

AVALIAÇÃO DO FUNGO PREDADOR DE NEMATÓIDES *Duddingtonia flagrans* SOBRE LARVAS INFECTANTES DE *Haemonchus contortus* E *Strongyloides papillosus* DE CAPRINOS*

JACKSON V. ARAÚJO^{1,2}, BRUNA W. FREITAS^{1,2}, THAIS C. VIEIRA^{1,2}, ARTUR K. CAMPOS^{1,2}

ABSTRACT: ARAÚJO, J.V.; FREITAS, B.W.; VIEIRA, T.C.; CAMPOS, A.K. [Evaluation of nematode predacious fungus *Duddingtonia flagrans* on infective *Haemonchus contortus* and *Strongyloides papillosus* larvae of goats]. Avaliação do fungo predador de nematóides *Duddingtonia flagrans* sobre larvas infectantes de *Haemonchus contortus* e *Strongyloides papillosus* de caprinos. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 15, n. 2, p. 76-79, 2006. Departamento de Veterinária, Universidade Federal de Viçosa, Avenida P.H. Rolfs, s/n - Campus, Viçosa, MG 36570-000, Brazil. E-mail: jvictor@ufv.br

One brazilian isolate of nematode-trapping fungus *Duddingtonia flagrans* AC 001 was evaluated regarding the capacity of supporting passage through the gastrointestinal tract of goats without losing the ability to entrap infective *Haemonchus contortus* and *Strongyloides papillosus* larvae (L3). Ten saneen goats of eight months old, males and infected naturally were divided in two groups of five animals. In the group 1, the animals received orally 20g of pellets of the *D. flagrans*. In the group 2 (control), the animals received orally 20g of pellets without fungi. Fecal Samples were collected at 14, 20, 24, 36 and 46 hours after the treatments and were allocated in fecal cultures at 25°C during fifteen days. There was significant reduction ($P<0.05$) of the average number of *S. papillosus* larvae recovered of the fecal cultures in the animals treated with fungus when compared with the control animals at 14 and 46 hours, in the end of the experiment, this difference was 82.3%. There was significant reduction ($P<0.05$) of the average number of *H. contortus* larvae recovered of the fecal cultures in the animals treated with fungus when compared with the control animals at 14, 20 and 46 hours, in the end of the experiment, this difference was 59.3%. Such evidences confirm the transit of these fungi pellets by the digestive tract of the goats without loss of the predatory viability on L3 of *H. contortus* and *S. papillosus*.

KEY WORDS: Biological control, nematophagous fungi, *Duddingtonia flagrans*, *Haemonchus contortus*, *Strongyloides papillosus*.

RESUMO

Um isolado brasileiro de *Duddingtonia flagrans* AC 001 foi testado quanto a capacidade de passagem através do trato gastrointestinal sem perda da capacidade predatória sobre larvas infectantes (L3) de *Haemonchus contortus* e *Strongyloides papillosus* de caprinos. Dez caprinos, da raça Saneen, de 8 meses de idade, machos e naturalmente infectados foram divididos em dois grupos de 5 animais por grupo. No grupo 1, a cada animal foi administrado, por via oral, 20 gramas

de peletes contendo o isolado fúngico de *D. flagrans*. No grupo 2 (controle), os animais que receberam 20 gramas de peletes sem a presença de fungos. Amostras fecais foram coletadas às 14, 20, 24, 36 e 46 horas após os tratamentos e foram realizadas coproculturas e incubadas a 25°C, por 15 dias. Houve redução significativa ($P<0,05$) no número de larvas recuperadas de *S. papillosus* após os tratamentos dos animais com o isolado fúngico de *D. flagrans* em relação aos animais controle nos horários de 14 e 46 horas, sendo que essa diferença ao final do experimento foi de 82,3%. Houve redução significativa ($P<0,05$) no número de larvas recuperadas de *H. contortus* após os tratamentos dos animais com o isolado fúngico de *D. flagrans* em relação aos animais controle nos horários de 14, 20 e 46 horas sobre L3 de *H. contortus*, sendo que essa diferença ao final do experimento foi de 59,3%. Nos demais horários não houve diferença significativa. Pode-se

* Projeto financiado pela FAPEMIG e CNPq.

