

VIABILIDADE SOBRE LARVAS INFECTANTES DE *Ancylostoma* SPP. DOS FUNGOS NEMATÓFAGOS *Arthrobotrys robusta*, *Duddingtonia flagrans* E *Monacrosporium thaumasium* APÓS ESPORULAÇÃO EM DIFERENTES MEIOS DE CULTURA

ALESSANDRO S. MACIEL¹; JACKSON V. DE ARAÚJO²; ARTUR K. CAMPOS³

ABSTRACT:- MACIEL, A.S.; ARAÚJO, J.V. DE; CAMPOS, A.K. [Viability of nematophagous fungi *Arthrobotrys robusta*, *Duddingtonia flagrans* and *Monacrosporium thaumasium* after sporulation in different culture means.] Viabilidade sobre larvas infectantes de *Ancylostoma* spp. dos fungos nematófagos *Arthrobotrys robusta*, *Duddingtonia flagrans* E *Monacrosporium thaumasium* após esporulação em diferentes meios de cultura. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 15, n. 4, p. 182-187, 2006. Universidade Federal de Viçosa, Departamento de Veterinária, Viçosa, Minas Gerais, MG 36571-000, Brazil. E-mail: jvictor@ufv.br

Due to the shortage of studies that indicate the culture mediums that optimize the sporulation of nematophagous fungi for use in research, the sporulation of the fungal isolates *A. robusta* (I31), *D. flagrans* (CG768) and *M. thaumasium* (NF34A) was evaluated in laboratorial conditions for 10 days in the means water-agar 2% (WA 2%), potato-dextrose-agar 2% (PDA 2%), corn-meal-agar 2% (CMA 2%) and yeast-phosphate-sulphate-sucrose-agar (YPSSA). The largest conidia production ($P < 0.05$) for the isolate CG768 happened in BDA 2% while in the isolates I31 and NF34A produced larger conidia number in YPSSA ($P < 0.05$). The viability of the conidia to prey infective *Ancylostoma* spp. larvae did not lose its effectiveness ($P < 0.05$) independent of the culture medium. The middle of culture did not influence in the viability of the conidia ($P > 0.05$).

KEY WORDS: *Ancylostoma* spp., *Arthrobotrys robusta*, *Duddingtonia flagrans*, *Monacrosporium thaumasium*, fungal sporulation.

RESUMO

Devido à escassez de estudos que indiquem os meios de cultura que otimizem a esporulação de fungos nematófagos para uso em pesquisas, a esporulação dos isolados fúngicos de *Arthrobotrys robusta* (I31), *Duddingtonia flagrans* (CG768) e *Monacrosporium thaumasium* (NF34A) foi avaliada em condições laboratoriais durante 10 dias nos meios ágar-água 2% (AA 2%), batata-dextrose-ágar 2% (BDA 2%), “corn-meal-agar” 2% (CMA 2%) e “yeast-phosphate-sulphate-sacarose-agar” (YPSSA). A maior produção de conídios ($P < 0,05$) pelo isolado fúngico CG768 ocorreu no meio BDA 2% enquanto que os isolados fúngicos I31 e NF34A produziram maior número

de conídios no meio YPSSA ($P < 0,05$). Constatou-se a viabilidade dos conídios na predação de larvas infectantes (L_3) de *Ancylostoma* spp. não havendo perda de eficácia na captura ($P < 0,05$) independente do meio de cultura do qual se originaram. O meio de cultura não influenciou na viabilidade dos conídios ($P > 0,05$).

PALAVRAS-CHAVE: *Ancylostoma* spp., *Arthrobotrys robusta*, *Duddingtonia flagrans*, *Monacrosporium thaumasium*, esporulação de fungos.

INTRODUÇÃO

O Brasil possui clima e situação sócio-econômica favoráveis à ocorrência de doenças parasitárias intestinais por helmintos cuja transmissão se dá pela ingestão de ovos e larvas infectantes (ALVES et al., 2002). Muitas dessas infecções têm elevada prevalência em animais, particularmente em cães que convivem com o ser humano e com ele dividem o mesmo “nicho urbano” (MANTOVANI et al., 1978).

