

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CAMPUS DE BOTUCATU

**SISTEMA DE INTEGRAÇÃO LAVOURA-PECUÁRIA COMO
MÉTODO DE CONTROLE DA CONTAMINAÇÃO DA PASTAGEM
POR NEMATÓDEOS GASTRINTESTINAIS DE OVINOS**

MARINA LAÍS SABIÃO DE TOLEDO PIZA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Zootecnia – Área de Concentração: Nutrição e Produção Animal, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre.

BOTUCATU – SP
Junho – 2017

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CAMPUS DE BOTUCATU

**SISTEMA DE INTEGRAÇÃO LAVOURA-PECUÁRIA COMO
MÉTODO DE CONTROLE DA CONTAMINAÇÃO DA PASTAGEM
POR NEMATÓDEOS GASTRINTESTINAIS DE OVINOS**

MARINA LAÍS SABIÃO DE TOLEDO PIZA
Zootecnista

Orientador: Prof. Titular Ciniro Costa

Coorientador: Prof. Titular Alessandro Francisco
Talamini do Amarante

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-
graduação em Zootecnia – Área de Concentração:
Nutrição e Produção Animal, como parte das
exigências para obtenção do título de Mestre.

BOTUCATU – SP
Junho – 2017

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO DA INFORMAÇÃO - SERVIÇO TÉCNICO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - UNESP - FCA - LAGEADO - BOTUCATU (SP)

Pisa, Marina Laís Sabião de Toledo, 1992-
P695s Sistema de integração lavoura-pecuária como método de controle da contaminação da pastagem por nematódeos gastrintestinais de ovinos / Marina Laís Sabião de Toledo Pisa. - Botucatu : [s.n.], 2017
49 f. : il.

Dissertação (Mestrado)- Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu, 2017
Orientador: Ciniro Costa
Coorientador: Alessandro Francisco Talamini do Amarante
Inclui bibliografia

1. Ovino - Criação. 2. Cordeiro. 3. Vermes - Parasitas. 4. Carne - Qualidade. I. Costa, Ciniro. II. Amarante, Alessandro Francisco Talamini do. III. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Campus de Botucatu). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. IV. Título.

Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte

Dedico

Aos meus pais, Luiz Henrique e Jandira Piza, pelo apoio em todos os anos de minha formação, pelo carinho, dedicação e amizade de uma vida inteira. A minha irmã, Natália, por todas as conversas e apoio.

Ofereço

Aos meus orientadores, Prof. Titular Cíniro Costa e Prof. Titular Alessandro Francisco Talamini do Amarante, pela confiança e ensinamentos durante o Mestrado.

Muito obrigada!!!

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por me guiar em sua infinita bondade e permitir que eu realizasse mais um sonho em minha vida.

Aos meus pais, Luiz e Jandira, minha irmã e cunhado, Natália e Bruno, por estarmos sempre juntos, independente dos problemas. Agradeço pelo amor, apoio, conversas, broncas e alegrias. Sem vocês em minha vida, nada disso seria possível. Obrigada por serem meus guias, fonte de luz e fortaleza.

Aos meus orientadores, Prof. Titular Ciniro Costa e Prof. Titular Alessandro Francisco Talamini do Amarante, pela oportunidade de fazer parte dessa equipe. Agradeço a paciência que tiveram comigo durante todo esse tempo.

A Dra. Fabiana Alves de Almeida, por todo auxílio, ensinamentos em laboratório, dicas em minha escrita, e ajuda para desenvolver o presente estudo.

Aos colegas de laboratório, doutorandos e pós-doutorando, César, José Henrique, Michele, Nadino e Renan, bem como ao estagiário Marcelo, por toda ajuda, conversas, dicas e risadas.

Aos colegas do Setor ILP, Cristiano, Daniel, Vanessa, Verena e Verônica, e a todos os estagiários que passaram por ali durante meu mestrado.

Aos amigos que Botucatu me proporcionou, agradeço por todos os momentos em que me escutaram, me apoiaram e me deram forças para seguir!

Aos animais utilizados na presente pesquisa, meus sinceros agradecimentos e eterno respeito.

À Fundação de Amparo à Pesquisa de Estado de São Paulo – FAPESP pela bolsa de estudo concedida, Processo 2015/25413-1.

SUMÁRIO

CAPÍTULO I	1
1. CONSIDERAÇÕES INICIAIS	2
1.1. Biologia dos parasitas	2
1.2. Desenvolvimento e sobrevivência da larva infectante na pastagem	4
1.3. Recuperação e quantificação de larvas infectantes na pastagem	7
1.5. Controle da verminose ovina	10
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	16
CAPÍTULO II	24
RESUMO	25
1. Introdução	27
2. Material e métodos	28
2.1. Área experimental	28
2.2. Manejo dos animais	28
2.3. Análises parasitológicas	29
3. Resultados e Discussão	30
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	31
CAPÍTULO III	33
RESUMO	34
ABSTRACT	35
1. Introdução	36
2. Material e Métodos	37
2.1. Área experimental	37
2.2. Manejo dos animais experimentais	38
2.3. Coleta de amostra de pastagem	39
2.4. Análise estatística	40
3. Resultado	40
4. Discussão	42
AGRADECIMENTOS	43
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	43
IMPLICAÇÕES	48

CAPÍTULO I

1. CONSIDERAÇÕES INICIAIS

O rebanho nacional de ovinos (*Ovis aries*) é de aproximadamente 18,4 milhões de cabeças (IBGE, 2015). O consumo de carne ovina no Brasil é baixo, em torno de 800 gramas por habitante por ano (ALMEIDA, 2013). Porém, esse consumo que antes era quase que exclusivo por moradores do Nordeste e Sul, vem aumentando em todo o país (ESTEVES, 2014).

A produção da carne ovina é afetada pelo precário manejo sanitário (ALMEIDA, 2009), além de fatores relativos a raça, sexo, idade, e sistema de produção, principalmente quanto a alimentação (BURIN, 2016). Quando comparados à outras categorias, os cordeiros apresentam melhor conversão alimentar, ou seja, são mais eficientes para transformar o alimento ingerido em carne (ALBUQUERQUE; OLIVEIRA, 2015).

Com isso, a categoria animal dos cordeiros é a mais utilizada para produção de carne ovina. Ainda apresentam carcaças mais valorizadas comercialmente, com maior deposição de músculo em regiões nobres e quantidade ideal de gordura, além de possuírem carne mais macia e suculenta (ISSAKOWICZ, 2015).

O parasitismo por nematódeos gastrintestinais é um dos maiores entraves na ovinocultura e causa grandes prejuízos pela queda no desempenho dos animais e elevação dos custos de produção, além de poder levar esses animais à morte (AMARANTE, 2009). Isso porque os animais mais jovens possuem uma exigência nutricional alta e muitas vezes ela é negligenciada, fazendo com que seu sistema imune não responda de forma eficaz às infecções parasitárias.

1.1. Biologia dos parasitas

Conhecer a biologia dos parasitas e entender a dinâmica populacional das larvas presentes na pastagem pode ser o ponto de partida para a criação de programas sustentáveis de controle à verminose (HECKLER; BORGES, 2016).

