

POTENCIAL DOS FUNGOS NEMATÓFAGOS *Arthrobotrys* sp. E *Monacrosporium thaumasium* PARA O CONTROLE DE LARVAS DE CIATOSTOMÍNEOS DE EQUÍNOS (NEMATODA: CYATHOSTOMINAE)

ABISAIR A. CASTRO¹, CRISTIANE R.C. OLIVEIRA², DEBORA H. S. ANJOS³, ÉRIKA I. DE ORNELAS⁴, VÂNIA R.E.P. BITTENCOURT⁵, JACKSON V. ARAÚJO⁶, IVAN B.M. SAMPAIO⁷, MARIA DE LURDE A. RODRIGUES⁵

ABSTRACT.- 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. [The potencial nematophagous fungi *Arthrobotrys* sp. and *Monacrosporium thaumasium* to control cyathostome infective larvae of equines (Nematoda: Cyathostominae).] 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*, v. 12, n. 2, p. 49-53, 2003. Instituto de Veterinária, Departamento de Parasitologia Veterinária, Univerddade Federal Rural do Rio de Janeiro, Km 7 da BR 465, Seropédica, RJ 23890-000, Brazil. E-mail: lurdesar@ufrj.br

Consequences of nematode infections due to cyathostome are a serious constraint for equines. Development of anthelmintic resistance and increasing concern about their use dictate the need of alternative control. Nematophagous fungi *Arthrobotrys* sp. and *Monacrosporium thaumasium* reduced cyathostome infective larvae levels in studies *in vitro*, in fecal cultures at three different temperatures: 25, 28 and 30°C. *M. thaumasium* was the best fungi, showing average larvae control up to 94% under all tested temperatures. To improve efficiency *A. robusta* (I-31) should be kept under 25°C, *A. robusta* (I-35) up to 28°C and *A. musiformis* under 28°C, with average larvae control of 86.3%, 86.0% and 89.4% respectively. Present results demonstrated that nematode trapping fungus were effective in reducing cyathostome infective larvae in *in vitro* studies and should be considered as a biological control agent for integrated equine cyathostome nematode control programs.

KEY WORDS: Biological control, *Arthrobotrys* sp., *Monacrosporium thaumasium*, cyathostome larvae, equine.

RESUMO

Nematóides ciatostomíneos são responsáveis por altas infecções em eqüinos, causando prejuízos à sanidade animal. O desenvolvimento de resistência aos antihelmínticos e a preocupação do impacto sobre o uso de antihelmínticos ordenaram a necessidade de controle alternativo. Fungos nematófagos vêm sendo pesquisados como uma alternativa para controlar diversas espécies de nematóides. No Brasil poucos são os estudos da ação *in vitro* e *in vivo* destes micror-

ganismos em eqüinos. Com o objetivo de avaliar o potencial destes sobre larvas de nematóides ciatostomíneos, foram realizados testes *in vitro* com os fungos *Arthrobotrys* sp. e *Monacrosporium thaumasium* nas temperaturas: de 25, 28 e 30°C. *M. thaumasium* foi o fungo que apresentou os mais altos percentuais de redução nas três temperaturas: 93.36% (25°C); 93.68% (28°C) e 95.59% (30°C). Para os fungos *A. robusta* I-35 a redução média de 86% foi garantida até 28°C. *A. musiformis* exigiu uma temperatura de 28°C para ter um bom desempenho (86,7%), assim como o *A. robusta* I-31 sob 25°C (86,3%). Os resultados deste ensaio demonstraram que os fungos formadores de armadilhas foram altamente efetivos na redução de larvas infectantes e poderiam vir a ser considerados como agente de controle biológico para programas de controle integrado de nematóides ciatostomíneos de eqüinos.

PALAVRAS-CHAVE: Controle biológico, *Arthrobotrys* sp., *Monacrosporium thaumasium*, ciatostomíneos, eqüino.

¹Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias/IV-UFRJ. E-mail: abisair@ig.com.br

²Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias/IV-UFRJ.

³Fundação Severino Sombra.

⁴Universidade Estadual do Norte Fluminense, Campos, RJ.

