAGA, F. R.; ARAÚJO, J. V. Reduction of bovine

strongilides in naturally contaminated pastures in the southeast region of Brazil. **Experimental Parasitology**, 194, 9-15, 2018b.

PAULA, A. T.; BRAGA, F. R.; CARVALHO, L. M.; LELIS, R. T.; MELLO, I. N. K.; TAVELA, A. O.; SOARES, F. E. F.; JUNIOR, A. M.; GARCIA, J. S.; ARAÚJO, J.V. First report of the activity of predatory fungi on *Angiostrongylus cantonensis* (Nematoda: Angiostrongylidae) first-stage larvae. **Acta Tropica**, v.127, p.187-190, 2013.

PAPADOPOULOS, E.; GALLIDIS, E.; PTOCHOS, S. Anthelmintic resistance in sheep in Europe: A selected review. **Veterinary Parasitology**, v. 189, n. 1, p. 85–88, set. 2012.

PADILHA, T. Controle da verminose gastrointestinal em pequenos ruminantes nas regiões áridas e semi-áridas do nordeste do Brasil In: Controle dos nematódeos gastrointestinais dos ruminantes. Terezinha Padilha (Ed.). Coronel Pacheco: EMBRAPA-CNPGL. p.169-178, 1996.

RUAS, J. L.; BERNE, M. E. A. Parasitoses por nematódeos gastrointestinais em bovinos e ovinos, p.19-162. In: CORREA, F. R.; SCHILD, A. L.; MENDEZ, M. DEL C.; LEMOS, R. A. A. (Eds), Doenças de Ruminantes e Eqüinos. Vol.2. 2ª ed. Varela, São Paulo. 573p, 2001.

SALGADO, J. A.; SANTOS, C. P. Visão geral da resistência anti-helmíntica de nematóides gastrointestinais de pequenos ruminantes no Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, 25 (1): 3-17, 2016.

SANGSTER, N. C. Managing parasiticide resistance. **Veterinary Parasitology**. v.98, p.89-109, 2001.

SILVA, M.E.; BRAGA, F.R.; BORGES, L.A.; OLIVEIRA, P.; LIMA, W.S.; ARAÚJO, J.V. Producción de conidios y clamidosporas de los hongos *Duddingtonia flagrans* y *Monacrosporium thaumasium* en diferentes medios sólidos. **Arquivos do Instituto Biológico (Online)**, v. 82, p. 1-5, 2015.

SILVA, A. R.; ARAÚJO, J. V.; BRAGA, F. R.; FRASSY, L. N.; TAVELA, A. O. Biological control of sheep gastrointestinal nematodiasis in atropical region of the southeast of Brazil with the nematode predatory fungi *Duddingtonia flagrans* and *Monacrosporium thaumasium*. **Parasitology Research**, 105, 1707-1713, 2009.

SILVA, F. F.; BEZERRA, H. M. F.; FEITOSA, T. F.; VILELA, V. L. R. Nematode resistance to five anthelmintic classes in naturally infected sheep herds in Northeastern Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, vol.2, no.4, Jaboticabal Oct./Dec. 2018. Epub Nov 08, 2018.

SILVA, A. R.; ARAÚJO, J. V.; BRAGA, F. R.; ALVES, C. D. F.; FRASSY, L. N. Activity of fungal conidia of the *Duddingtonia flagrans* and *Monacrosporium thaumasium* on *Haemonchus contortus* infective larvae. **Journal of Helminthology**, v. 85, p. 138-141, 2011.

SOUZA-NETO, F. E. D.; SILVA, H. C. D. A.; PAIVA, W. D. S.; TORRES, T. M.; ROCHA, A. C. P. D.; BEZERRA, A. C. D. S.; BATISTA, A. C. D. L. Fungal chitosan on gastrointestinal nematodes larvae of goats. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 84, 2017.

TAYLOR, M. A.; COOP, R. L.; WALL, R. L. *Veterinary Parasitology*. **Wiley**, 4^{ed}, 2015.

VAN OOIJ, C. Fungal pathogenesis: hungry fungus eats nematode. **Nature Reviews Microbiolpgy** 9:766–767, 2011.

VERÍSSIMO, C. J.; NICIURA, S. C.; ALBERTI, A. L.; RODRIGUES, C. F.; BARBOSA, C. M.; CHIEBAO, D. P.; CARDOSO, D.; SILVA, G. S.; PEREIRA, J. R.; MARGATHO, L. F.; COSTA, R. L.; NARDON, R. F.; UENO, T. E.; CURCI, V. C.; MOLENTO, M. B. Multidrug and multispecies resistance in sheep flocks from São Paulo state, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 187, n. 1–2, p. 209–216, jun. 2012.

VIEIRA, Í. S.; OLIVEIRA, I. C.; Campos, A. K.; ARAÚJO, J. V. Association and Predatory Capacity of fungi *Pochonia chlamydosporia* and *Arthrobotrys cladodes* in the biological control of parasitic helminths of bovines. **Parasitology**, v. 147, p. 1-21, 2019.

VIEIRA, V. D.; VILELA, V. L. R.; FEITOSA, T. F.; ATHAYDE, A. C. R.; AZEVEDO, S. S.; SOUTO, D. V. O.; SILVEIRA, G. L.; MELO, L. R. B. Sheep gastrointestinal helminthiasis in the Sertão region of Paraíba State, Northeastern Brazil: prevalence and risk factors. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 23, n. 4, p. 488-494, oct.-dec. 2014a.

VIEIRA, V. D.; FEITOSA, T. F.; VILELA, V. L. R.; AZEVEDO, S. S.; ALMEIDA NETO, J. L.; MORAIS, D. F.; RIBEIRO, A. R. C.; ATHAYDE, A. C. R. Prevalence and risk factors associated with goat gastrointestinal helminthiasis in the Sertão region of Paraíba State, Brazil. **Tropical Animal Health and Production**, 2014b.