¹ Departamento de Veterinária, Universidade Federal de Viçosa, Avenida P.H. Rolfs, s/n, Campus, Viçosa, MG 36570-000, Brazil. E-mail: jvictor@ufv.br

² Bolsista do CNPq.

afirmar a viabilidade do fungo *D. flagrans* na passagem pelo trato gastrointestinal de caprinos sem perder a capacidade em predação L3 de *H. contortus* e *S. papillosus*.

PALAVRAS-CHAVE: Controle biológico, fungos Hematófagos, *Duddingtonia flagrans*, *Haemonchus contortus*, *Strongyloides papillosus*.

INTRODUÇÃO

A criação de caprinos é uma atividade de crescente importância sócio-econômica no mundo. Caprinocultura de corte e de leite são alternativas, tanto para a produção de alimentos, quanto para a diversificação da renda da propriedade e geração de empregos no campo. Os mercados nacional e internacional têm grande demanda por carnes e peles destes animais e, por suas características naturais, o Brasil tem grande potencial como exportador destes produtos. Entre os fatores que interferem no desenvolvimento da produção de pequenos ruminantes, as helmintoses ocupam grande destaque, por causarem retardamento do desenvolvimento animal e gastos excessivos com manejo, levando a uma baixa produtividade do rebanho e, conseqüentemente, a elevadas perdas econômicas (SILVA, 2003).

Os caprinos são considerados, dentre os ruminantes domésticos, como os animais mais susceptíveis aos nematóides gastrointestinais, o que torna a infestação por helmintos o maior problema sanitário e econômico da caprinocultura. Os efeitos das helmintoses são mais evidentes nos animais jovens, os quais ainda não adquiriram resistência imunológica a esses nematóides. As pastagens contaminadas constituem um importante elemento epidemiológico, por funcionar como principal veículo de transmissão de larvas infectantes de nematóides para os animais. Assim, a higienização das pastagens através da redução do número de larvas infectantes é um dos objetivos do controle das verminoses (ARAÚJO et al. 2004a). O controle tem sido realizado com a aplicação de anti-helmínticos, no entanto, o aparecimento de resistência aos princípios ativos anti-helmínticos, a existência de resíduos na carne e no leite e a ecotoxicidade de alguns compostos despertaram o interesse no desenvolvimento de novas práticas de controle das nematodioses gastrointestinais que possam contribuir para um menor uso de anti-helmínticos (WOOLASTON; BAKER, 1996). Novas práticas de controle alternativo, que interfiram na contaminação de pastagens, como o controle biológico, poderão ajudar a solucionar os problemas decorrentes das verminoses.

A utilização de fungos nematófagos parece ser altamente promissora para animais em pastejo que estão sendo constantemente infectados (ARAÚJO et al., 1998). Esses fungos são os mais estudados organismos usados no controle de nematóides de animais domésticos, sendo a espécie *Duddingtonia flagrans* a mais estudada no controle das helmintoses gastrointestinais de animais domésticos na Europa (LARSEN, 1999). Esses fungos predam nematóides por meio de hifas adesivas. Produzem conídios com morfologia de 25-50 mm de comprimento por 10-15 mm de largura e grande quan-

tidade de clamidósporos em matéria seca (COOKE; GODFREY, 1964).

O objetivo do presente estudo foi comprovar a capacidade de passagem do fungo *D. flagrans* (isolado AC 001) através do trato gastrointestinal de caprinos sem perder a capacidade predatória no controle biológico de larvas infectantes de *Haemonchus contortus* e *Strongyloides papillosus* de caprinos.