Haemonchus spp., *Trichostrongylus* spp., *Cooperia* spp. e *Oesophagostomum* spp. são os parasitas mais patogênicos da ordem Strongylida, no estado de São Paulo, e são os que causam maior mortalidade nos ovinos (CHAGAS; VERÍSSIMO, 2008; AMARANTE, 2001; AMARANTE et al., 2004).

Um único ovino infectado por nematódeos gastrintestinais pode depositar junto às fezes milhares de ovos diariamente e, apesar de apenas 0,01% dos ovos

darem origem a larva infectante (L3), haverá a contaminação da pastagem e consequente continuação do ciclo (AMARANTE, 2014).

O ciclo de vida dos parasitas gastrintestinais é direto, não sendo necessário hospedeiros intermediários. A fase de vida livre ocorre no ambiente e a fase parasitária ocorre no interior do hospedeiro (OLIVEIRA-SEQUEIRA; AMARANTE, 2001).

Cada espécie tem suas particularidades em relação ao seu ciclo evolutivo. Em suma, esses parasitas vivem no trato gastrintestinal dos ovinos e realizam as posturas de ovos que são eliminados junto às fezes para o ambiente. Nas fezes, durante as primeiras 24 horas, os ovos embrionados eclodem e dão origem às larvas de primeiro estágio (L1). As L1 sofrem muda de cutícula e se desenvolvem a larva de segundo estágio (L2). Ambas se alimentam de matéria orgânica e microrganismos contidos nas fezes. Quando a L2 muda para larva de terceiro estágio (L3), forma infectante, a cutícula da fase anterior é mantida, o que lhe confere grande capacidade de sobrevivência no meio ambiente (NARI; FIEL, 1993).

Devido a dupla cutícula, a L3 apresenta peculiaridades morfológicas que permitem sua identificação em gênero. Essas larvas não se alimentam, sendo necessário que elas saiam das fezes e migrem para a forrageira, por onde serão ingeridas pelos ruminantes, infectando-os e dando continuidade ao desenvolvimento no interior do hospedeiro. No aparelho digestório, as L3 sofrem mudas para larvas de quarto estágio (L4) e larvas de quinto estágio (L5), dando origem aos machos e fêmeas adultos, que darão sequência ao ciclo evolutivo (AMARANTE, 2014).

A espécie *Haemonchus contortus* é o principal endoparasita de ovinos no Brasil, devido a alta prevalência e a grande patogenicidade (AMARANTE, 2014; FERNANDES et al., 2015). As fêmeas adultas dessa espécie podem eliminar até 10.000 ovos diariamente (PRICHARD, 2001) e seu período pré-patente, período entre a ingestão da L3 até a deposição de ovos junto às fezes, é de 18 a 22 dias (SANTOS et al., 2014). Esse parasita tem hábito hematófago e seu órgão de eleição é o abomaso. Um único parasita pode ingerir de 0,05 a 0,08 ml de sangue por dia e, por isso, quando o animal está com uma carga parasitária elevada, pode apresentar anemia e edema submandibular, podendo vir a óbito. (AMARANTE, 2014; AMARANTE; SALES, 2007).

Outro gênero importante no nosso cenário é o *Trichostrongylus* spp. O mais comum em ovinos é *Trichostrongylus colubriformis*, que parasita o intestino delgado, mas também pode ocorrer *Trichostrongylus axei*, parasita do abomaso

(GIBSON, 1955). As fêmeas adultas do gênero liberam de 100 a 200 ovos diariamente, e o período pré-patente é de 21 dias (ROMERO; BOERO, 2001). Além de perda de apetite, as infecções intensas por *T. colubriformis* estão associadas a graves enterites, com atrofia das vilosidades, espessamento e erosão das mucosas, provocando baixa absorção de nutrientes (HOLMES, 1985; CARDIA et al., 2011).

Geralmente leves, as infecções por *Cooperia* spp. produzem lesões superficiais na mucosa do intestino delgado. Quando os ovinos não coabitam com outras espécies de ruminantes, a espécie *Cooperia curticei* é usualmente a única encontrada (AMARANTE, 2014). Quando há pastejo alternado entre bovino e ovino podem ser encontradas *Cooperia punctata*, *Cooperia pectinata* e *Cooperia spatulata*. A fêmea adulta desse gênero libera de 100 a 2.000 ovos diariamente, e o período pré-patente é de 13 a 14 dias (ROMERO; BOERO, 2001).

A espécie *Oesophagostomum columbianum* é de elevada patogenicidade e parasita o intestino grosso. Os animais infectados por esse parasita apresentam lesões nodulares típicas na parede intestinal (AMARANTE, 2014). Na primeira infecção do animal, as L3 se encistam na parede do intestino delgado. A muda de L3 para L4 ocorre de 5 a 10 dias após a infecção. Durante esse período, a maioria das larvas voltam ao lúmen e migram para o intestino grosso. Algumas larvas entram em uma segunda fase histotrófica no intestino grosso, onde ficam presas na quarta fase larval. As outras larvas se desenvolvem normalmente até parasitas adultos no lúmen, sem sofrer uma segunda migração de tecido. Em uma segunda infecção, poucas larvas se desenvolvem até adultos. Algumas ficam presas na primeira fase histotrófica no intestino delgado e outras são presas na segunda fase histotrófica no intestino grosso, e o período pré-patente é de 35 a 42 dias (DASH, 1973). As fêmeas adultas depositam até 3000 ovos diariamente (UENO; GONÇALVES, 1998).

1.2. Desenvolvimento e sobrevivência da larva infectante na pastagem

O clima influencia a contaminação ambiental (ROCHA et al., 2012). Como o desenvolvimento de ovo até larva infectante (L3) se dá dentro das fezes, fatores ambientais como solo úmido, chuvas frequentes e sombra da vegetação favorecem a manutenção de umidade do cíbalo fecal, propiciando o desenvolvimento das larvas (AMARANTE et al., 2014). Em um experimento, Rocha et al. (2012) verificaram que os cíbalos fecais foram mantidos intactos durante 112 dias, especialmente quando a forragem tinha 30 centímetros de altura, sendo uma importante fonte de L3 na pastagem.

Tanto temperatura quanto umidade são fatores climáticos que afetam o desenvolvimento de ovo até L3 (O'CONNOR et al., 2006). A umidade das fezes é fator determinante para a migração da L3 dos cíbalos fecais (WANG et al., 2014).

Quando as fezes são mantidas em estufa com temperatura controlada de 25°C, o desenvolvimento de ovo à L3 leva em média 7 dias (AMARANTE, 2014). A temperatura ótima para a taxa de desenvolvimento varia conforme a espécie do parasita (MORGAN; VAN DIJK, 2012). Alguns nematódeos tem seu desenvolvimento em temperaturas mais baixas, já outros são adaptados às temperaturas mais quentes. Porém, quanto mais baixa a temperatura, mais lento será o desenvolvimento, especialmente para as espécies adaptadas a altas temperaturas (AMARANTE, 2014).