VIEIRA, L. S. Métodos alternativos de controle de nematoides gastrintestinais em caprinos e ovinos. **Revista Tecnologia e Ciência Agropecuária**, v. 2, p. 28-31, 2008.

VILELA, V. L. R.; FEITOSA, T. F.; BRAGA, F. R.; ARAÚJO, J. V.; SOUTO, D. V. O.; SANTOS, H. E. S.; SILVA, G. L. L.; ATHAYDE A. C. R. Biological control of goat gastrointestinal helminthiasis by *Duddingtonia flagrans* in a semi-arid region of the northeastern Brazil. **Veterinary Parasitology**, 2012.

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

WALLER, P. J. Sustainable nematode parasite control strategies for ruminant livestock by grazing management and biological control. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 126, p. 277-289, 2005.

WU., D. K.; ZHANG, C. P.; ZHU, C. Y.; WANG, Y. L.; GUO, L. L.; ZHANG, K. Q.; NIU, X. M. Metabolites from carnivorous fungus *Arthrobotrys entomopaga* and their functional roles in fungal predatory ability. **Journal Agriculture Food and Chemistry**, 61: 4108-4113, 2013.

ZHANG, K.; LIU, X.; CAO, L.; REN-HEN, G. A new species of *Arthrobotrys* from China. **Mycological Research**, v. 100, p. 527-530, 1996.

CAPÍTULO II

**Efeito predatório do fungo *Arthrobotrys cladodes* sobre
nematódeos gastrintestinais de ovinos**

Efeito predatório do fungo *Arthrobotrys cladodes* sobre nematódeos gastrintestinais de ovinos

RESUMO

O uso de fungos nematófagos tem se destacado como uma alternativa promissora no controle biológico de nematódeos gastrintestinais parasitos de animais. Objetivou-se avaliar a eficiência de isolados do fungo *Arthrobotrys cladodes* (CG 719) *in vitro* e após a passagem pelo trato gastrintestinal de ovinos. O estudo foi composto por dois experimentos: no experimento 1, foi avaliado a capacidade predatória *in vitro* de *A. cladodes* sobre nematódeos gastrintestinais de ovinos, para isso 2000 larvas infectantes de nematódeos gastrintestinais de ovinos foram difundidas sobre placas de Petri contendo os fungos crescidos em superfície de ágar-água. No experimento 2, foram formados dois grupos (tratado e controle) com seis ovinos cada. No grupo tratado, cada animal recebeu a dose única de 10g da formulação peletizada com o fungo. As amostras fecais foram coletadas a partir de 12, 24, 36, 48, 60 e 72 horas após a administração da formulação fúngica. No experimento 1, observou-se redução larval de 72,3% após sete dias de interação das larvas com os fungos. No experimento 2, em ambos os ensaios experimentais, houve diferença significativa ($p < 0,01$) sobre a redução larval. No ensaio A, este fungo foi capaz de atravessar o trato gastrintestinal de ovinos, com redução larval de 83,5%. No ensaio B, houve redução de larvas recuperadas a partir das coproculturas de 72,4%. Concluiu-se que a formulação peletizada de *A. cladodes* foi eficaz sobre nematódeos gastrintestinais e após a passagem pelo trato gastrintestinal de ovinos.

Palavras-chave: fungos nematófagos, helmintoses de ovinos, ovinocaprinocultura

Predatory effect of the fungus *Arthrobotrys cladodes* on gastrointestinal nematodes of sheep

ABSTRACT

The use of nematophagous fungi has stood out as a promising alternative in the biological control of gastrointestinal nematodes parasites of animals. The objective was to evaluate the efficiency of isolates of the fungus *Arthrobotrys cladodes* (CG 719) *in vitro* and after passing through the gastrointestinal tract of sheep. The study consisted of two experiments: in experiment 1, the *in vitro* predatory capacity of *A. cladodes* on gastrointestinal nematodes of sheep was evaluated. For this purpose, 2000 infective larvae of gastrointestinal nematodes from sheep were spread on Petri dishes containing the fungi grown on an agar-water surface. In experiment 2, two groups were formed (treated and control) with six sheep each. In the treated group, each animal received a single 10g dose of the formulation pelleted with the fungus. Fecal samples were collected from 12, 24, 36, 48, 60 and 72 hours after administration of the fungal formulation. In experiment 1, a larval reduction of 72.3% was observed after seven days of interaction of the larvae with the fungi. In experiment 2, in both experimental tests, there was a significant difference ($p < 0.01$) on the larval reduction. In test A, this fungus was able to cross the gastrointestinal tract of sheep, with a larval reduction of 83.5%. In trial B, there was a reduction of 72.4% in larvae recovered from cocultures. It was concluded that the pelleted formulation of *A. cladodes* was effective on gastrointestinal nematodes and after passing through the gastrointestinal tract of sheep.

Keywords: nematophagous fungi, sheep helminths, sheep and goats

1. INTRODUÇÃO

A exploração de ovinos no Nordeste brasileiro constitui-se em uma atividade de grande relevância socioeconômica, devido à elevada capacidade de adaptação desta espécie aos ecossistemas locais e a alta aceitação de seus produtos e subprodutos no comércio (BARBOSA; XAVIER, 2019). As doenças ocasionadas por helmintos gastrintestinais consistem em um dos principais obstáculos enfrentados pelos criadores de ovinos, acarretando perdas produtivas e econômicas (SCZESNY-MORAES et al., 2010; COUTINHO et al., 2015; AQUINO et al., 2016).