A presença de cães portadores de helmintos em locais públicos pode aumentar significativamente a contaminação

¹ Universidade Federal de Viçosa, Departamento de Veterinária, Viçosa, Minas Gerais, MG, Brasil, 36571-000. E-mail: ale_spalenza@yahoo.com.br

² Universidade Federal de Viçosa, Departamento de Veterinária, Viçosa, MG, Brasil, 36571-000. E-mail: jvictor@ufv.br

³ Universidade Federal de Minas Gerais, Departamento de Parasitologia, Instituto de Ciências Biológicas, Belo Horizonte, MG, Brasil, 31270-901. E-mail: arturkanadani@hotmail.com

do solo com ovos e larvas destes parasitos, devido a facilidade com que seus excrementos podem ser misturados ao solo, permanecendo no ambiente por longo tempo, possibilitando a transmissão destes helmintos ao ser humano e animais (MURADIAN et al., 2002). Dentre estes helmintos parasitos intestinais, o *Ancylostoma* spp. tem requerido grande atenção devido ao fato de ser zoonose (ROBERTSON et al., 2000).

Algumas espécies de fungos denominados nematófagos são consideradas antagonistas de nematóides parasitos intestinais de animais domésticos, motivo pelo qual podem ser uma alternativa viável no controle populacional de larvas infectantes em nível ambiental (MOTA et al., 2003).

Tais microorganismos pertencem a um grupo heterogêneo de microfungos com mais de 150 espécies (WALLER; FAEDO, 1996) caracterizados pela sua habilidade de capturar e utilizar os nematóides como fonte de nutrientes. Quanto à morfologia e características funcionais associadas à produção de estruturas especializadas para a captura de nematóides estes fungos podem ser divididos em três grupos: endoparasitas, oportunistas e predadores (JATALA, 1986; NORDBRING-HERTZ, 1988). A maioria das espécies está incluída no grupo dos predadores (BIRD; HERD, 1994) cujas espécies desenvolvem estruturas de captura como resultado de estímulos externos ou espontaneamente (ARAÚJO et al., 2004).

Dentre os fungos predadores, destacam-se as espécies *A. robusta*, *D. flagrans* e *M. thaumasium*, já comprovadas como potenciais agentes no controle de nematóides parasitas de animais domésticos (ARAÚJO et al., 1998; ARAÚJO et al., 1999; SANTOS et al., 2001; ALVES et al., 2003; CASTRO et al., 2003; MELO et al., 2003). A espécie *A. robusta* possui conidióforo ereto, algumas vezes ramificado, com cerca de 300µm de comprimento, carregando em sua extremidade normalmente seis conídios ovóides, hialinos, septados próximo à região mediana e medindo 18-27µm de comprimento por 8-12µm de largura, sendo capaz de produzir clamidósporos (VAN OORSCHOT, 1985). A espécie *D. flagrans* produz vários conídios na extremidade de conidióforos eretos, medindo 25-50µm de comprimento por 10-15µm de largura, com formato variando entre elíptico a ovóide e com um septo mediano (VAN OORSCHOT, 1985). A espécie *M. thaumasium* produz apenas um único conídio na extremidade de cada conidióforo ramificado medindo entre 27-49µm de comprimento por 15-23µm de largura. O conídio é ereto, hialino, fusiforme, com dois ou mais septos transversais, sendo que a célula intermediária é maior que as das extremidades (ARAÚJO et al., 2004; LIU; ZHANG, 1994).

O objetivo deste estudo foi de avaliar a capacidade de esporulação dos isolados fúngicos *A. robusta* (I31), *D. flagrans* (CG768) e *M. thaumasium* (NF34A) em quatro meios rotineiramente utilizados em laboratório a fim de conhecer o meio ideal para se obter o maior número de conídios de cada um destes isolados fúngicos bem como sua viabilidade na captura de larvas infectantes (L_3) de *Ancylostoma* spp.