O tempo de sobrevivência da larva na pastagem depende também do estágio de desenvolvimento do parasita (LEVINE; TODD,1975). Larvas de estágio inicial são relativamente vulneráveis a extremos de temperatura, enquanto L3 são capazes de suportar condições muito mais severas (MORGAN; VAN DIJK, 2012). As larvas infectantes também são mais resistentes aos fatores ambientais que o ovo (LEVINE; TODD,1975).

Almeida et al. (2005) observaram que, mesmo em condições de clima seco, houve sobrevivência larval no interior dos cíbalos fecais por longos períodos, devido aos baixos índices pluviométricos e temperaturas mais amenas. Por esse motivo, não recuperar L3 nas forragens não quer dizer que as mesmas estejam livres de contaminação, pois os cíbalos fecais servem como reservatório de larvas.

Rocha et al. (2007) verificaram ausência de L3 de *T. colubriformis* no capim durante o inverno e verão, e explicam o fato pela falta de chuva após a deposição das amostras fecais na pastagem, o que provavelmente impediu o desenvolvimento e/ou a migração das mesmas. Já no outono e na primavera, devido ao aumento da umidade, as larvas conseguiram sair do bolo fecal e subir ao longo da forrageira, havendo recuperação.

Fernandes et al. (2004) verificaram que, apesar de períodos com pouca precipitação serem prejudiciais ao desenvolvimento larval, pode ocorrer a recuperação das mesmas na pastagem, pelo fato de que na região em que foi realizado o experimento, Ilha Solteira – São Paulo, há chuvas, mesmo que leves, durante o ano todo, assegurando seu desenvolvimento, sobrevivência e dinâmica de dispersão.

As condições ambientais, como chuvas e altas temperaturas, são importantes não só para o desenvolvimento e sobrevivência das larvas infectantes, mas também para a migração delas das fezes para a pastagem (SANTOS et al., 2012;

ROCHA et al., 2012; 2014). A migração vertical das L3 ao longo da forrageira depende de vários fatores e, dentre eles, a umidade desempenha papel importante. Santos et al. (2012) afirmam que havendo apenas um filme de água a L3 já consegue deslocar-se na planta.

De acordo com Banks et al. (1990), o desenvolvimento e a sobrevivência de larvas infectantes de *H. contortus* em pastagens tropicais, com altas temperaturas e umidade, favorece a eclosão de ovos e o desenvolvimento de larvas dessa espécie. Apesar disso, a taxa de mortalidade larval se eleva, podendo estas sobreviverem por não mais de um ou dois meses na pastagem, com um pico populacional uma semana após a contaminação. Segundo os autores, em baixas temperaturas ambientais, as L3 sobrevivem por períodos prolongados, possivelmente devido à lenta taxa de utilização da energia armazenada. À medida em que as temperaturas e as taxas metabólicas resultantes aumentam, a energia é utilizada mais rapidamente, levando a uma longevidade progressivamente reduzida (BANKS et al., 1990).

Outro fator que influencia na sobrevivência das larvas é a radiação ultravioleta (UV). Os resultados obtidos por Van Dijk et al. (2009) deixam claro que os níveis naturais de radiação UV aumenta a taxa de mortalidade das larvas, havendo declínio na contaminação da pastagem na primavera, onde a radiação solar sobe rapidamente e a temperatura ainda é baixa.

De acordo com Verschave et al. (2015), chuvas muito fortes podem influenciar na dispersão larval, diminuindo a quantidade de L3 na pastagem. Carneiro e Amarante (2008) concluíram que a temperatura em torno de 17°C acompanhada de baixas precipitações pluviométricas favorecem o desenvolvimento e a sobrevivência larval, enquanto a chamada "estação das águas", é menos favorável para a recuperação das mesmas da pastagem.

Em um estudo realizado na cidade de Urbana, Levine e Andersen (1973), no estado de Illinois (EUA), verificaram que quando a taxa de recuperação de L3 na pastagem de uma espécie está alta, em oposição, a outra está baixa. Concluíram ainda que as larvas de *H. contortus* sobrevivem melhor na primavera e outono, e pior no verão e inverno quando comparadas às larvas de *T. colubriformis*.

Em Ilha Solteira - SP, Fernandes et al. (2004) obtiveram maior recuperação de larvas infectantes na pastagem de abril a outubro, sendo menor do final de outubro até o fim do período avaliado, dezembro. Os autores verificaram ainda, que o aumento acentuado na precipitação reduziu a recuperação das L3 da pastagem. Amarante e Barbosa (1995) e Amarante et al. (1996), ao realizarem experimentos na cidade de

Botucatu, São Paulo, verificaram resultados semelhantes, onde o maior número de L3 também foi recuperado de maio a outubro, sendo menor de novembro a março.

Em Botucatu – SP, Santos et al. (2012) recuperaram uma maior quantidade de L3 de *H. contortus* no verão, onde a umidade relativa era maior que 68,2% e a temperatura, medida ao nível do solo, variou de 19 a 42°C.

1.3. Recuperação e quantificação de larvas infectantes na pastagem

A pastagem é a única fonte de infecção natural por larvas infectantes de nematódeos gastrintestinais de ovinos. Com a intensificação da produção, aumenta-se a taxa de lotação e a produção animal por área (MOREIRA et al., 2011), aumentando também a quantidade de ovos de nematódeos gastrintestinais depositados junto às fezes (GAZDA et al., 2012).

Portanto, um importante componente no estudo das parasitoses gastrintestinais em ruminantes é a quantificação do número de L3 presente na pastagem (MARTIN et al., 1990). Essa quantificação de L3 faz parte do estudo da ecologia e epidemiologia do parasita, sendo de suma importância para a compreensão da biologia do mesmo (CASTRO et al., 2003).

Várias técnicas para recuperação de L3 da pastagem já foram testadas como, por exemplo, animais com fístulas esofagiana (GETTINBY et al., 1985), e animais traçadores (MARTIN et al., 1990). Animais traçadores são utilizados em grande escala, e servem para verificar a contaminação da área por nematódeos gastrintestinais. Esses animais entram para pastejo livre de infecção por esses parasitas e depois são abatidos para a recuperação dos vermes adultos do trato gastrintestinal.

Tetley (1959), a fim de determinar o grau de contaminação por L3 de nematódeos gastrintestinais de uma área pastejada por ovelhas e seus respectivos cordeiros, utilizaram grupos com 4 cordeiros traçadores cada. Após duas semanas de pastejo, um grupo era abatido e os vermes identificados, sendo introduzido outro grupo, o que durou pouco mais de cinco meses. Foram recuperados vermes adultos dos gêneros *Haemonchus*, *Ostertagia*, *Nematodirus*, *Trichostrongylus* e *Cooperia*.

Também a fim de determinar o grau de contaminação de um pasto de aveia por nematódeos gastrintestinais de ruminantes, após a área ter permanecido com cultura de soja em um sistema de Integração Lavoura-Pecuária (ILP), Echevarria et al. (1993) utilizaram 4 cordeiros e 4 bezerros traçadores, verificando que o ILP foi

eficaz em descontaminar a pastagem, pois os traçadores não apresentaram vermes em seu trato gastrointestinal.