O controle de nematódeos gastrintestinais tem sido realizado através do uso de fármacos anti-helmínticos, no entanto, o controle químico está perdendo sua eficácia devido o desenvolvimento de resistência as principais bases químicas comercializadas (BATISTA et al., 2016; SILVA et al., 2018a). Em contrapartida, métodos complementares de controle, como o uso de fungos nematófagos, tem demonstrado eficiência e segurança na redução da disponibilidade de formas de vida livre dos parasitos nas pastagens (LUNS, et al., 2018; VILELA et al., 2019).

Estes fungos são administrados, geralmente, à alimentação dos animais, que serão excretados juntamente com o material fecal para o ambiente, onde atuarão na fase de vida livre dos parasitos (SILVA et al., 2014). Para chegar viável às fezes para predação dos nematódeos, os fungos devem sobreviver à passagem pelo trato gastrintestinal (LARSEN et al., 1992). Ao colonizar o bolo fecal, os fungos entram em contato com as larvas eclodidas e produzem armadilhas que as levam a morte (BRAGA; ARAÚJO, 2014), reduzindo a quantidade de larvas infectantes e evitando a reinfecção dos animais (SILVEIRA et al., 2017; VILELA et al., 2018).

Foi descrita a ação de conídios de *A. cladodes in vitro* sobre *Haemonchus contortus* de ovinos (ESLAMI et al., 2005). No entanto, pesquisas sobre a atividade predatória desse fungo, administrado em péletes de matriz de alginato de sódio e avaliado no controle biológico de nematódeos de ovinos após passagem pelo trato gastrintestinal não foram realizadas.

Reforça-se a importância de estudos que comprovem a viabilidade de fungos nematófagos promissores para o controle biológico de parasitos. Assim,

este trabalho teve como objetivo avaliar a ação do fungo *A. cladodes* sobre larvas de nematódeos gastrintestinais *in vitro* e após passagem pelo trato gastrintestinal de ovinos.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Local de realização dos ensaios experimentais

Os ensaios experimentais foram conduzidos na Fazenda Experimental e no Laboratório de Parasitologia Veterinária - LPV, do Instituto Federal da Paraíba - IFPB, campus Sousa - PB.

2.2 Parecer do comitê de ética no uso de animais

O Comitê de Ética no Uso de Animais do IFPB, campus Sousa – PB, sob número de protocolo CEP/CEUA 23000.000618.2019-93, aprovou este estudo.

2.3 Isolados fúngicos e preparo dos péletes

Isolados do fungo *A. cladodes* (isolado CG 719), obtidos de solos da Zona da Mata do Estado de Minas Gerais – Brasil foram mantidos em temperatura de 4°C ao abrigo de luz, em tubos de cultivo contendo corn-meal-agar 2% (CMA 2%), na micoteca do Departamento de Veterinária da Universidade Federal de Viçosa. Amostras do fungo foram retiradas dos tubos de cultivo e repicados para placas de Petri de 9 cm de diâmetros contendo meio ágar-água 2% (AA 2%) onde cresceram durante sete dias.

Para a obtenção do micélio fúngico, foram transferidos fragmentos de ágar de aproximadamente 5 mm contendo micélio e esporos do fungo para frascos Erlenmeyer de 250mL, contendo 150mL de meio líquido GPY (glicose, peptona de soja e extrato de levedura), pH 6,5, sob agitação de 120 rpm, no escuro, na temperatura de 26°C por 21 dias.

Após este período, o micélio foi removido para peletização em matriz de alginato de sódio, como descrito por Walker e Connick (1983) e modificado por Araújo et al. (2010), como demonstrado a seguir: foi autoclavada a mistura

solução de alginato de sódio (25g de alginato de sódio + 1L de água destilada) e, posteriormente, o micélio fúngico foi retirado do meio GPY, coado e pesado em balança analítica, em que foram utilizados 17g de micélio/ 1L de solução de alginato de sódio. Adicionou-se 60g de bentonita/ 1L de alginato de sódio, homogeneizando-se em liquidificador industrial por dois minutos. Acrescentou-se o micélio fungico à mistura, sendo homogeneizado por no máximo 30 segundos. Em um Becker, misturou-se 55g de Cloreto de Cálcio Anidro Puríssimo em 1L de água destilada. A mistura foi colocada no liquidificador para gotejar na solução de Cloreto de Cálcio, que estava em agitador magnético. A secagem dos péletes foi realizada em estufa BOD por três dias, a temperatura de 30 °C. Após perder umidade por esse período, obteve-se o valor 0,2g de micélio/ 1g de pélete (20% de micélio fúngico nos péletes em matriz de alginato de sódio).

2.4 Larvas infectantes de nematódeos gastrintestinais de ovinos

Coproculturas foram realizadas de acordo com Roberts e O'sullivan (1950) a partir de amostras fecais de ovinos naturalmente infectados por nematódeos gastrintestinais. Posteriormente, seguiram-se as recomendações do Método de Baermann (WILLCOX; COURA, 1989) para a recuperação das larvas infectantes (L3).

2.5 Experimento 1

Foi avaliada a eficácia *in vitro* de *A. cladoles* (CG 719) sobre as L3 de nematódeos gastrintestinais de ovinos. Os ensaios de predação foram realizados em superfícies de 30 placas de Petri de 9 cm de diâmetro contendo AA 2%, divididos em dois grupos: tratado e controle. O grupo tratado foi composto por 15 placas, onde em cada placa foram distribuídos 10 péletes. O grupo controle foi composto por 15 placas sem a adição dos péletes. As placas foram mantidas em estufa BOD a 25°C, e o crescimento de colônias foi observado durante dez dias. Após este período, em cada placa foram difundidas 2000 L3, sendo as placas incubadas em estufa BOD, a 25°C, no escuro.

Foram realizadas leituras diárias durante sete dias, onde as placas foram observadas ao microscópio óptico (aumento de 100x), escolhendo aleatoriamente 10 campos por placa, sendo determinado o número de L3 livre de predação por fungos, obtendo a média de L3 por placa.