MATERIALE MÉTODOS

Quatro diferentes meios utilizados rotineiramente em laboratório: CMA 2% “corn-meal-agar” 2% (17g = 2g de extrato de farinha de milho e 15g de ágar em 1000ml de água destilada q.s.p.; pH 6,0); BDA 2% “batata-dextrose-ágar” 2% (40g = 4g infusão de batata desidratada, 20g de dextrose e 15g de ágar em 1000ml de água destilada q.s.p.; pH 5,6) e AA 2% “agar-água” 2% (20g de ágar em 1000ml de água destilada q.s.p., pH 6,5) e YPSSA “yeast-phosphate-sulphate-sacarose-agar” (4g de extrato de levedura, 1g de K_2HPO_4 , 0,5g de $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 20g de ágar, 20g de amido solúvel, 1000ml de água destilada q.s.p., pH 6,2 – STIRLING; MANKAU, 1978) foram utilizados para testar o crescimento de isolados de *A. robusta* (I31), *D. flagrans* (CG768) e *M. thaumasium* (NF34A). Os meios foram preparados, acondicionados em Erlenmeyers, esterilizados e depositados em placas de Petri estéril de 9cm de diâmetro à temperatura ambiente. Os isolados I31 e NF34A foram obtidos de solo brasileiro enquanto que o isolado CG768 foi obtido de fezes de pequenos ruminantes.

Em uma capela de fluxo laminar, discos de cultura de 4mm de diâmetro de colônias fúngicas crescidas em AA 2 % foram transferidos para o centro das placas de Petri contendo 20ml dos meios a serem testados. Posteriormente, essas placas foram mantidas no escuro, em estufa à temperatura de 25°C, durante 10 dias. Ao final deste período, em cada placa coberta pelas hifas e conídios do isolado de fungo foram adicionados 15ml de água destilada utilizando a metodologia descrita por Araújo et al. (1993). Recolheu-se a suspensão de conídios em um béquer 50ml e desta suspensão retiraram-se seis alíquotas de 10µl que foram contadas em Câmara de Fuchs-Rosenthal: 0,2mm e 0,0625mm², Herka®, Alemanha. Da média destas seis contagens extrapolou-se o valor médio da concentração de conídios na suspensão.

As L_3 de *Ancylostoma* spp. foram obtidas de coproculturas de fezes frescas de cães sem raça definida – SRD naturalmente infectados. Estas coproculturas foram mantidas por 10 dias em estufa a 26°C, estando entre 23-30°C que é a temperatura favorável ao desenvolvimento pré-parasitário das espécies deste nematóide (FREITAS, 1982). As L_3 recuperadas foram contadas em seis alíquotas de 10µl, sob microscópio óptico com objetiva de 10x. A média das L_3 foi calculada extrapolando-se a média de larvas presentes para o volume final. Foi utilizada a técnica de Willis (1921) para pesquisa de ovos nas fezes e os cães positivos para infecção por *Ancylostoma* spp., foram mantidos num canil da Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais.

Três tratamentos e um controle foram formados e mantidos em temperatura ambiente em placas de Petri de 5cm de diâmetro contendo 10ml de ágar-água 2% (AA 2%), com 10 repetições para cada grupo. Nos tratamentos, cada placa continha 1.000 L_3 de *Ancylostoma* spp. e 1.000 conídios de apenas um isolado fúngico para cada tratamento – CG768, I31 ou NF34A, e o grupo controle (sem isolado fúngico) conteve apenas 1.000 L_3 nas 10 placas formadas.

No décimo dia de interação foram recuperadas as L₃ não predadas do conteúdo das placas de Petri pela técnica de Baermann concentrando-as em tubos de centrifugação após 24 horas de sedimentação espontânea (UENO; GONÇALVES, 1998).

Uma pipeta de Pasteur acoplada a uma bomba de vácuo permitiu a drenagem do volume contido nos tubos de centrifugação até um valor padrão de 3ml. Deste, coletaram-se seis alíquotas de 10µl que foram distribuídas em lâminas de vidro para contagem das L₃ de *Ancylostoma* spp. recuperadas, por meio de um microscópio óptico, em objetiva de 10x. Calculou-se a média das larvas presentes nestas seis alíquotas e extrapolou-se para um volume final que foi ajustado até se obter a quantidade de L₃ necessária para formação dos quatro grupos deste ensaio.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, já que as condições experimentais foram homogêneas e realizado com seis repetições. Os dados foram interpretados estatisticamente pela análise de variância (Teste F) em nível de 5% de probabilidade. As médias foram avaliadas pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade.