No entanto, a utilização de animais traçadores para se fazer essa quantificação é onerosa e trabalhosa, pois esses animais precisam ser abatidos para a recuperação dos vermes adultos do trato gastrointestinal. A busca por modelos alternativos à utilização de animais experimentais vem tomando grandes proporções, priorizando técnicas *in vitro* ou que substituam os animais como, por exemplo, a mensuração por meio da coleta da pastagem, devido à praticidade, rapidez e baixo custo de aplicação.

Autores confirmaram que existe correlação entre o número de larvas no pasto e a carga parasitária dos hospedeiros (GETTINBY et al., 1985; MARTIN et al., 1990). Com isso, a amostragem de L3 a partir da forrageira para determinação do grau de contaminação da pastagem é uma técnica eficaz e menos invasiva.

Com isso, diversos autores vem testando métodos de amostragem do pasto e diferentes formas de recuperação das L3, a fim de se determinar o número relativo de larvas presentes no meio, e que melhor represente a realidade local, servindo como um parâmetro importante no estudo da epidemiologia de nematóides gastrintestinais.

Kreck e Maingi (2004) compararam dois métodos de recuperação de números conhecidos de L3 da pastagem a partir da forragem. Foram utilizadas máquina de lavar seguido de centrifugação-flotação em solução saturada de açúcar, e a técnica de Baermann. Houve correlação entre o número de L3 recuperadas e o número de L3 colocadas na pastagem. A máquina de lavar recuperou maior número de L3, e as amostras eram mais limpas e mais fáceis de examinar sob o microscópio. Porém, Baermann pode ser mais adequado no trabalho de campo, especialmente em locais onde os recursos e equipamentos são escassos, pois é menos oneroso em equipamentos e menos trabalhoso. Nenhum método recuperou todas as L3 colocadas na pastagem. As taxas de recuperação para o método da máquina de lavar variaram de 18 a 41%, enquanto as de Baermann variaram de 0 a 27%, subestimando a real contaminação. De acordo com os autores, fatores de correção podem ser utilizados para estimar o número real de L3 em pastagem.

Com objetivo de observar a longevidade de larvas de *H. contortus* nas pastagens do Quênia, Dinnik e Dinnik (1961) dividiram um lote coberto com capim em quadrados de 12x12 polegadas cada. O capim foi cortado a uma altura de 3 polegadas e fezes de cabra contendo L3 de *H. contortus* foram depositadas sobre ele em

diferentes épocas do ano. Quando não chovia, o capim era molhado manualmente, para estimular as L3 a subirem no mesmo. O capim era cortado rente ao solo e seguindo a técnica de Baermann, as L3 eram recuperadas. De forma geral, quando o clima estava quente e seco, as larvas sobreviveram por apenas cinco semanas. Já no frio, as larvas duraram mais, por cerca de 14 semanas.

Para se determinar o grau de contaminação natural de uma pastagem, Taylor (1939) propôs que a coleta de pastagem fosse feita por duas pessoas. Uma pessoa traçando um W e a outra um W invertido na área, realizando em torno de 100 paradas, sendo coletadas amostras em 4 pontos diferentes em cada uma dessas paradas. O primeiro ponto seria imediatamente em frente aos pés da pessoa que está coletando, e os outros 3 escolhidos como fosse conveniente, atrás e dos lados dos pés. O autor ainda diz que aproximadamente 226,8 gramas de amostra é considerado apropriado, embora resultados satisfatórios sejam obtidos com amostras de 113,4 a 453,6 gramas.

O autor diz ainda que a coleta de pasto deve ser feita ao acaso, para evitar qualquer tendência por parte do amostrador em favor a um tipo particular de forragem ou proximidade com depósitos de fezes. Em lugares com pouca pastagem isso nem sempre é praticável (TAYLOR, 1939).

Verschave et al. (2015) compararam dois métodos para quantificação da contaminação da forragem pastejada por bovinos: o modificado descrito por Taylor (1939) e o Método Quadrado. O primeiro é realizado como o descrito anteriormente. Já o segundo, um quadrado de 0,16 m² é jogado 4 vezes na área de forma aleatória, e todo o conteúdo de dentro do quadrado é coletado. Grandes discrepâncias foram vistas entre os métodos, mas sem diferença significativa. Os autores concluíram que em áreas maiores que 1 hectare, a diferença entre o tempo de duração da coleta é maior que em áreas menores, sendo o Método Quadrado o mais rápido de ser realizado.

O trabalho de Verschave et al. (2015) avaliou quantificação de nematódeos gastrintestinais de bovinos, que tem diferente dispersão na pastagem quando comparados aos parasitas de ovinos. Além disso, o estudo realizado por esses autores foi conduzido na Bélgica, onde o clima difere do nosso país. Com esse intuito, seria necessário um estudo no Brasil, comparando os mesmos métodos de amostragem de pasto para a quantificação de L3 de nematódeos gastrintestinais de ovinos, a fim de definir qual delas é a mais indicada.

1.4. Resistência anti-helmíntica

A fim de diminuir as perdas econômicas causadas pelos parasitas gastrintestinais, a utilização profilática de anti-helmínticos tem se intensificado (ALMEIDA et al., 2009). Dentre os princípios ativos utilizados frequentemente no tratamento da parasitose gastrintestinal estão os imidazotiazóis (levamisol), as lactonas macrocíclicas (ivermectinas e milbemicinas) e os benzimidazóis (albendazol) (FORTES; MOLENTO, 2013).

Falhas na aplicação desses anti-helmínticos, como uso contínuo, utilização incorreta e indiscriminada fez com que fossem selecionados parasitas resistentes a diversos grupos químicos utilizados no tratamentos dos animais (MELO et al., 2015).

Um parasita é resistente a determinado anti-helmíntico quando o mesmo suporta uma dose do composto químico que foi letal para a maioria dos indivíduos da mesma espécie, normalmente sensíveis (VIEIRA, 2007).

O primeiro caso de resistência registrado foi em 1964, nos Estados Unidos, por Drudge et al. (1964), que observaram que uma cepa de *H. contortus* não foi eliminada com 44 mg/kg de peso vivo de tiabendazole, enquanto outras espécies parasitas foram.

Almeida et al. (2010), ao testarem o nível de resistência de levamisole, albendazol, ivermectina, moxidectina, closantel e triclorfón por *H. contortus* e *T. colubriformis* em ovinos, concluíram que as duas espécies apresentam resistência múltipla a todos os anti-helmínticos utilizados no estudo.

Em um estudo mais recente, ao testarem a eficácia de diferentes princípios ativos no controle parasitário em ovinos infectados por *Haemonchus* spp., do município de Capão do Leão - RS, Costa et al. (2017) concluíram que houve resistência anti-helmíntica aos fármacos moxidectina e fenbendazole.

Vários outros autores reportam resistência anti-helmíntica aos fármacos comerciais por todo o mundo. Devido a isso, outros métodos de controle aos nematódeos gastrintestinais estão sendo cada vez mais estudados, a fim de se diminuir o uso desses medicamentos e manter a produtividade dos animais.