No sétimo dia, as L3 foram retiradas das superfícies das placas através de espátula metálica e lavagem com 1mL de água, sendo recuperadas pelo método de Baermann.

2.6 Experimento 2

Consistiu em dois ensaios *in vitro*: ensaio A, que avaliou a eficácia de *A. clados* sobre L3 de nematódeos gastrintestinais, após a passagem pelo trato gastrintestinal de ovinos; e ensaio B, que avaliou a redução de L3 em coproculturas.

2.6.1 Ensaio A

Foram utilizados 12 ovinos da raça Santa Inês, machos, com idade entre seis e oito meses. Estes animais foram tratados previamente com o vermífugo Cloridrato de Levamisole 5%, via oral, na dose de 1mL/ 10 kg de peso vivo, durante três dias consecutivos. Dez dias após a última vermifugação, foram realizadas três contagens de Ovos Por Grama de fezes (OPG), de acordo com Gordon e Whitlock (1939). Após a confirmação de OPG zero, os animais foram divididos aleatoriamente em dois grupos (tratado e controle) com seis ovinos cada.

Para o grupo tratado foi fornecida individualmente 10g de formulação peletizada com *A. clados*, em dose única. O grupo controle recebeu individualmente 10g de péletes sem o fungo, em dose única. Foram obtidas as amostras fecais dos animais nos intervalos de 12, 24, 36, 48, 60 e 72 horas após administração.

As amostras fecais de cada grupo foram homogeneizadas, e 2g de fezes foram adicionadas em placas de Petri de 5 cm de diâmetro, contendo AA 2%. As placas foram armazenadas em estufa a 25°C, no escuro. Dez repetições foram realizadas por horário, para cada grupo.

Em cada placa, 1000 L3 de nematódeos gastrintestinais de ovinos foram adicionadas. Diariamente as placas foram observadas para a verificação de conídios e conidióforos típicos do isolado testado. No 15º dia, as L3 não predadas foram recuperadas a partir das placas de Petri através do método de Baermann, obtendo a média de larvas não predadas por placa, sendo quantificadas através de microscópio óptico (aumento de 100x). A identificação das larvas foi realizada segundo os critérios morfológicos preconizados por Keith (1953).

2.6.2 Ensaio B

Concomitantemente ao ensaio A foram processadas amostras fecais dos grupos para o preparo de coproculturas, sendo adicionada vermiculita expandida e molhada. Foram realizadas doze repetições para cada grupo, duas para cada período (12, 24, 36, 48, 60 e 72 horas). Em cada coprocultura foram adicionadas 1000 L3 de nematódeos gastrintestinais de ovinos.

As coproculturas foram incubadas a 28°C durante oito dias. Após esse período, foi utilizado o método de Baermann para recuperação das larvas infectantes e, posteriormente, foram quantificadas e identificadas ao microscópio óptico (aumento de 100x).

2.7 Análise Estatística

O percentual de redução de larvas do grupo tratado em relação ao controle foi calculado de acordo com a equação de Mendoza-De-Guives et al., (1999).

$$\text{Redução (\%)} = \frac{(\text{média de larvas do controle} - \text{média de larvas do tratamento}) \times 100}{\text{Média de larvas do controle}}$$

Os dados obtidos foram avaliados através da análise de variância (teste F). As médias foram comparadas usando teste de Tukey com 1% de probabilidade via software Biostat 5.0 (AYRES et al., 2007).

3. RESULTADOS

No Experimento 1, foi observada redução de 72,3% de predação das larvas do grupo tratado, após sete dias de interação das larvas com os fungos. Notou-se a produção espontânea de armadilhas produzidas pelo fungo, além de larvas predadas (Figura 1).