A análise estatística foi realizada com o auxílio do programa “Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas” – SAEG –, desenvolvido pela Universidade Federal de Viçosa – Minas Gerais (EUCLIDES, 1997).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Todos os isolados de fungos foram capazes de crescer e esporular nos meios testados. Na Tabela 1 e Figura 2 estão descritas as médias de conídios produzidos pelos isolados fúngicos.

Não houve diferença estatisticamente significativa ($P > 0,05$) entre as médias dos isolados CG768, I31 e NF34A quanto à produção de conídios em meio AA 2%. O meio AA 2% apresentou a menor produção de conídios em relação aos demais meios ($P < 0,05$). Em condições estressantes os

Tabela 1. Médias das contagens de conídios dos isolados fúngicos de *Arthrobotrys robusta* (I31), *Monacrosporium thaumasium* (NF34A) e *Duddingtonia flagrans* (CG768) em quatro meios de cultura.

Isolado fúngico	Meio de cultura			
	AA 2%	BDA 2%	CMA 2%	YPSSA
CG768	31.667 Ac	11.030.000 Aa	5.927.500 Ab	5.638.333 Ab
I31	235.833 Ab	3.258.333 Ba	2.496.667 Ba	3.427.500 Ba
NF34A	60.834 Ab	1.008.333 Ca	86.667 Cb	1.478.333 Ca

As médias seguidas pela mesma letra maiúscula nas colunas não diferem entre si em nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey com DMS = 1.106.529,74.

As médias seguidas pela mesma letra minúscula nas linhas não diferem entre si em nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey com DMS = 1.005.936,13.

AA 2% = Ágar-água 2%.

BDA 2% = Batata-dextrose-água 2%.

CMA 2% = Corn-meal-água 2%.

YPSSA = Yeast-phosphate-sulphate-sacarose-água.

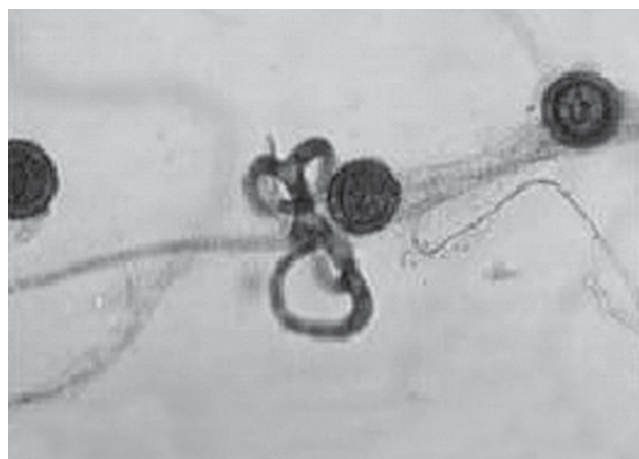


Figura 1. Clamidósporos de *Duddingtonia flagrans* em placa de Petri contendo meio ágar-água 2% (Aumento Oc. 10x com obj. 40x).