1.5. Controle da verminose ovina

Devido à resistência anti-helmíntica aos fármacos comerciais, outros métodos de controle à verminose ovina vem sendo estudados, como a nutrição, vacinação, fitoterapia e controle ambiental. A associação entre esses métodos pode ser a melhor formas de se obter um resultado satisfatório.

Sissay et al. (2006) realizaram um estudo de campo a fim de demonstrar que a eficácia anti-helmíntica no controle dos parasitas gastrintestinais de pequenos ruminantes pode ser restaurada com um manejo eficaz. Foram utilizadas cabras, infectadas por *Haemonchus contortus* e *Trichostrongylus* spp., em que o albendazol, tetramisol, a combinação das duas drogas, e a ivermectina não eliminaram as infecções parasitárias. Esses animais tiveram suas infecções eliminadas e foram introduzidas ao pastejo com ovelhas das quais os anti-helmínticos eram eficientes para eliminação dos parasitas gastrintestinais. Após 7 meses, o nível de eficácia no rebanho de cabras foi restaurado.

Um bom manejo nutricional pode contribuir para uma efetiva resposta imunológica, reduzindo as taxas de infecção e, conseqüentemente, melhorando o desempenho produtivo dos animais (AMARANTE, 2014). Em um experimento realizado por Bricarello et al. (2005), os cordeiros que foram alimentados com concentrado de alto teor proteico, com 129 g de proteína metabolizável por quilograma de matéria seca (PM/kg de MS), apresentaram menor carga parasitária, maior volume globular e maior concentração de proteína plasmática quando comparados aos cordeiros alimentados com moderados níveis proteicos, com 75 g PM/kg de MS. Khan et al. (2012), concluíram que o fornecimento de proteína não impediu o estabelecimento das larvas de *H. contortus* nos cordeiros, porém aumentou a resiliência dos mesmos, sendo que os cordeiros que recebiam nível de proteína mais baixo, tornaram-se mais vulneráveis à infecção, afetando negativamente o seu desempenho.

Compostos contidos nos alimentos também podem ter efeitos antiparasitários. Van Zyl et al. (2017), a fim de avaliar o efeito no nível de infecção por nematódeos gastrintestinais em ovelhas Merino, ofereceram duas dietas com feno de leguminosas perenes: uma rica em tanino, *Lespedeza cuneata*, e outra com baixo teor de tanino, alfafa (*Medicago sativa*). Após 35 dias, os valores de OPG foram significativamente mais baixos nas ovelhas do grupo alimentado com a leguminosa rica em tanino.

Outra alternativa de controle é o uso de vacinas, Bassetto et al. (2014) testaram uma vacina contendo glicoproteínas de membrana integral do intestino de *H. contortus* em ovelhas gestantes ou lactantes. Não obteve-se sucesso nas ovelhas e os autores associaram os resultados às insuficientes reservas fisiológicas para montar uma resposta protetora. Em contraste, a vacinação dos seus respectivos cordeiros

resultou em títulos de anticorpos 10 vezes mais elevados, mostrando que a vacina poderia proporcionar proteção útil contra *H. contortus*.

A fitoterapia também vem ganhando espaço como método alternativo no controle da verminose ovina. Domingues et al (2013), pesquisaram o potencial anti-helmíntico da *Ananas comusus* (abacaxi) em ensaios *in vitro* sobre a inibição da eclodibilidade de ovos, desenvolvimento larvar e ensaios *in vivo* em ovinos. Apesar da eficácia *in vitro*, o extrato da casca propiciou apenas 32% de redução no OPG dos animais tratados. Mesmo com a baixa eficácia, os autores concluíram que essa seria uma opção viável para auxiliar no controle da parasitose.

Um controle biológico pode ser feito também na pastagem, diminuindo a quantidade de L3 na forragem e, conseqüentemente o OPG dos animais. Em um trabalho realizado por Falbo et al. (2015), os autores pulverizaram conídios do fungo *Arthrobotrys conoides* sobre a área pastejada por animais, e concluíram que houve uma redução de 52,4% de larvas infectantes na pastagem pulverizada com conídios quando comparado ao grupo controle. O OPG também teve redução, sendo 49,1% menor nos animais que pastejaram a área pulverizada.

Além dos fungos, pode-se fazer o controle biológico na pastagem com rotação e alternância entre espécies de animais na área. Fernandes et al. (2004) concluíram que a utilização do pastejo rotacionado entre ovinos e bovinos foi benéfico no controle da verminose, propiciando a redução no grau da infecção e no número de tratamentos com anti-helmínticos.

Rocha et al. (2008), ao estudarem o pastejo alternado entre bovinos e ovinos, concluíram que a contaminação da pastagem por larvas de nematódeos gastrintestinais de ovinos foi reduzida após 96 ou 192 dias de pastejo de bovino. Os autores ainda observaram que as infecções cruzadas entre os parasitas de ovino e bovino não foram significativas, sugerindo que o pastejo integrado com esses animais poderia ser utilizado para a descontaminação de pastagens.

Com resultados semelhantes, Torres et al. (2009) concluíram que o sistema de pastejo simultâneo entre bovino e ovino, apresenta maior controle de carga parasitária de *Haemonchus* spp. na pastagem, podendo ser uma alternativa para descontaminação e/ou controle de nematódeos gastrintestinais na pastagem.

A eficiência deste método é devido à especificidade do parasita ao hospedeiro. As larvas de nematódeos gastrintestinais com alta especificidade parasitária tem seu desenvolvimento, estabelecimento e reprodução impedidos ou dificultados ao serem ingeridas pelo hospedeiro não-preferencial. Além disso, a

integração de diferentes espécies de animais promove “diluição” no número de formas infectantes de uma determinada espécie de parasita na pastagem, reduzindo o contato parasita-hospedeiro (AMARANTE et al., 2004).

A seleção de animais resistentes no rebanho também contribui para o controle biológico na pastagem. Bassetto et al. (2009) selecionou, de acordo com o número de ovos por grama de fezes (OPG), os animais mais susceptíveis (contagem mais elevada) e os mais resistentes (menores contagens). Os animais resistentes, além de apresentarem menor OPG, tinham maiores valores de volume globular, proteína plasmática, eosinófilos sanguíneos e maior peso vivo. A contagem de L3 na pastagem foi maior nos piquetes pastejados pelo grupo susceptível quando comparado ao resistente, indicando que os animais susceptíveis são grandes contaminadores da pastagem e devem ser eliminados do rebanho.

Além da seleção dos animais mais resistentes no rebanho, a utilização de raças mais tolerantes às infecções por nematódeos gastrintestinais pode ser uma das alternativas viáveis de controle da verminose. Mexia et al. (2011) compararam a susceptibilidade aos parasitas nas raças Santa Inês, Bergamácia e Texel. As ovelhas Santa Inês tiveram menor contagem de OPG durante o estudo, sendo portanto a raça menos susceptível à infecção por endoparasitos. Uma provável explicação é a maior capacidade dessa raça em elaborar uma resposta imune específica à infecção (AMARANTE et al., 2009).