⁵Instituto de Veterinária, Departamento de Parasitologia Veterinária, Univerddade Federal Rural do Rio de Janeiro, Km 7 da BR 465, Seropédica, RJ 23890-000. E-mail: lurdesar@ufrj.br

⁶Instituto de Veterinária da Universidade Federal de Viçosa.

⁷Universidade Federal de Minas Gerais, Depto Zootecnia.

INTRODUÇÃO

Os ciatostomíneos desenvolvem parte de seu ciclo biológico no ambiente e as altas infecções produzem enterite catarral descamativa, anorexia, perda de peso, dependendo do estado físico do animal, da alimentação e do número de ciatostomíneos a parasitose pode levar a morte (SOULSBY, 1987).

O método mais comum de controle destes nematóides é através de anti-helmínticos. No entanto, o método tem suas desvantagens como resíduos na carne, no leite, a possibilidade do impacto ambiental e também o desenvolvimento eminente de resistência dos parasitos (WALLER, 1993).

Os fungos nematófagos são microorganismos que têm capacidade de infectar e se alimentar de nematóides, através do desenvolvimento de órgãos especializados em capturar e destruir nematóides (BARRON, 1977). Vários fungos nematófagos vêm sendo isolados de fezes de animais (DUDDINGTON, 1955; JUNIPER, 1957; LARSEN et al., 1991, 1994; SANTOS, 2000) com perspectiva de serem utilizados como controle biológico em helmintoses de bovinos, ovinos e eqüinos (HASHMI; CONNAN, 1989; GRÆNVOLD et al. 1987, 1988, 1989, 1993; ARAÚJO et al., 1998, 2000).

Vários estudos *in vitro* têm sido realizados com o objetivo de se avaliar a ação de fungos nematófagos sobre as fases pré-parasíticas de nematóides de bovinos, ovinos e eqüinos (ARAÚJO et al. 1992; WALLER; FAEDO, 1993; BIRD; HERD, 1995; CHARLES et al. 1995; SANTOS; CHARLES, 1995; MENDOZA DE GIVES et al., 1999; SANTOS et al. 2001; RODRIGUES et al., 2001).

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

A temperatura ótima para o crescimento dos fungos varia de acordo com cada espécie, o que foi observado por MORGAN et al. (1997) onde a temperatura na faixa de 20 a 33°C influenciou nos percentuais de apreensão de larvas por três espécies de fungos.

No Brasil, *M. thaumasium* vem sendo encontrado com grande frequência em fezes de animais e sendo avaliado com excelentes resultados em nematóides de ruminantes (ARAÚJO et al., 2000). Por este motivo, foi selecionado para, junto com outras duas espécies de *Arthrobotrys*, ser avaliado visando conhecer-se seu potencial para controlar larvas de ciatostomíneos *in vitro* sob diferentes temperaturas.

Dessa forma torna-se interessante o controle alternativo, que, futuramente, numa parceria com o controle integrado, pode ser utilizado para reduzir a população de ciatostomíneos parasitos de eqüinos.

MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Local

Este estudo foi desenvolvido nos Laboratórios de Helmintologia e de Controle Microbianos de Artrópodes da

Estação para Pesquisas Parasitológicas W. O. Neitz, do Departamento de Parasitologia Animal do Instituto de Biologia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, Rio de Janeiro.

2.2. Animais

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

2.3. Fungos

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

2.4. Nematóides de vida livre

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

2.5. Obtenção de conídios

Os fungos *A. robusta* (I-31), *A. robusta* (I-35), *A. musiformis* (I-40) e *M. thaumasium* (NF34a) foram cultivados em placas de Petri com ágar-água, num total de 13 placas para cada fungo. De dois em dois dias, inoculava-se um ml com aproximadamente 1000 *Panagrellus* sp., com o objetivo de estimular o crescimento do fungo. Estes nematóides foram previamente recuperados pela técnica de Baermann (UENO; GONÇALVES, 1998) e em seguida lavados dez vezes em água destilada e esterilizada por meio de centrifugações, durante cinco min. a 1500 rpm. Na quinta lavagem a água foi substituída por solução antibiótica: 0,05% de cloranfenicol; 0,05% de sulfato de estreptomicina; 0,05% de anfotericina B. Após a lavagem, os nematóides foram quantificados em 0,1 ml, e o seu valor extrapolado para o volume total e assim ajustado até obter-se a quantidade estipulada.