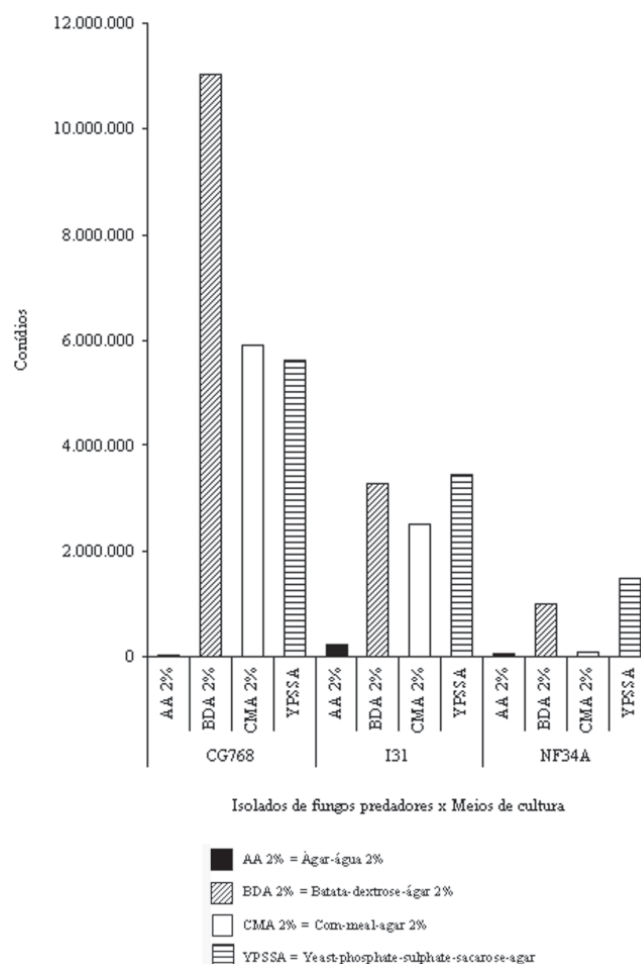


Figura 2. Médias das contagens em hemacitômetro de conídios dos isolados fúngicos de *Arthrobotrys robusta* (I31), *Monacrosporium thaumasium* (NF34A) e *Duddingtonia flagrans* (CG768) nos meios AA 2%, BDA 2%, CMA 2% e YPSSA.

fungos tendem a formar estruturas de resistência – clamidósporos – como um mecanismo de sobrevivência a esta situação (Fig. 1). Meios pobres em nutrientes, com pouca fonte de C e N, favorecem à formação destas estruturas com

supressão do crescimento vegetativo (DHINGRA; SINCLAIR, 1995) devido ao estresse nutricional. No solo, em sua fase saprofítica os fungos predadores de nematóides são capazes de utilizar em seu crescimento diversas fontes de C e N em sua nutrição (SAXENA et al., 1989). Estes fungos, dispondo de uma fonte de energia prontamente disponível, provavelmente não teriam limitações para colonizar o solo e formar as estruturas de captura de nematóides (DIAS; FERRAZ, 1993).

Nos meios BDA 2%, CMA 2% e YPSSA a média de conídios produzida pelos três isolados fúngicos foi estatisticamente diferente ($P < 0,05$) sendo que o isolado fúngico com maior produção de conídios nestes três meios foi o CG768 enquanto que o NF34A foi o de menor produção. Baseando-se nestes resultados observou-se que estes fungos necessitam de uma boa fonte de nutrientes para produzir uma maior quantidade de conídios.

Quando se analisou o isolado fúngico CG768 nos diversos meios verificou-se que houve diferença significativa ($P < 0,05$) do meio BDA 2% em relação aos demais meios, o que também foi observado com o meio AA 2%. As médias de conídios produzidos por este fungo não foram diferentes ($P > 0,05$) entre os meios CMA 2% e YPSSA. No caso do isolado fúngico I31 verificou-se que a média de conídios produzidos no meio AA 2% foi estatisticamente inferior ($P < 0,05$) em relação aos demais meios, não havendo diferença ($P > 0,05$) entre as médias nos meios BDA 2%, CMA 2% e YPSSA. A produção de conídios do isolado fúngico NF34A nos meios AA 2% e CMA 2% não diferiu estatisticamente ($P > 0,05$), todavia diferiram estatisticamente ($P < 0,05$) da produção nos meios BDA 2% e YPSSA, cujas médias não foram estatisticamente diferentes ($P > 0,05$) entre si.

O meio BDA 2% foi o melhor para a produção de conídios do isolado fúngico CG768 enquanto que para os isolados fúngicos I31 e NF34A o meio YPSSA foi o que permitiu maior produção destas estruturas reprodutivas (Fig. 2). Em todos os meios o isolado fúngico de *D. flagrans* (CG 768) produziu grande quantidade de clamidósporos (Fig. 1).

Em um estudo de controle do nematóide parasita de plantas *Meloidogyne incognita*, feito por Dias (1992), o meio YPSSA proporcionou maior crescimento e esporulação para o fungo *A. robusta* em relação aos meios BDA 2% e CMA 2% à temperatura de 25°C, assemelhando-se ao resultado obtido neste referido ensaio. Em outro estudo, feito por Mota e colaboradores em 2003, em que se procurou verificar a esporulação, crescimento radial e biomassa produzida por fungos predadores, grande produção de conídios foi observada em meio YPSSA pelos isolados fúngicos I31 e NF34A após sua preservação em diferentes métodos de conservação, sendo que o isolado fúngico I31 produziu maior número de conídios isolado fúngico NF34A (MOTA et al., 2003).