MATERIALE MÉTODOS

O fungo predador de nematóides *O. flagrans* (isolado AC 001) foi oriundo do solo de Viçosa, MG, Brasil pelo método de espalhamento do solo de Duddington (1955), modificado por Santos et al. (1991) em Viçosa, Minas Gerais. Esse isolado fúngico foi, periodicamente, repicado e mantido em tubos de ensaio, contendo “com meal” agar 2% (CMA 2%), a 4°C e no escuro. Massa micelial foi obtida através da inoculação de discos de cultura de CMA 2% de aproximadamente 5 mm de diâmetro após sete dias de incubação, a 25°C, em erlenmeyers de 250 ml, contendo 150 ml de meio líquido GPY (glicose, peptona sódica e extrato de levedura), pH 6,5, no escuro e sob agitação de 120 rpm. Peletes desse isolado fúngico em matriz de alginato de sódio foram feitos como descrito por Walker e Connick (1983) e modificado por Lackey et al. (1993).

Dez caprinos da raça Saneen, do sexo masculino, de 8 meses de idade, provenientes da região de Viçosa, Minas Gerais e naturalmente infectados com *Haemonchus contortus* e *Strongyloides papillosus* foram divididos em dois grupos de cinco animais por grupo. No, grupo 1, a cada animal foi administrado, por via oral, 20 gramas de peletes contendo o isolado fúngico de *D. flagrans*. O grupo 2 (controle) foi constituído por 5 animais que receberam 20 gramas de peletes sem a presença de fungos. No dia da administração dos peletes, nos animais procedeu-se à contagem de ovos por grama de fezes (OPG) de acordo com a técnica descrita por Gordon e Whitlock (1939). Os animais do grupo 1 apresentaram média e desvio padrão de 260,00±134,16 OPG de *H. contortus* e 3880,00±2013,50 OPG de *S. papillosus*. Os animais do grupo 2 apresentaram 300±158,11 OPG de *H. contortus* e 3840,00±1962,91 OPG de *S. papillosus*.

Amostras fecais foram coletadas diretamente do reto de cada animal às 14, 20, 24, 36 e 46 horas após a administração oral dos peletes aos animais. Ao mesmo tempo, foram realizadas as coproculturas, em que 5g de fezes dos animais foram misturadas com vermiculita fragmentada e umedecida e incubadas a 25°C, no escuro e durante quinze dias. Foram realizadas três repetições com as amostras referentes a cada horário de coleta fecal. Decorridos os quinze dias de incubação, realizou-se a técnica de Baermann com água a 42°C por 6 horas a coleta das larvas infectantes. Cinco dias antes da administração dos peletes e durante a coleta das fezes, cada animal foi alimentado com feno “ad libitum” e 01 kg de ração comercial para caprinos.

As médias dos dados obtidos foram submetidos à análise de variância (teste F e Tukey) aos níveis de significância de 5%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O isolamento dos fungos nas fezes ocorreu, principalmente, às 14, 20 e 46 horas após a administração do fungo por via oral. Silva (2003) observou, após administrar cônidios de um isolado de *Monacrosporium thaumasium* em caprinos, que o tempo de passagem do fungo ocorreu de 21 a 24 horas. Nesse trabalho foi observado ainda menor carga parasitária, menor número de ovos por grama de fezes e maior ganho de peso nos caprinos tratados com 10g de peletes semanalmente durante 3 meses, assim como menor infestação das pastagens por larvas de helmintos pela utilização de animais traçadores. Mota et al. (2000) e Castro (2000) demonstraram a eficácia de um isolado de *M. thaumasium* em testes *in vitro* sobre L3 de *H. contortus* de caprinos e ciatostomíneos de eqüinos, respectivamente. Rédua et al. (2002) e Melo et al. (2003) conseguiram a passagem de *M. thaumasium* pelo trato gastrointestinal de eqüinos e caprinos, respectivamente, sem perda de viabilidade para predar L3 de ciatostomíneos e de *H. contortus*. Alves et al. (2003) obtiveram redução de 88,8% no OPG de bovinos tratados com 20 gramas de peletes de *M. thaumasium*, duas vezes por semana, durante 4 meses, em relação aos animais do grupo controle e Araújo et al. (2004b) obtiveram redução de quase 100% quando administraram peletes por 6 meses. Em testes *in vitro* Araújo et al. (2000) testaram peletes de *M. thaumasium* em condições de diferentes temperaturas e em sal mineral e observaram a viabilidade destes peletes após 4 meses de estocagem.