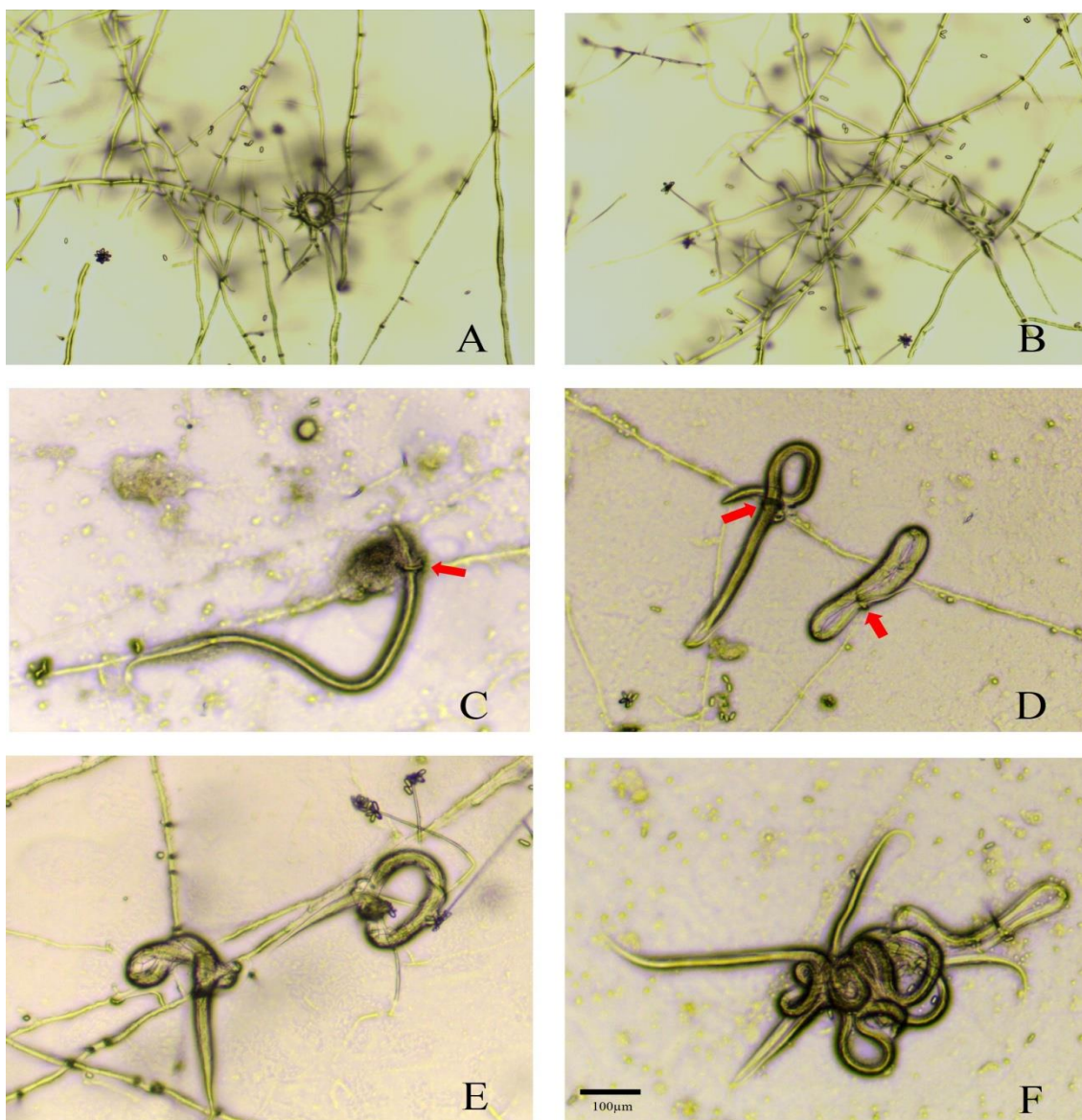


Figura 1. Produção de armadilhas e interação de *Arthrobotrys cladodes* com larvas infectantes de nematódeos gastrintestinais de ovinos. A: hifas adesivas e anel constritor; B: rede tridimensional; C e D: predação de larvas infectantes por anéis constritores (setas); E e F: predação de larvas infectantes por redes tridimensionais. Microscopia óptica (aumento de 100x).

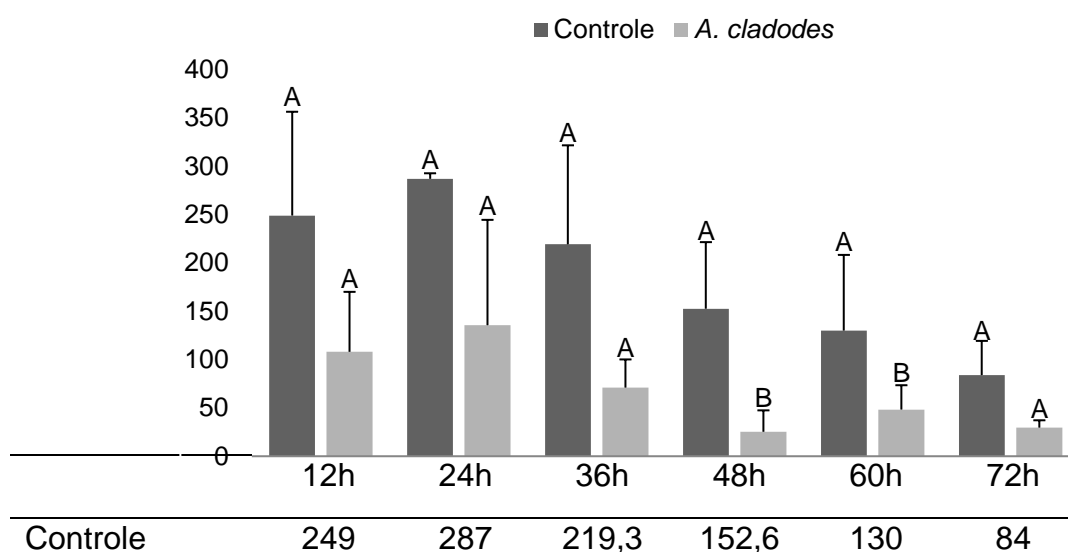
Observou-se predação em todas as placas do grupo tratado a partir da primeira leitura realizada 24 horas após a exposição das larvas a *A. cladodes*. A máxima predação das larvas ocorreu no intervalo de 48 horas (63%) (Tabela 1). Esta predação foi visualizada em todas as placas do grupo tratado, já na primeira leitura dos campos.

Tabela 1. Total de larvas infectantes recuperadas e percentual de redução após predação por *Arthobotrys cladodes* semeado em placas de Petri contendo AA 2% (Experimento 1).

	Período de avaliação						
	24h	48h	72h	96h	120h	144h	168h
Controle	795	782	751	369	281	212	215
<i>A. cladodes</i>	639	294	294	166	131	131	91
% Redução	20%	63%	61%	56%	54%	39%	58%

No Experimento 2, observou-se sobrevivência de *A. cladodes* após passagem pelo trato gastrointestinal de ovinos, mantendo sua capacidade predatória e exercendo efeito de redução sobre as L3.

No ensaio A, houve diferença significativa ($p < 0,01$) sobre a redução larval desde o intervalo de 12 horas (Figura 2), cujo maior desempenho de eficácia predatória ocorreu às 48 horas (83,5%).



<i>A. cladodes</i>	108	135,6	71	25,3	48,3	29,6
% Redução	56,7%	71%	68%	83,5%	62,9%	65%

Figura 2. Total e percentual de redução de larvas infectantes predadas em placas de Petri por *Arthobotrys cladodes* após passagem pelo trato gastrintestinal de ovinos (Experimento 2, Ensaio A).