Os fungos requerem um conjunto de condições ambientais para o seu crescimento incluindo aeração, luz, umidade e temperatura, todavia o meio de cultura é o fator de maior influência no cultivo fúngico, sendo que a

concentração de seus constituintes determina a qualidade e a quantidade de crescimento e se a esporulação ou o crescimento vegetativo serão dominantes (DHINGRA; SINCLAIR, 1995). Um bom meio de cultura permite grande esporulação e pequeno crescimento micelial, sendo que, geralmente, a esporulação é favorecida por esgotamento nutricional, o que é uma condição adversa ao crescimento vegetativo (DHINGRA; SINCLAIR, 1995).

Em muitos estudos com fungos nematófagos grandes quantidades de conídios são requisitadas (LARSEN et al., 1995; ARAÚJO et al., 2001; WALLER et al., 2001), daí a necessidade de conhecer os meios que permitam maior esporulação para determinado fungo nematófago. A esporulação abundante também é importante para a disseminação e sobrevivência de fungos em condições ambientais (JANSSON, 1982) o que é desejável em programas de controle biológico.

Estes fungos não são exigentes em sua nutrição em culturas e não necessitam de meios complexos para seu crescimento (ARAÚJO et al., 2004). Normalmente a produção de conídios para ensaios experimentais é feita em meio AA 2% adicionando-se nematóides de vida livre como o *Panagrellus* spp. (ARAÚJO et al., 1993, 1994), entretanto a produção de conídios por meio desta técnica é demorada além do risco de contaminação da cultura fúngica com outros fungos e bactérias.

No décimo dia de interação após agregar os conídios dos isolados fúngicos com as L₃ de *Ancylostoma* spp. não foi observada perda de eficácia de predação para um mesmo isolado, baseando-se no meio de cultura do qual os conídios foram produzidos, ou seja, AA 2%, BDA 2%, CMA 2% ou YPSSA. As reduções na média de L₃ nos tratamentos com o isolado NF34A variou de 88-89%, já para o isolado I31 variou de 97-98% enquanto que para o isolado CG768 esta variação foi de 89-90%, não havendo diferença significativa ($P > 0,05$) entre as médias nos tratamentos do mesmo isolado indiferente do meio de cultura do qual se obteve os conídios (Tabela 2).

Tabela 2. Porcentagem de redução na média de larvas infectantes (L₃) de *Ancylostoma* spp., recuperadas de meio AA 2% pelo método de Baermann dos tratamentos no décimo dia experimental, após interação com os isolados fúngicos de *Arthrobotrys robusta* (I31), *Duddingtonia flagrans* (CG768) e *Monacrosporium thumasi* (NF34A), produzidos em diferentes meios, em relação ao controle sem fungos.

Meio de cultura	Isolado fúngico		
	CG768	I31	NF34A
AA 2%	89,80	97,68	88,76
BDA 2%	89,89	97,75	89
CMA 2%	89,95	98	88
YPSSA	90	97,80	88,90

AA 2% = Ágar-água 2%

BDA 2% = Batata-dextrose-água 2%

CMA 2% = Corn-meal-água 2%

YPSSA = Yeast-phosphate-sulphate-sacarose-água

CONCLUSÕES

Existe um meio de cultura mais apropriado aos isolados fúngicos estudados para a produção de conídios. O isolado fúngico *D. flagrans* (CG768) produz maior número de conídios no meio BDA 2%, enquanto que os isolados fúngicos de *A. robusta* (I31) e de *M. thaumasium* (NF34A) produzem maior número de conídios no meio YPSSA. O meio de cultura AA 2% não é um bom meio para esporulação dos isolados fúngicos de *A. robusta* (I31), *D. flagrans* (CG768) e *M. thaumasium* (NF34A), servindo apenas como substrato para sua repicagem.