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

2.6. Delineamento experimental

Para avaliar a ação dos fungos nematófagos sobre as larvas de ciatostomíneos procedeu-se da seguinte forma: cinco grupos foram formados, cada um composto por 10 repetições com 10g de fezes frescas; com contagem prévia do

número de ovos (OPG), de acordo com Gordon e Whilock (1939); recuperação e identificação das larvas (ROBERTS; O'SULLIVAN, 1950; BEVILAQUA et al., 1993). Cada repetição recebeu tratamento com um ml contendo aproximadamente 1000 conídios do fungo correspondente ao tratamento. O controle recebeu um ml de água destilada esterilizada. Os grupos formados foram: controle; *A. robusta* (I-31); *A. robusta* (I-35); *A. musiformis* (I-40); *M. thaumasium* (NF34a). Este delineamento foi realizado para as três temperaturas constantes: 25, 28 e 30°C, mantidas em câmara climatizada (BOD) durante 15 dias. Após este período, as larvas de todos os grupos foram recuperadas como o descrito por Roberts e O'Sullivan (1950), e contadas obtendo-se o valor médio.

Os fungos foram testados com fezes do mesmo animal em três diferentes períodos, onde deve ser esperada uma eventual diferença de OPG. Como em cada período apenas uma temperatura foi testada, o efeito deste fator deve ser discutido com discrição, uma vez que estará superposto com o efeito do OPG.

2.7. Percentual de redução e análise estatística

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

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

O número de larvas recuperado foi transformado pela fórmula: $\log_{10}(x+1)$ para normalização dos dados. O teste de Duncan foi aplicado a nível de 5% de probabilidade (SAMPALIO, 1998), para as três temperaturas isoladamente.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A redução de larvas de ciatostomíneos pelos quatro isolados está representada na Tabela 1. Os isolados apresentaram melhor desempenho que o grupo controle, indiferentemente da temperatura. Entre eles o *M. thaumasium* foi mais eficiente, sem registrar efeito da temperatura em seus resultados. O efeito do *A. musiformis* foi exacerbado na temperatura de 28°C.

Para *A. robusta* (I-35) manteve-se o percentual de redução de larvas até 28°C, enquanto o *A. robusta* (I-31) apresentou melhor resultado sob 25°C.

O maior índice de redução de larvas de ciatostomíneos (90%) por *A. oligospora* foi observado à temperatura de 27°C por Santos et al. (2001).

Fernández et al. (1999) observaram que os isolados de *A. oligospora* e *D. flagrans* reduziram o número de larvas de *C. oncophora* em culturas submetidas a faixa de 15–25°C. Segundo Morgan et al. (1997) o máximo de apreensão para *A. oligospora* e *M. megalosporum* foi registrado entre 25 e 28°C.

Neste estudo registrou-se a temperatura ótima de 28°C para apreensão de *A. musiformis*, de 25°C para o fungo *A. robusta* (I-31) de 25 a 28°C para *A. robusta* (I-35) e para o fungo *M. thaumasium* não foi observado efeito da temperatura no intervalo de 25 a 30°C (Tabela 1), confirmando que ocorre influência da temperatura no grau de apreensão de larvas, dependendo da espécie ou gênero de ciatostomíneos.

Os fungos utilizados por Mendoza de Gives e Vasquez Pratz (1994), *A. robusta* e *Monacrosporium eudermatum* foram, respectivamente, inoculados em culturas fecais, na faixa de temperatura de 25 a 30°C, reduzindo em 10,1 e 95,7% respectivamente as L_3 de *Haemonchus contortus*. Estes resultados diferem dos obtidos no presente estudo, para os isolados de *A. robusta*, os quais apresentaram percentuais de redução mais elevados nas temperaturas de 25, 28 e 30°C. Em relação ao *M. thaumasium*, este demonstrou desempenho similar ao fungo *M. eudermatum*.