A Tabela 1 representa os valores médios do número de L3 de *S. papillosus* recuperadas das coproculturas nos respectivos tempos e diferentes tratamentos avaliados. Observou-se redução significativa ($P<0,05$) do número médio de larvas infectantes recuperadas nos tempos de 14 e 46 horas. Nos demais horários de coleta não houve diferença estatística. Isso pode indicar que os peletes podem transitar pelo trato

gastrointestinal e sair nas fezes em horários variados e muitas vezes de forma lenta.

Ao longo do experimento, o número médio de L3 recuperadas dos animais controle apresentou-se maior em relação aos tratados. Esta diferença ao final do experimento, no somatório de todos os horários, foi de 82,3%.

Os valores médios do número de larvas infectantes de *H. contortus* recuperadas das coproculturas incubadas com 5 gramas de fezes dos animais tratados, que receberam peletes contendo o isolado fúngico de *D. flagrans* (AC 001), e dos animais controle, que receberam peletes sem quaisquer isolados fúngicos, estão representados na Tabela 2. O número médio de larvas dos animais controle apresentou-se maior em relação aos tratados, com diferença estatisticamente significativa apenas nos horários de 14, 20 e 46 horas ($p<0,05$), coincidindo em parte com os resultados apresentados nas L3 de *S. papillosus*. Esta diferença ao final do experimento foi de 59,3% em relação aos animais tratados com *D. flagrans*. Essa menor diferença em relação aos resultados apresentados em *S. papillosus* se deve à baixa infecção apresentada nos animais por *H. contortus*.

O maior ou menor tempo de eliminação do fungo está relacionado com o tempo de excreção nas diferentes espécies animais. O intervalo de tempo de eliminação dos fungos nematófagos reflete o período de ação predatória sobre as larvas nas fezes. Os resultados demonstraram que a peletização do micélio não interferiu no tempo de passagem pelo trato digestivo e na ação predatória do fungo, podendo ser um método importante no biocontrole de nematóides. Vale ressaltar que o fungo peletizado em alginato de sódio apresenta importância prática, pois pode ser mantido em estoque e é confeccionado com materiais inertes, demonstrando seu potencial de utilização em rebanhos. Este fato aumenta a sua aplicabilidade em comparação com a utilização de outros

Tabela 1. Valores médios e desvio padrão do número de larvas infectantes de *Strongyloides papillosus* recuperadas das coproculturas em diferentes tempos após o tratamento dos animais com o fungo predador de nematóides *Duddingtonia flagrans* (AC 001) e dos animais do grupo controle.

Grupos	Tempo (horas)				
	14	20	24	36	46
Tratado (AC 001)	0,27±0,12 ^B	55,27±43,6 ^A	76,40±40,54 ^A	11,33±51,4 ^A	25,93±18,34 ^B
Controle	65,67±220,23 ^A	86,53±76,04 ^A	56,33±30,09 ^A	86,0±139,98 ^A	726,33±323,55 ^A

Letras diferentes $P<0,05$, valores das médias são diferentes estatisticamente.

Tabela 2. Valores médios e desvio padrão do número de larvas infectantes de *Haemonchus contortus* recuperadas das coproculturas em diferentes tempos após o tratamento com o fungo predador de nematóides *Duddingtonia flagrans* (AC 001) e dos animais do grupo controle.

Grupos	Tempo (horas)				
	14	20	24	36	46
Tratado (AC 001)	0,53±0,31 ^B	0,8±0,72 ^B	4,13±2,58 ^A	3,33±1,21 ^A	0,27±0,31 ^B
Controle	6,27±4,02 ^A	3,13±2,12 ^A	2,93±1,33 ^A	4,20±0,87 ^A	5,73±1,29 ^A

Letras diferentes $P<0,05$, valores das médias são diferentes estatisticamente.

propágulos como grãos de cereais utilizados por Larsen (1999), que por não se tratar de veículos inertes, podem se contaminar por diversos microorganismos.