Os isolados de fungos predadores *A. robusta* (I31), *D. flagrans* (CG768) e *M. thaumasium* (NF34A) são eficientes na captura *in vitro* dos nematóides *Ancylostoma* spp, porém, há uma maior atividade predatória *in vitro* em meio AA 2% do isolado de *A. robusta* (I31) sobre L₃ de *Ancylostoma* spp. em relação aos isolados *D. flagrans* (CG768) e *M. thaumasium* (NF34A).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVES, E.G.L.; GUIMARÃES, A.M.; FIGUEIREDO, H.C.P., Costa, G.M. Parasitos intestinais em hortaliças comercializadas em Lavras, Minas Gerais. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 12, 2002, Rio de Janeiro. *Anais...* Rio de Janeiro: CBPV, 2002, 1 CD-ROM.
- ALVES, P.H.; ARAÚJO, J.V.; GUIMARÃES, M.P.; ASSIS, R.C.L.; SARTI, P.; CAMPOS, A.K. Aplicação de formulação do fungo predador de nematóides *Monacrosporium thaumasium* (Drechsler, 1937) no controle de nematóides de bovinos. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 55, n. 6, p. 568-573, 2003.
- ARAÚJO, J.V.; CAMPOS, A.K.; PAIVA, F.; VIEIRA-BRESSAN, M.C.R. Efeito antagonista de fungos predadores do gênero *Arthrobotrys* sobre larvas infectantes de *Oesophagostomum radiatum*, *Cooperia punctata* e *Haemonchus placei*. *Revista Brasileira de Ciência Veterinária*, v. 8, n. 2, p. 81-84, 2001.
- 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. 7, n. 2, p. 117-122, 1998.
- 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, n. 1, p. 165-170, 2004.
- ARAÚJO, J.V.; SANTOS, M.A.; FERRAZ, S.; MAIA, A.S. Antagonistic effect of predacious *Arthrobotrys* fungi on infective *Haemonchus placei* larvae. *Journal of Helminthology*, v. 67, n. 3, p. 136-138, 1993.
- ARAÚJO, J.V.; SANTOS, M.A.; FERRAZ, S.; MAIA, A.S. Biological control "in vitro" of infective *Haemonchus placei* larvae by predacious fungi *Arthrobotrys musiformis*. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 46, n. 3, p. 197-204, 1994.
- ARAÚJO, J.V.; STEPHANO, M.A.; SAMPAIO, W.M. Passage of nematode-trapping fungi through the gastrointestinal tract of calves. *Veterinarski Arhiv*, v. 69, n. 2, p. 69-78, 1999.
- BIRD, J.; HERD, R.P. Nematophagous fungi for the control of equine cyathostomes. *Continuing Education*, v. 16, n. 5, p. 658-665, 1994.
- CASTRO, A.A.; OLIVEIRA, C.R.C.; ANJOS, D.H.S.; DE 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*, v.12, n.2, p.53-57, 2003.
- DHINGRA, O.D.; SINCLAIR, J.B. *Basic Plant Pathology Methods*. 2nd edition. Florida: CRC Press, 1995. 434p.
- DIAS, W.P. *Controle de Meloidogyne incognita*, raça 3, com *Arthrobotrys* spp. 1992. 71 p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1992.
- DIAS, W.P.; FERRAZ, S. Crescimento e esporulação de *Arthrobotrys* spp. em diferentes substratos, meios de cultura, pH e níveis de temperatura. *Nematologia Brasileira*, v.17, n.2, p.168-181, 1993.
- EUCLIDES, R.F. SAEG - Sistema de análises estatísticas e genéticas. Versão 7.1. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa – UFV, 1997. 150p.
- FREITAS, M.G. *Helminthologia Veterinária*. 6 ed. Belo Horizonte: Precisa Editora Gráfica Ltda, 1982. 396p.
- JANSSON, H.B. Predacity by nematophagous fungi and its relation to the attractions of nematodes. *Microbial Ecology*, v. 8, n. 6, p. 233-240, 1982.
- JATALA, P. Biological control of plant-parasitic nematodes. *Annual Review of Phytopathology*, v. 24, n. 4, p. 453-489, 1986.
- LARSEN, M.; NANSEN, P.; WOLSTRUP, J.; GRONVOLD, J.; HENRIKSEN, S.A.; ZORN, A., Biological control of trichostrongyles in calves by the fungus *Duddingtonia flagrans* fed to animals under natural grazing conditions. *Veterinary Parasitology*, v. 60, n. 6, p. 321-330, 1995.
- LIU, X.Z.; ZHANG, K.Q. Nematode-trapping species of *Monacrosporium* with special reference to two new species. *Mycological Research*, v. 98, n. 7, p. 862-868, 1994.
- MANTOVANI A, BATELLI G, ZANETTI R. Problems associated with the coexistence of man and animals in urban areas. *Annali Dell'Instuto Superiori di Sanita*, v. 14, n. 2, p. 265-272, 1978.
- MELO, L.M.; BEVILAQUA, C.M.L.; ARAÚJO, J.V.; MELO, A.C.F.L. Atividade predatória do fungo *Monacrosporium thaumasium* contra o nematóide *Haemonchus contortus*, após passagem pelo trato gastrintestinal de caprinos. *Ciência Rural*, v. 33, n. 1, p. 169-171, 2003.
- MOTA, M.A.; CAMPOS, A.K.; ARAÚJO, J.V. Sporulation, radial growth and biomass production of *A. robusta* and *M. thaumasium* submitted to different methods of preservation. *Brazilian Journal of Microbiology*, v. 34, n. 2, p. 157-160, 2003.
- MURADIAN, V.; PINHEIRO, S.R.; GENNARI, S.M.; YAI,