A redução de até 93,36% no número de larvas de ciatostomíneos a 25°C por *M. thaumasium*, neste estudo, está de acordo com o encontrado por Waller e Faedo (1993) para larvas de *H. contortus* em culturas fecais a 25°C. As três temperaturas testadas, neste experimento, não afetaram o desempenho do fungo, apresentando um percentual médio de eficiência de 94%, o que já tinha sido observado em experimento prévio (CASTRO et al., 1999).

Monacrosporium ellypsosporum apreendeu 65% e *Monacrosporium bembicoides* 50% do número de larvas de *Aphelenchoides sacchari* a 21°C (FEDER, 1963), estes fungos não cresceram nem apreenderam larvas à temperatura de 35°C.

Tabela 1. Isolados das espécies de fungos, temperaturas, número médio de larvas infectantes (L_3) de ciatostomíneos recuperadas vivas e percentual de redução.

Isolados (n=10)	Temperaturas e percentual de redução					
	25°C	(%)	28°C	(%)	30°C	(%)
Fungos						
<i>Arthrobotrys robusta</i> (I-31)	63,9 ^{Ab}	(86,32)	289,1 ^{Ab}	(62,78)	780,6 ^{Bb}	(63,18)
<i>Arthrobotrys robusta</i> (I-35)	62,1 ^{Ab}	(86,70)	117,3 ^{Bc}	(84,90)	691,5 ^{Cb}	(67,38)
<i>Arthrobotrys musiformis</i>	194,1 ^{Bc}	(58,45)	82,3 ^{Ab}	(89,40)	551,3 ^{Cb}	(73,99)
<i>Monacrosporium thaumasium</i>	31,1 ^{Aa}	(93,34)	49,1 ^{Aa}	(93,68)	93,3 ^{Ba}	(95,60)
Controle	467,2 ^{Ad}		776,9 ^{Bd}		2120,3 ^{Cc}	

Nas colunas, médias com letras minúsculas distintas são diferentes estatisticamente.

Nas linhas, médias com letras maiúsculas distintas são diferentes estatisticamente.