O controle ambiental pode ser feito também diretamente através da forrageira. O manejo da altura da pastagem pode ser um método de controle eficaz. Em um experimento conduzido em Botucatu – SP, Rocha et al. (2012) verificaram que houve uma maior concentração de L3 em pastagens baixas. Em pastagens altas houve diluição nas quantidades de larvas, o que leva a uma diminuição na ingestão de larvas pelos animais, conseqüentemente reduzindo a sua exposição a parasitas.

A rotação de pastagem, quando bem executada, pode ser eficaz nesse sentido, porém, isso nem sempre ocorre (AMARANTE, 2014). Burke et al. (2009) concluíram que os animais em pastejo rotacionado, além de terem necessitado menos vermifugações ao longo do período avaliado, tiveram o mesmo peso dos animais em pastejo contínuo.

Porém, Fernandes et al. (2004) afirmaram que um pastejo rotacionado com período de 35 dias de descanso da pastagem não é eficiente para o controle da verminose, sendo considerado um período curto, já que os parasitas levam dias para se desenvolverem no ambiente. Além disso, Torres et al. (2009) verificaram que

quando os ovinos passam por várias vezes em um mesmo piquete, com curto período de descanso (21 dias), o número de larvas infectantes recuperadas da pastagem é maior, devido à maior deposição de ovos junto às fezes.

Com isso, um tempo maior de descanso se faz necessário para que ocorra a descontaminação. Souza et al. (2000), em Lages, Santa Catarina, concluíram que para ter redução na quantidade de larvas infectantes na pastagem seriam necessários 42 a 56 dias na primavera, de 70 a 84 no verão, de 112 a 126 no outono e de 98 a 112 no inverno.

Como confirmado por diversos autores, um período de 30 a 40 dias, normalmente utilizado para descanso da maioria das forrageiras no sistema rotacionado, não é suficiente para descontaminar a pastagem. Além disso, sob as condições do período seco, a sobrevivência das larvas no interior do bolo fecal pode ser bastante longa, o que pode representar risco à prática zootécnica de rotação de pastagens como medida de controle das nematodioses gastrintestinais (ALMEIDA et al., 2005).

Há ainda, realizando-se a rotação de pastagem, a possibilidade de aumentar a taxa de lotação pela maior oferta de forragem, ocorrendo elevação do número de ovos depositados juntos às fezes no ambiente, aumentando ainda mais a contaminação ambiental (AMARANTE, 2009).

Sendo assim, há a necessidade de um maior período de descanso para que a descontaminação ocorra de fato (ROCHA, 2006). Porém, essa prática muitas vezes é inviável por ser incompatível com o manejo adequado das forrageiras, além de reduzir área disponível para os animais em propriedades que utilizam as pastagens ao longo de todo o ano.

Isso porque o período de descanso influencia no rendimento da forrageira, bem como em seu valor nutricional (DERESZ, 2001). Apesar de ter uma maior massa seca de forragem quando submetida a um longo período de descanso, a qualidade e características estruturais da planta são comprometidas. Burke et al. (2009) verificaram que a oferta de forragem no pastejo rotacionado dos animais, após três rotações, foi maior que no pastejo contínuo, porém com baixa qualidade.

Um longo período de descanso pode comprometer, conseqüentemente, o desempenho e rendimento animal (CÂNDIDO et al., 2005). Como exemplo, Colvin et al. (2008), na Austrália, verificaram que a pastagem estava descontaminada após 103 dias de descanso. Porém os autores verificaram queda no ganho de peso e no peso da lã, provavelmente devido à queda na qualidade da pastagem.

No entanto, esse longo período de descanso pode ser utilizado com culturas agrícolas. O sistema silvipastoril, vem sendo mencionado como um sistema alternativo de controle aos parasitas gastrintestinais, devido ao aumento da fauna no ambiente, que pode incluir predadores diretos e competidores por substrato (SOCA et al., 2002; AUAD; CARVALHO, 2011). Contrariando essa hipótese, Faria et al. (2016) recuperaram uma maior quantidade de L3 no sistema silvipastoril que no sistema convencional, com monocultura de capim.

Esse sistema promove benefícios aos animais, como conforto térmico, devido à baixa incidência de radiação solar, temperaturas mais amenas e maior umidade (GARCIA et al., 2001). Porém, essas condições ambientais também são ideais para o desenvolvimento dos nematódeos gastrintestinais (MOLENTO et al., 2016).

Por outro lado, no Rio Grande do Sul, Echevarria et al. (1993) verificaram que após a utilização da área para implantação de uma cultura de soja, a mesma estava descontaminada por nematódeos gastrintestinais, concluído que a alternância entre culturas agrícolas e a pecuária pode ser um método de controle eficaz.

O tempo que a área é utilizada para a cultura agrícola, e a quantidade de vezes em que o solo é revolvido, pode ser suficiente para a descontaminação pelos nematódeos gastrintestinais. Com isso, o sistema de Integração Lavoura-Pecuária (ILP), por exemplo, também pode ser um método de controle eficaz.

Segundo Moraes et al. (2014), os sistemas ILPs envolvem interações temporais e espaciais em diferentes escalas com exploração de animais e culturas dentro da mesma área, simultaneamente ou de forma descontínua e em rotação ou sucessão. O sistema destaca-se por apresentar um sinergismo entre a produção de culturas anuais e a produção de forragem para exploração da pecuária de corte ou de leite a pasto, além de apresentar vantagens agronômicas, sociais e ambientais (NASCIMENTO; CARVALHO, 2011).

Dentre as vantagens do sistema ILP, destacam-se maior renda por área, maior diversificação de atividades, menor risco econômico e menor custo de produção. Além disso, pode proporcionar maior biodiversidade e melhoria da qualidade do solo (BALBINOT JUNIOR et al., 2009).

Moraes et al. (2014) afirmam que na região subtropical do Brasil, o principal sistema de integração é a rotação ou sucessão de culturas de verão (*Glycine max*, *Zea mays*, *Phaseolus vulgaris* ou *Oryza sativa*) com pastagens anuais de inverno

(mistos ou apenas *Avena strigosa* e *Lolium Multiflorum*) ou sucessivas pastagens naturais.

Com o aumento da resistência anti-helmíntica, dificulta-se cada vez mais o controle dos nematódeos gastrintestinais, sendo necessária a busca por métodos alternativos eficazes. Um manejo eficaz dos animais, com controle ambiental e nutricional, pode contribuir para uma diminuição da carga parasitária e consequente aumento na produção. Apesar dos benefícios do sistema ILP, faz-se necessárias mais pesquisas para validá-lo como um método de controle da verminose ovina.

Com isso, o objetivo do presente estudo foi verificar se após um período de descanso de 300 dias o pasto estaria descontaminado por nematódeos gastrintestinais de ovinos. Também comparou-se dois métodos de amostragem de pasto para a quantificação e identificação das L3, a fim de verificar qual delas é menos laboriosa e/ou mais fidedigna aos resultados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBUQUERQUE, F. H. M. A. R.; OLIVEIRA, L. S. **Produção de ovinos de corte: terminação de cordeiros no semiárido**. Brasília, DF: Embrapa Caprinos e Ovinos, 2015. 58 p. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/126809/1/CNPC-2015-Producao.pdf>>. Acesso em: 15 maio 2017.