- L.E.O.; DAMACENO, J.T.; CORTEZ, I.; GLICKMAN, L.T. Frequência de agentes etiológicos da larva migrans em amostras de solo de áreas da comunidade São Remo, São Paulo (SP), Brasil. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 12, Rio de Janeiro. *Anais...* Rio de Janeiro: CBPV, 2002. 1 CD-ROM.
- NORDBRING-HERTZ, B. Nematophagus fungi: strategies for nematode exploitation and for survival. *Microbiology Science*, v. 5, n. 3, p. 108-168, 1988.
- ROBERTSON, I.D.; IRWIN, P.J.; LYMBERY, A.J.; THOMPSON, R.C.A. The role of companion animals in the emergence of parasitic zoonoses. *International Journal for Parasitology*, v. 30, n. 12-13, p. 1369-1377, 2000.
- SANTOS, C.P.; PADILHA, T.; RODRIGUES, M.L.A. Predatory activity of *Arthrobotrys oligospora* and *Duddingtonia flagrans* on pre-parasitic larval stages of cyathostominae under different constant temperatures. *Ciência Rural*, v.31, n. 5, p. 832-842, 2001.
- SAXENA, G.; DAYAL, R.; MUKERJI, K.G. Nutritional studies on nematodetrapping fungi. *Folia Microbiologica*, v. 34, n. 1, p. 42-48, 1989.
- STIRLING, G.R.; MANKAU, R. Parasitism of *Meloidogyne* eggs by a new fungal parasite. *Journal of Nematology*, v. 10, n. 1, p. 236-240, 1978.
- UENO, H.; GONÇALVES, P.C. *Manual para diagnóstico das helmintoses de ruminantes*. Salvador: Japan International Cooperation Agency, 1998. 143 p.
- VAN OORSCHOT, C.A.N. Taxonomy of the *Dactylaria* complex. A review of *Arthrobotrys* and allied genera. *Studies in Mycology*, v. 26, n. 1, p. 61-95, 1985.
- WALLER, P.J.; FAEDO, M. The prospect for biological control of the free-living stages of nematode parasite of livestock. *International Journal for Parasitology*, v. 26, n. 1, p. 915-925, 1996.
- WALLER, P.J.; KNOX, N.R.; FAEDO, M. The potential of nematophagous fungi to control the free-living stages of nematodes parasites of sheep: feed and block studies with *Duddingtonia flagrans*. *Veterinary Parasitology*, v. 102, n. 1, p. 321-330, 2001.
- WILLIS, H.H. A simple levitation method for the detection of hookworm ova. *Medical Journal of Australia*, v. 11, n. 1, p. 375-376, 1921.

Recebido em 25 de abril de 2006.

Aceito para publicação em 19 de setembro de 2006.