Os resultados obtidos confirmam trabalhos anteriores e sugerem que a eficiência no controle de larvas de ciatostomíneos pelo uso de fungos nematófagos depende das condições de temperatura. O fungo *M. thaumasium* teve desempenho *in vitro*, homogêneo nas temperaturas estudadas, inclusive 30°C, muito comum nos trópicos. Logo este fungo estaria mais bem adaptado às nossas condições. Mais estudos são necessários para avaliação de diversas espécies de fungos em condições a campo e em *in vivo*, pois estes microrganismos têm potencial para serem utilizados num programa de controle integrado com o controle biológico, minimizando assim o uso de antihelmínticos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARAÚJO, J. V.; SANTOS, M. A.; FERRAZ, S.; MAGALHÃES, A. C. M. Controle de larvas infectantes de *Haemonchus placei* por fungos predadores da espécie *Monacrosporium ellypsosporum* em condições de laboratório. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 44, n. 6, p. 521-526, 1992.
- ARAÚJO, J. V.; GOMES, AP.; GUIMARÃES, M.P. Biological control of bovine gastrointestinal nematode parasites in southeastern Brazil by nematode-trapping fungus *Arthrobotrys robusta*. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, vol. 7, n. 2, p. 117-22, 1998.
- ARAÚJO, J. V.; SAMPAIO, W.M.; VASCONCELLOS, R.S.; CAMPOS, A K. Effects of different temperatures and mineral salt on pellets of *Monacrosporium thaumasium* – a nematode trapping fungus. *Veterinarski Archiv*, v. 70, n. 4, p. 181-190, 2000.
- BARRON, G. L. Observations on predatory fungi. *Canadian Journal of Botany*, v. 57, n. 2, p. 187-193, 1977.
- BEVILAQUA, C.M.L.; RODRIGUES, M.L.A.; CONCORDET, D. Identification of infective larvae of some common nematode strongylid of horses. *Revue Médicine Vétérinaire*, v. 44, n. 2, p. 989-995, 1993.
- 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*, v. 56, n. 3, p. 181-187, 1995.
- CASTRO, A.A.; RODRIGUES, M.L.A.; ANJOS, D.H.S.; OLIVEIRA, C.R.C.; BITTENCOURT, V.R.E.P.; ARAÚJO, J.V. Avaliação do fungo *Monacrosporium thaumasium* (Isolado-NF34a) sobre as fases pré-parasíticas de Cyathostominae (Nematoda-Strongylidae) em coproculturas. In: SEMINÁRIO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 9, 1999, Salvador. *Anais... CBPV*, 1999. p. 165.
- CHARLES T.P., RODRIGUES, M.L.A.; SANTOS, C.P. Redução do número de larvas de Cyathostominae em fezes de equinos tratadas com confídios de *Arthrobotrys oligospora*. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 47, n. 1, p. 87-89, 1995.
- DUDDINGTON, C. L. Notes on the technique of handling predacious fungi. *Transactions of the British Mycological Society*, v. 38, n. 2, p. 97-103, 1995.
- FEDER, W.A. A comparison of nematode-capturing efficiencies of five *Dactylella* species at four temperatures. *Mycopathologia et Mycologia Applicata*, v. 19, n. 2, p. 99-104, 1963.
- FERNÁNDEZ, A.S.; LARSEN, M.; WOLSTRUP, J.; GRÆNVOLD, J.; NANSEN, P.; BJÆRN, H. Growth rate and trapping efficacy of nematode-trapping fungi under constant and fluctuating temperatures. *Parasitology Research*, v. 85, n. 3, p. 661-668, 1999.
- GORDON, H. McL.; WHITLOCK, H.V. A new technique for counting nematode eggs in sheep faeces. *Journal Council Science Industry Research*, v. 12, n. 1, p. 50-52, 1939.
- GRÆNVOLD, J.; WOLSTRUP, J.; HENRIKSEN, S. A.; NANSEN, P. Field experiments on the ability of *Arthrobotrys oligospora* (Hyphomycetales) to reduce the number of larvae of *Cooperia oncophora* (Trichostrongylidae) in cow pats and surrounding grass. *Journal of Helminthology*, v. 61, n. 1, p. 65-71, 1987.
- GRÆNVOLD, J.; NANSEN, P.; HENRIKSEN, S.A.; THYLIN, J.; WOLSTRUP, J. The capability of the predacious fungus *Arthrobotrys oligospora* (Hyphomycetales) to reduce numbers of infective larvae of *Ostertagia ostertagi* (Trichostrongylidae) in cow pats and herbage during the grazing season in Denmark. *Journal of Helminthology*, v. 62, n. 3, p. 271-280, 1988.
- GRÆNVOLD, J.; HENRIKSEN, S.A.; NANSEN, P.; WOLSTRUP, J.; THYLIN, J. Attempts to control infection with *Ostertagia ostertagi* (Trichostrongylidae) in grazing calves by adding mycelium of the nematode-trapping fungus *Arthrobotrys oligospora* (Hyphomycetales) cow pats. *Journal of Helminthology*, v. 63, n. 2, p. 115-126, 1989.
- GRÆNVOLD, J.; WOLSTRUP, J.; NANSEN, P.; HENRIKSEN, S.A. Nematode-trapping fungi against parasitic cattle nematodes. *Parasitology Today*, v. 9, n. 4, p. 137-140, 1993.
- HASHMI, H.A.; CONNAN, R.M. Biological control of ruminant Trichostrongilids by *Arthrobotrys oligospora*, a predacious fungus. *Parasitology Today*, v. 5, n. 1, p. 28-30, 1989.
- HEINTZ, C.E. Assessing the predacity of nematode-trapping fungi *in vitro*. *Mycologia*, v. 70, p. 1086-1100, 1978.
- JUNIPER, A.J. Dung as a source of predacious fungi. *Transactions of the British Mycological Society*, v. 40, n. 3, p. 346-348, 1957.
- LARSEN, M.; WOLSTRUP, J.; HENRIKSEN, S.A.; DACKMAN, C.; GRONVOLD, J.; NANSEN. *In vitro* stress selection of nematophagous fungi for biocontrol of preparasitic nematode larvae of ruminants. *Journal of Helminthology*, v. 65, p. 193-200, 1991.
- LARSEN, M.; FAEDO, M.; WALLER, P. J. The potencial of nematophagous fungi to control the free-living stages of nematode parasites of sheep: survey for the presence of