No ensaio B, observou-se diferença estatisticamente significativa ($p < 0,01$) no número de larvas recuperadas a partir do intervalo de 12 horas. A máxima predação das larvas em coproculturas foi observada no intervalo de 24 horas (72,4%) (Figura 3). As coproculturas indicaram a presença dos gêneros *Haemonchus* sp. (90%), *Trichostrongylus* sp. (6%) e *Oesophagostomum* sp. (4%).

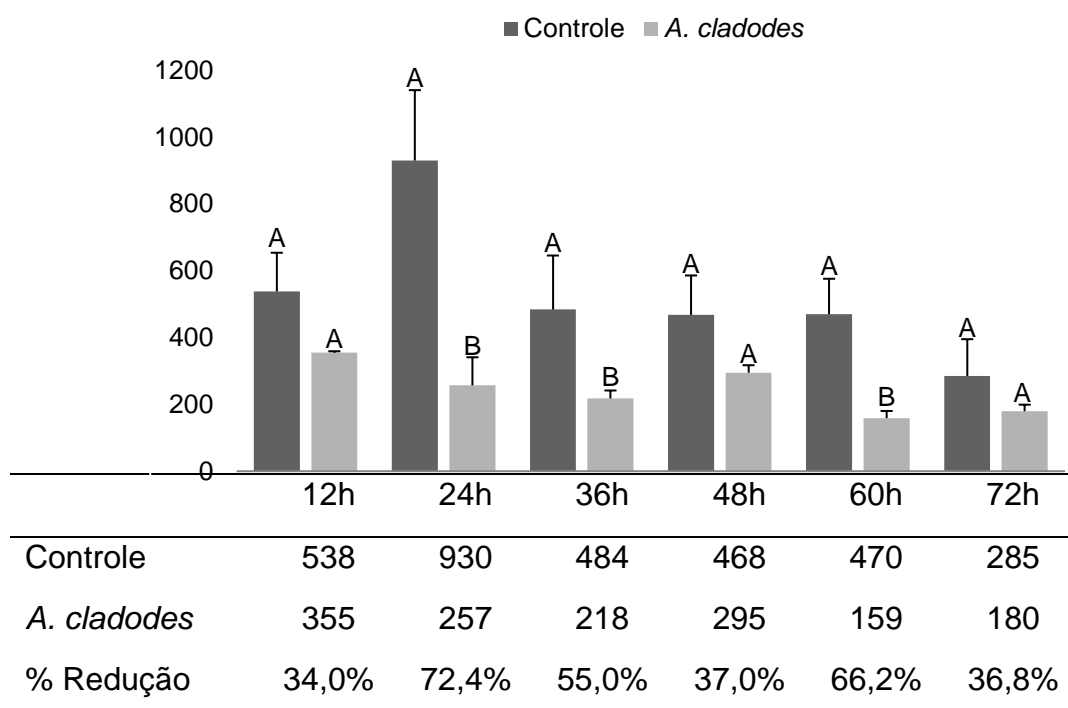


Figura 3. Total e percentual de redução de larvas infectantes predadas em coproculturas por *Arthobotrys cladodes* após passagem pelo trato gastrintestinal de ovinos (Experimento 2, Ensaio B).

4. DISCUSSÃO

Este estudo foi o primeiro a avaliar a eficácia do fungo *A. cladodes* contidos em péletes de matriz de alginato de sódio, no controle de nematódeos gastrintestinais de ovinos. *Arthrobotrys cladodes* produz uma elevada quantidade de conídios, além de produzir clamidósporos, sua atividade nematófaga é garantida através da formação de hifas adesivas tridimensionais que promovem a adesão, imobilização, penetração e destruição dos nematódeos (OLIVEIRA et al., 2018a).

No ensaio *in vitro* (Experimento 1), observou-se que as formulações peletizadas contendo o micélio de *A. cladodes* demonstraram habilidade de crescimento sobre as superfícies das placas de Petri, sendo capazes de produzir armadilhas e predação L3 de nematódeos gastrintestinais de ovinos, apresentando redução larval de 72,3%. Resultados similares foram encontrados por Vieira et al. (2019), ao reduzirem 81,73% de nematódeos de bovinos, por ação de *A. cladodes*. Oliveira et al. (2018a), também relataram que *A. cladodes* foi eficaz na redução de L3 de bovinos com redução de 68,7%.

No decorrer dos sete dias de ensaio *in vitro*, foi observada redução progressiva do número de larvas nas placas dos grupos controle. Esta observação também foi feita por Araújo et al. (2006), que associaram este fato à provável migração destas larvas para o interior das placas, onde a umidade é mais elevada.

As coproculturas demonstraram que o gênero mais prevalente foi *Haemonchus*, seguido por *Trichostrongylus* e *Oesophagostomum*. Estes resultados são semelhantes aos obtidos por Vieira et al. (2014) que observaram, em estudo realizado no Semiárido do Estado da Paraíba, Brasil, a maior prevalência do gênero *Haemonchus* em ovinos.

No Experimento 2, em ambos os ensaios experimentais, houve redução larval significativa ($p < 0,01$) nos grupos contendo *A. cladodes*. Observou-se a predação larval a partir de 12 horas, com maior redução larval entre 24 e 48 horas, após a passagem pelo trato gastrintestinal dos ovinos. Conforme Larsen et al. (1998) e Oliveira et al. (2018a) no período de 24 horas ocorre a eliminação da maior quantidade dos fungos no bolo fecal.

No ensaio A, o pico de eficácia predatória de larvas foi de 83,5%. Isso demonstrou que a formulação peletizada contendo o micélio fúngico de *A. cladodes* foi eliminada com êxito nas fezes dos ovinos, resistindo a passagem pelo trato gastrintestinal, mantendo sua atividade predatória. Oliveira et al. (2018a), também demonstraram que a formulação peletizada de *A. cladodes* foi capaz de resistir ao estresse da passagem pelo trato gastrintestinal de bovinos, reduzindo significativamente o número de nematódeos nestes animais.