CONCLUSÃO

Os resultados mostraram que o isolado fúngico testado de *D. flagrans* (AC 001) é um agente promissor e que pode ser usado no controle biológico dos nematóides *H. contortus* e *S. papillosus* de caprinos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 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.; GOMES, A.P.S.; GUIMARÃES, M.P. Biological control of bovine gastrointestinal nematode parasites in southeastern Brazil by the nematode-trapping fungus *Arthrobotrys robusta*. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 7, n. 3, p. 117-122, 1998.
- ARAÚJO, J.V.; GUIMARÃES, M.P.; CAMPOS, A.K.; SÁ, N.C.; SARTI, P.; ASSIS, C.L. Control of bovine gastrointestinal nematode parasites using pellets of the nematode-trapping fungus *Monacrosporium thaumasium*. *Ciência Rural*, v. 34, n. 6, p. 457-463, 2004b.
- 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, Suplemento 1, p. 165-170, 2004a.
- 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. 2, p. 181-190, 2000.
- CASTRO, A.C. Avaliação de fungos *Deuteromycetos* sobre fases pré-parasíticas de *Cyathostominae* (Nematoda-Strongylidae). 2000. 100 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2000.
- COOKE, R.C.; GODFREY, B.E.S. A key of nematode-destroying fungi. *Transactions of British Mycological Society*, v. 47, n. 1, p. 61-74, 1964.
- DUDDINGTON, C.L. Notes on the technique of handling predaceous fungi. *Transaction of British Mycological Society*, v. 38, n. 1, p. 97-103, 1955.
- GORDON, H.M.; WHITLOCK, H.V. A new technique for counting nematode eggs in sheep faeces. *Journal of Council Science Industry Research*, v. 12, n. 1, p. 50-52, 1939.
- LACKEY, B.A.; MULDOON, A.E.; JAFFE, B.A. Alginate pellet formulation of *Hirsutella rossiliensis* for biological control of plant-parasitic nematodes. *Biological Control*, v. 3, n. 2, p. 155-160, 1993.
- LARSEN, M. Biological control of helminths. *International Journal for Parasitology*, v. 29, n. 2, p. 139-146, 1999.
- MELO, L.M.; BEVILACQUA, C.; ARAÚJO, J.V.; MELO, A.C.F. Atividade predatória do fungo *Monacrosporium thaumasium* contra o nematóide *Haemonchus contortus*, após passagem pelo trato gastrointestinal de caprinos. *Ciência Rural*, v. 33, n. 1, p. 169-171, 2003.
- MOTA, M.; BEVILACQUA, C.; ARAÚJO, J.V. Atividade predatória dos fungos *Arthrobotrys conoides* e *Monacrosporium thaumasium* sobre larvas infectantes de *Haemonchus contortus* de caprinos. *Ciência Animal*, v. 10, n. 1, p. 37-41, 2000.
- RÉDUA, C.R.O.; SICILIANO, S.; MUJICA, F.; ARAÚJO, J.V.; RODRIGUES, M.L.A. Avaliação da passagem do fungo nematófago *Monacrosporium thaumasium* pelo trato gastrointestinal de eqüinos. *Ciência Animal*, v. 12, n. 2, p. 133-136, 2002.
- SANTOS, M.A.; FERRAZ, S.; MUCHOVEJ, J. Detection and ecology of nematophagous fungi from Brazilian soils. *Nematologia Brasileira*, v. 15, n. 1, p. 121-134, 1991.
- SILVA, W.W. Aspectos epidemiológicos e controle biológico de nematóides gastrintestinais de caprinos pelo fungo *Monacrosporium thaumasium* (Drechsler, 1937) em ecossistema semi-árido do Nordeste-Brasil. 2003. 53f. Tese (Doutorado) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2003.
- WALKER, H.L.; CONNICK, Jr. Sodium Alginate for production and formulation of mycoherbicides. *Weed Science*, v. 31, n. 3, p. 333-338, 1983.
- WOOLASTON, R.R.; BAKER, R.L. Prospects of breeding for parasite resistance. *International Journal for Parasitology*, v. 26, n. 6, p. 845-855, 1996.

Recebido em 09 de setembro de 2005.

Aceito para publicação em 31 de março de 2006.