ALMEIDA, F. A. **Caracterização da resistência a anti-helmíntico de isolados de *Haemonchus contortus* e *Trichostrongylus colubriformis* oriundo de ovinos**. 2009. 43 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Geral e Aplicada) - Instituto de Biociências de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, 2009.

ALMEIDA, F. A. **Qualidade da carne *in natura* e processada de cordeiros alimentados com grãos de girassol e vitamina E**. 2013. 59 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2013.

ALMEIDA, F. A.; GARCIA, K. C. O. D.; TORGERSON, P. R.; AMARANTE, A. F. T. Multiple resistance to anthelmintics by *Haemonchus contortus* and *Trichostrongylus colubriformis* in sheep in Brazil. **Parasitology International**, v. 59, n. 4, p. 622-625, 2010.

ALMEIDA, L. R.; CASTRO, A. A.; SILVA, F. S. M.; FONSECA, A. H. Desenvolvimento, sobrevivência e distribuição de larvas infectantes de nematoides gastrintestinais de ruminantes, na estação seca da baixada fluminense, RJ. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 14, n. 3, p. 89-94, 2005.

AMARANTE, A. F. T. Controle de endoparasitoses dos ovinos. In: SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 38., 2001, Piracicaba. **Anais...** São Paulo: FEALQ, 2001. p. 461-473.

- AMARANTE, A. F. T. Nematoides gastrintestinais em ovinos. In: CAVALCANTE, A. C. R.; VIEIRA, L. S.; CHAGAS, A. C. S.; MOLENTO, M. B. (Ed.). **Doenças parasitárias de caprinos e ovinos: epidemiologia e controle**. Brasília, DF: Embrapa, 2009, p. 17-62.
- AMARANTE, A. F. T. **Os parasitas de ovinos**. São Paulo: Editora UNESP, 2014. 264 p.
- AMARANTE, A. F. T.; BARBOSA, M. A. Seasonal variations in populations of infective larvae on pasture and nematode faecal egg output in sheep. **Veterinária e Zootecnia**, v. 7, n. 1, p. 127-133, 1995.
- AMARANTE, A. F. T.; BRICARELLO, P. A.; ROCHA, R. A.; GENNARIC, S. M. Resistance of Santa Ines, Suffolk and Ile de France lambs to naturally acquired gastrointestinal nematode infections. **Veterinary Parasitology**, v. 120, n. 1, p. 91-106, 2004.
- AMARANTE, A. F. T.; PADOVANI, C. R.; BARBOSA, M. A. Contaminação da pastagem por larvas infectantes de nematodeos gastrintestinais parasitas de bovinos e ovinos em Botucatu - SP. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 5, n. 2, p. 65-73, 1996.
- AMARANTE, A. F. T.; SALES, R. O. Controle de endoparasitoses dos ovinos: uma revisão. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v. 1, n. 2, p.14-36, 2007.
- AMARANTE, A. F. T. Sustainable worm control practices in South America. **Small Ruminant Research**, v. 118, p. 56-62, 2014.
- AUAD, A. M.; CARVALHO, C. A.; Análise faunística de coleópteros em sistema silvipastoril. **Ciência Florestal**, v. 21, p. 31-39, 2011.
- BALBINOT JUNIOR, A. B.; MORAES, A.; VEIGA, M.; PELISSARI, A.; DIECKOW, J. Integração lavoura-pecuária: intensificação de uso de áreas agrícolas. **Ciência Rural**, v. 39, p. 1925-1933, 2009.
- BANKS, D. J. D.; SINGH, R.; BARGER, I. A.; PRATAP, B.; LE JAMBRE, L. F. Development and survival of infective larvae of *Haemonchus contortus* on pasture in a tropical environment. **International Journal for Parasitology**, v. 20, n. 2, p. 155-160, 1990.
- BASSETTO, C. C.; SILVA, B. F.; FERNANDES, S.; AMARANTE, A. F. T. Contaminação da pastagem com larvas infectantes de nematoides gastrintestinais após o pastejo de ovelhas resistentes ou susceptíveis à verminose. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 18, n. 4, p. 63-68, 2009.
- BASSETTO, C. C.; PICHARILLO, M. É.; NEWLANDS, G. F. J.; SMITH, W. D.; FERNANDES, S.; SIQUEIRA, E. R.; AMARANTE, A. F. T. Attempts to vaccinate ewes and their lambs against natural infection with *Haemonchus contortus* in a tropical environment. **International Journal for Parasitology**, v. 44, p. 1049-1054, 2014.
- BRICARELLO, P. A.; AMARANTE, A. F. T.; ROCHA, R. A.; CABRAL FILHO, S. L.; HUNTLEY, J. F.; HOUDIJK, J. G.; ABDALLA, A. L.; GENNARI, S. M. Influence of dietary protein supply on resistance to experimental infections with *Haemonchus*

contortus in Ile de France and Santa Ines lambs. **Veterinary Parasitology**, v. 134, n. 1/2, p. 99-109, 2005.

BURIN, P. C. Aspectos gerais sob a produção de carcaças ovinas. **Revista Electrónica de Veterinaria**, v. 17, n. 10, p. 1-19, 2016.

BURKE, J. M.; MILLER, J. E.; TERRILL, T. H. Impact of rotational grazing on management of gastrointestinal nematodes in weaned lambs. **Veterinary Parasitology**, v. 163, p. 67-72, 2009.

CÂNDIDO, M. J. D.; GOMIDE, C. A. M.; ALEXANDRINO, E.; GOMIDE, J. A.; PEREIRA, W. E. Morfofisiologia do sward de *Panicum maximum* cv. Mombaça sob lotação intermitente com três períodos de descanso. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 34, n. 2, p. 338-347, 2005.

CARDIA, D. F. F.; ROCHA-OLIVEIRA, R. A.; TSUNEMI, M. H.; AMARANTE, A. F. T. Immune response and performance of growing Santa Ines lambs to artificial *Trichostrongylus colubriformis* infections. **Veterinary Parasitology**, v. 182, p. 248-258, 2011.

CARNEIRO, R. D.; AMARANTE, A. F. T. Seasonal effect of three pasture plants species on the free-living stages of *Haemonchus contortus*. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 60, n. 4, p. 864-872, 2008.

CASTRO, A. A.; ALMEIDA, L. R.; SILVA, F. J. M.; JUNIOR, D. S. G.; OLIVEIRA, C. J. F.; ORNELAS, E. I.; FONSECA, A. H. Comparação entre as técnicas de Baermann modificada e Donald utilizadas para recuperar larvas infectantes de nematóides gastrintestinais de ruminantes da pastagem. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 12, n. 2, p. 88-91, 2003.

CHAGAS, A. C. S.; VERÍSSIMO, C. J. **Principais enfermidades e manejo sanitário de ovinos**. São Carlos: Embrapa Pecuária Sudeste, 2008.

COLVIN, A. F.; WALKDEN-BROWN, S. W.; KNOX, M. R.; SCOTT, J. M. Intensive rotational grazing assists control of gastrointestinal nematodosis of sheep in a cool temperate environment with summer-dominant rainfall. **Veterinary Parasitology**, v. 153, p. 108-120, 2008.