- fungi in fresh faeces of graing livestock in Australia. *Veterinary Parasitology*, v. 53, n. 3-4, p. 275-281, 1994.
- MENDOZA DE-GIVES, P.; VASQUEZ-PRATS, V.M. Reduction of *Haemonchus contortus* infective larvae by three nematophagous fungi in sheep faecal cultures. *Veterinary Parasitology*, v. 55, n. 1-3, p. 197-203, 1994.
- MENDOZA DE-GIVES, P.; DAVIES, K.G.; CLARCK, S.J.; BEHNKE, J.M. Predatory behaviour of trapping fungi against *srf* mutants of *Caenorhabditis elegans* and different plant and animal parasitic nematodes. *Parasitology*, v. 119, n. 1, p. 95-104, 1999.
- MORGAN, M.; BEHNKE, J.M.; LUCAS, J.A.; PEBERDY, J.F. *In vitro* assessment of influence of nutrition, temperature and larval density on trapping infective larvae of *Heligmosomoides polygyrus*, *Arthrobotrys oligospora*, *Duddingtonia flagrans*, *Monacrosporium megalosporum*. *Parasitology*, v. 115, n. 3, p. 303-310, 1997.
- RODRIGUES, M.L.A., CASTRO, A.A.; OLIVEIRA, C.R.R.; ANJOS, D.H.S.; BITTENCOURT, V.R.E.P.; ARAÚJO, J.V. Trapping capability of *Arthrobotrys* sp. and *Monacrosporium thaumasium* on Cyathostome larvae. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 10, n. 2, p. 51-54, 2001.
- ROBERTS, F.H.S.; O'SULLIVAN, P.J. Methods for egg counts and larval cultures for *Strongyles* infesting the gastro-intestinal tract of cattle. *Australian Journal Agricultural Research*, v. 1, n. 1, p. 95-102, 1950.
- SANTOS, C.P.; CHARLES, T.P. Efeito da aplicação de conídios de *Drechmeria coniospora* em cultivos de fezes contendo ovos de *Haemonchus contortus*. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 47, n. 2, p. 123-129, 1995.
- SANTOS, C.P. Isolamento, identificação, produção massal de fungos nematófagos e avaliação de características biológicas do fungo *Duddingtonia flagrans*. 2000. 80f. Tese (Doutorado). Seropédica:UFRRJ, 2000.
- SANTOS, C.P.; CHARLES, T.P.; RODRIGUES, M.L.A. Predatory activity of *Arthrobotrys oligospora* e *Duddingtonia flagrans* on larval stages pre-parasitic larval stages cyathostomes under different constant temperatures. *Ciência Rural*, v. 31, n. 5, p. 39-942, 2001.
- SAMPAIO, I.B.M.S. *Estatística aplicada à experimentação animal*. Belo Horizonte: Fundação de Ensino e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia, 1998. 221p.
- SOULSBY, E.J.L. *Parasitología y enfermedades parasitarias en los animales domésticos*. México: Interamericana, 1987. 805 p.
- UENO, H.; GONÇALVES, P.C. *Manual para diagnóstico das helmintoses de ruminantes*. Japan International Cooperation Agency, Salvador, 1998. 143 p.
- WALLER, P.J. Nematophagous fungi: prospective biological control agents of animal parasitic nematodes? *Parasitology Today*, v. 9, n. 11, p. 429-431, 1998.
- WALLER, P.J.; FAEDO, M. The potencial of nematophagous fungi to control the free-living stages of nematode parasites of sheep: screening studies. *Veterinary Parasitology*, v. 49, n. 1-4, p. 285-297, 1993.

Recebido em 12 de março de 2003.

Aceito para publicação em 27 de agosto de 2003.