No ensaio B, observou-se o pico de predação larval em coproculturas de 72,4%. Resultados semelhantes foram encontrados por Araújo et al. (1998), que verificaram em bovinos uma redução de 73,81% na contagem de OPG e 70,45% na quantidade de helmintos nos animais traçadores, quando administraram oralmente conídios de *A. robusta*. Oliveira et al. (2018b) observaram que *A. cladodes* reduziu a infestação de larvas em bovinos na pastagem, apresentando redução de 59% de larvas recuperadas.

O presente estudo demonstrou que *A. cladodes* sobreviveu aos processos de peletização em alginato de sódio mantendo a sua viabilidade. Estas formulações também possibilitaram resultados satisfatórios tanto em condições laboratoriais quanto de campo, para o controle de nematódeos parasitas de animais (BRAGA; ARAÚJO, 2014).

A peletização de fungos nematófagos pode apresentar aplicabilidade prática, pois estes fungos podem ser conservados em estoque sob refrigeração, o que aumenta sua potencialidade para serem utilizados no biocontrole desses parasitos (SILVA et al., 2018b; COSTA et al., 2019). De acordo com Araújo et al. (2000) a peletização do micélio não interfere na atividade predatória do fungo e pode ser considerada uma alternativa promissora no controle biológico de nematódeos.

5. CONCLUSÃO

Concluiu-se que o fungo *A. cladodes* peletizado em matriz de alginato de sódio foi capaz de predação larvas de nematódeos gastrintestinais *in vitro* e sobreviver à passagem pelo trato gastrintestinal, mostrando-se promissor no controle biológico de ovinos.

REFERÊNCIAS

- ARAÚJO, J. M.; ARAÚJO, J. V.; BRAGA, F. R.; CARVALHO, R. O. In vitro predatory activity of nematophagous fungi and after passing through gastrointestinal tract of equine on infective larvae of *Strongyloides westeri*. **Parasitology Research**, v. 107, p. 103-108, 2010.
- ARAÚJO, J. V.; ASSIS, R. C. L.; CAMPOS, A. K.; MOTA, M. A. Antagonistic effect of nematophagous fungi *Monacrosporium*, *Arthrobotrys* and *Duddingtonia* on infective *Cooperia* sp. and *Oesophagostomum* sp. larvae. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, vol. 58 no. 3 Belo Horizonte June, 2006.
- 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.; 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**, v. 47, p.117- 122, 1998.
- AQUINO, R. S.; LEMOS, C. G.; ALENCAR, C. A.; SILVA, E. G.; SILVA, L. R.; GOMES, J. A. F.; SILVA, A. F. A realidade da caprinocultura e ovinocultura no semiárido brasileiro: um retrato do sertão do Araripe, Pernambuco. **Pubvet**, 10, 271-281, 2016.
- AYRES, M.; AYRES, J.R.M.; AYRES, D.L.; SANTOS, A.S. Aplicações estatísticas nas áreas de ciências biológicas, **CNPq**, Brasília, p. 290, 2007.
- BARBOSA, R. F.; XAVIER, R. A. Diagnóstico da caprinovinocultura no Cariri Ocidental da Paraíba (PB): estudo de caso de 2005 a 2015. **Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais**, v.9, n.8, p.187-199, 2019.
- BATISTA, E. K. F.; NEVES, C. A.; MENDONÇA, I. L. Resistência anti-helmíntica em ovinos e caprinos – uma revisão. **Revista científica de medicina veterinária**. Ano XIV, Número 27 – Periódico Semestral Julho de 2016.
- BRAGA, F. R.; ARAÚJO, J. V. Nematophagous fungi for biological control of gastrointestinal nematodes in domestic animals. **Applied Microbiology and Biotechnology**, n. 98, p.71–82, 2014.
- COSTA, P. W. L.; ALVARES, F. B. V.; BEZERRA, R. A.; SARMENTO, W. F.; SILVA, F. F.; RODRIGUES, J. A.; FEITOSA, T. F.; ARAÚJO, J. V.; BRAGA, F. R.; VILELA, V. L. R. Effect of refrigeration storage of nematophagous fungi embedded in sodium alginate pellets on predatory activity against asinine gastrointestinal nematodes. **Biocontrol science and technology**, v. 29, p. 1-12, 2019.

COUTINHO, R. M. A.; BENVENUTI, C. L.; ANDRADE JÚNIOR, A. L. F.; SILVA, F. C.; NEVES, M. R. M.; NAVARRO, A. M. C.; VIEIRA, L. S.; ZAROS, L. G. Marcadores fenotípicos para caracterizar cabras mestiças F2 infectadas por nematóides gastrointestinais. **Small Ruminant Research**, v.123, p.173-178, 2015.

ESLAMI, A.; RANJBAR-BAHADORI, S.; ZARE, R.; RAZZAGHI-ABYANEH, M. The predatory capability of *Arthrobotrys cladodes* var. *macroides* in the control of *Haemonchus contortus* infective larvae. **Veterinary Parasitology**, 133, 263–266, 2005.

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

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

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

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

LUNS, F. D. ; ASSIS, R. C. L. ; BRAGA, F. R ; FERRAZ, C. M. ; SILVA, L. P. C.; ARAÚJO, J. V. Coadministration of Nematophagous Fungi for Biological Control over Nematodes in Bovine in the South-Eastern Brazil. **Biomed Research International**, v. 2018, p. 1-6, 2018.

MENDOZA-DE-GUIVES, P.; DAVIES, K. G.; CLARCK, S. J.; BEHNKE, J. M. Predatory behaviour of trapping fungi against srf mutants od *Cae- norhabditis elegans* and different plant and animal parasitic nematodes. **Parasitology**, 119, 95–104, 1999.

OLIVEIRA, I.C.; CARVALHO, L. M.; VIEIRA, I. S.; CAMPOS, A. K.; FREITAS, S. G.; ARAÚJO, J. M.; BRAGA, F. R.; ARAÚJO, J. V. Using the fungus *Arthrobotrys cladodes* var. *macroides* as a sustainable strategy to reduce numbers of infective larvae of bovine gastrointestinal parasitic nematodes. **Journal of invertebrate pathology**. v. 158, p. 1-6, 2018a.

OLIVEIRA, I. C.; VIEIRA, I. S.; CARVALHO, L. M.; CAMPOS, A. K.; FREITAS, S. G.; ARAUJO, J. M.; BRAGA, F. R.; ARAÚJO, J. V. Reduction of bovine strongilides in naturally contaminated pastures in the southeast region of Brazil. **Experimental Parasitology**, 194, 9-15, 2018b.

ROBERTS, F. H. S.; O' SULLIVAN, J. P. Methods of egg counts and laval cultures for strongyles infesting the gastrointestinal tract of cattle. **Australian Agriculture Research** v.1, p. 99-102, 1950.

SCZESNY-MORAES, E. A.; BIANCHIN, I.; SILVA, K. F.; CATTO, J. B.; HONER, M. R.; PAIVA, F. Resistência anti-helmíntica de nematopides gastrointestinais em ovinos, Mato Grosso do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, 30 (3): 229-236. 2010.

SILVA, F. F.; BEZERRA, H. M. F. F.; FEITOSA, T. F.; VILELA, V. L. R. Nematode resistance to five anthelmintic classes in naturally infected sheep herds in Northeastern Brazil. **Revista brasileira de parasitologia veterinária**, v. 27, p. 423-429, 2018a.

SILVA, F. F.; COSTA, P. W. L.; BEZERRA, R. A.; SILVA, S. S.; SILVA, N. I. S.; LIMA, J. D. S.; FEITOSA, T. F.; BRAGA, F. R.; Araújo, J. V.; VILELA, V. L. R. Influence of storage time of monacrosporium thaumasium pellets on the predation of infective larvae of sheep gastrointestinal nematodes. **Ars veterinária**, Jaboticabal, v. 34, p. 115-119, 2018b.

SILVA, M. E.; BRAGA, F. R.; BORGES, L. A.; OLIVEIRA, J. M.; LIMA, W. S.; GUIMARÃES, M. P.; ARAÚJO, J. V. Evaluation of the effectiveness of *Duddingtonia flagrans* and *Monacrosporium thaumasium* in the biological control of gastrointestinal nematodes in female bovines bred in the semiarid region. **Veterinary Research Communications**, v. 38, p. 101-106, 2014.

SILVEIRA, W. F.; BRAGA, F. R.; TAVELA, A. O.; SANTOS, L. F.; DOMINGUES, R. R., AGUIAR, A. R.; ARAÚJO, J. V. Nematophagous fungi combinations reduce free-living stages of sheep gastrointestinal nematodes in the field. **Journal of Invertebrate Pathology**, 150: 1-5, 2017.

VIEIRA, V. D.; VILELA, V. L. R.; FEITOSA, T. F.; ATHAYDE, A. C. R.; AZEVEDO, S. S.; SOUTO, D. V. O.; SILVEIRA, G. L.; MELO, L. R. B. Sheep gastrointestinal helminthiasis in the Sertão region of Paraíba State, Northeastern Brazil: prevalence and risk factors. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 23, n. 4, p. 488-494, oct.-dec. 2014.

VIEIRA, Í. S.; OLIVEIRA, I. C.; Campos, A. K.; ARAÚJO, J. V. Association and Predatory Capacity of fungi *Pochonia chlamydosporia* and *Arthrobotrys* cladodes in the biological control of parasitic helminths of bovines. **Parasitology**, v. 147, p. 1-21, 2019.

VILELA, V. L. R.; COSTA, P. W. L.; SILVA, F. F.; BEZERRA, H. M. F. F. B.; OLIVEIRA, L. V. S.; DANTAS, M. O.; FEITOSA, T. F.; ARAÚJO, J. V.; BRAGA, F. R. Viabilidade predatória do fungo nematófago *Duddingtonia flagrans* nas larvas infectantes de nematóides gastrointestinais de ovinos após armazenamento e refrigeração. **Revista Brasileira de Pesquisa Veterinária e Zootecnia**, 2019.

VILELA, V. L. R.; FEITOSA, T. F.; BRAGA, F. R.; ARAÚJO, J. V.; ATHAYDE, A. C. R. Control of sheep gastrointestinal nematodes using the combination of *Duddingtonia flagrans* and Levamisole Hydrochloride 5%. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinaria**, p. 2-6, 2018.

WALKER, H. L.; CONNICK, W. J. Sodium alginate for production and formulation of mycoherbicides. **Weed Science**, v. 31, p. 333-338, 1983.

WILLCOX, H. P.; COURA, J. R. Nova concepção para o método de Baermann-Moraes-Coutinho na pesquisa de larvas de nematódeos. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, 84:563-5, 1989.

CONCLUSÃO GERAL

Concluiu-se que os fungos nematófagos são uma alternativa eficiente para o controle das helmintoses gastrintestinais de ovinos, em que o fungo *A. cladodes* (CG 719) peletizado em matriz de alginato de sódio, foi capaz de reduzir larvas infectantes de nematódeos gastrintestinais em condições laboratoriais e após a passagem pelo trato gastrintestinal de ovinos.

Os resultados deste estudo demonstraram que *A. cladodes* pode ser uma alternativa promissora para o controle biológico dos nematódeos gastrintestinais de ovinos.