COSTA, P. T.; COSTA, R. T.; MENDONÇA, G.; VAZ, R. Z. Eficácia anti-helmíntica comparativa do nitroxinil, levamisol, closantel, moxidectina e fenbendazole no controle parasitário em ovinos. **Boletim de Indústria Animal**, v. 74, n.1, p. 72-78, 2017.

DASH, K. M. The life cycle of *Oesophagostomum columbianum* (Curtice, 1890) in sheep. **International Journal for Parasitology**, v. 3, p. 843-851, 1973.

DERESZ, F. Influência do período de descanso da pastagem de capim-elefante na produção de leite de vacas mestiças Holandês x Zebu. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, n. 2, p. 461-469, 2001.

DIAS, A. S.; ARAUJO, J. V.; CAMPOS, A. K.; BRAGA, F. R.; FONSECA, T. A. Relação entre larvas recuperadas da pastagem e contagem de ovos por gramas de fezes (OPG) de nematóides gastrintestinais de bovinos na microrregião de Viçosa, Minas Gerais. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 16, n. 1, p. 33-36, 2007.

DINNIK, J. A.; DINNIK, N. N. Observations on the longevity of *Haemonchus contortus* larvae on pasture herbage in the Kenya Highlands. **Bulletin of Epizootic Diseases of Africa**, v. 9, n. 3, p. 193-208, 1961.

DOMINGUES, L. F.; GIGLIOTI, R.; FEITOSA, K. A.; FANTATTO, R. R.; RABELO, M. D.; OLIVEIRA, M. C. S.; BECHARA, G. H.; OLIVEIRA, G. P.; BARIONI JUNIOR, W.; CHAGAS, A. C. S. *In vitro* and *in vivo* evaluation of the activity of pineapple (*Ananas comosus*) on *Haemonchus contortus* in Santa Inês sheep. **Veterinary Parasitology**, v. 197, p. 263-270, 2013.

DRUDGE, J. H.; SZANTO, J.; WYANT, Z. N.; ELAM, G. Field studies on parasite control in sheep: Comparison of thiabendazole, ruelene, and phenothiazine. **American Journal of Veterinary Research**, v. 25, n. 108, p. 1512-1518, 1964.

ECHEVARRIA, F. A. M.; ARMOUR, J.; DUNCAN, J. L.; PINHEIRO, A. C. Use of reseeded pastures as an aid in the control of gastrointestinal nematodes. **Veterinary Parasitology**, v. 50, p. 151-155, 1993.

ESTEVEZ, G. I. F. **Influência da idade, prenhez e grupos genéticos sobre as características de carcaça e no perfil de ácidos graxos na carne de ovelhas**. 2014. 105 f. Tese (Doutorado em Ciências Animais) - Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, Brasília, DF, 2014.

FALBO, M. K.; SOCCOL, V. T.; SANDINI, I. E.; NOVAKOWISKI, J. H.; SOCCOL, C. R. Effect of spraying *Arthrobotrys conoides* conidia on pastures to control nematode infection in sheep. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 36, n. 1, p. 239-252, 2015.

FARIA, E. F.; LOPES, L. B.; KRAMBECK, D. R.; PINA, D. S.; CAMPOS, A. K. Effect of the integrated livestock–forest system on recovery of trichostrongylid nematode infective larvae from sheep. **Agroforestry Systems**, v. 90, n. 2, p. 305-311, 2016.

FERNANDES, L. H.; SENO, M. C. Z.; AMARANTE, A. F. T.; SOUZA, H., BELLUZZO, C. E. C. Efeito do pastejo rotacionado e alternado com bovinos adultos no controle da verminose em ovelhas. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 56, p. 733–740, 2004.

FERNANDES, M. A. M.; GILAVERTTE, S.; BUZATTI, A.; SPRENGER, L. K.; SILVA, C. J. A.; PERES, M. T. P.; MOLENTO, M. B.; MONTEIRO, A. L. G. Método famacha© para detectar anemia clínica causada por *Haemonchus contortus* em cordeiros lactentes e ovelhas em lactação. **Archives of Veterinary Science**, v. 20, n. 3, p. 80-88, 2015.

FORTES, F. S.; MOLENTO, M. B. Resistência anti-helmíntica em nematoides gastrintestinais de pequenos ruminantes: avanços e limitações para seu diagnóstico. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 33, n. 12, p. 1391-1402, 2013.

GARCIA, R.; ANDRADE, C. M. S. Sistemas silvipastoris na Região Sudeste. In: GARCIA, R.; ANDRADE, C. M. S. **Sistemas Agroflorestais Pecuários: opções de sustentabilidade para áreas tropicais e subtropicais**. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2001. P. 173–187.

GAZDA, T. L.; PIAZZETTA, R. G.; DITTRICH, J. R.; MONTEIRO, A. L. G.; SOCCOL, V. T. Distribuição de larvas de nematódeos gastrintestinais de ovinos em pastagens de inverno. **Ciência Animal Brasileira**, v. 13, n. 1, p. 85-92, 2012.

GETTINBY, G.; MCKELLAR, Q. A.; BAIRDEN, K.; THEODORIDIS, Y.; WHITELAW, A. Comparison of two techniques used for the recovery of nematode infective larvae from pasture. **Research in Veterinary Science**, v. 39, n. 1, p. 99-102, 1985.

GIBSON, T. E. Studies on *Trichostrongylus axei*. IV. Factors in the causation of pathogenic effects by *T. axei*. **Journal of Comparative Pathology**, v. 65, p. 317-324, 1955.

GRAMINHA, É. B. N.; MONTEIRO, A. C.; SILVA, H. C.; OLIVEIRA, G. P.; COSTA, A. J. Controle de nematóides parasitos gastrintestinais por *Arthrobotrys musiformis* em ovinos naturalmente infestados mantidos em pastagens. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 40, n. 9, p. 927-933, 2005.

HECKLER, R. P.; BORGES, F. A. Climate variations and the environmental population of gastrointestinal nematodes of ruminants. **Nematoda**, v. 3, p. 1-11, 2016.

HOLMES, P. H. Pathogenesis of trichostrongylosis. **Veterinary Parasitology**, v. 18, p. 89-101, 1985.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. **Produção da Pecuária Municipal**, Rio de Janeiro, v. 43, 2015. Disponível em: <http://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/84/ppm_2015_v43_br.pdf>. Acesso em: 15 maio 2017.

ISSAKOWICZ, J. **Avaliação de raças maternas em cruzamento com carneiros Dorper na produção de cordeiros para abate precoce**. 2015. 90 p. Tese (Doutorado em Energia Nuclear na Agricultura e no Ambiente)-Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2015.

KHAN, F. A.; SAHOO, A.; SONAWANE, G. G.; KARIM, S. A.; DHAKAD, S.; PAREEK, A. K.; TRIPATHI, B. N. Effect of Dietary protein on responses of lambs to repeated *Haemonchus contortus* infection. **Livestock Science**, v. 150, p. 143-151, 2012.

KRECEK, R. C.; MAINGI, N. Comparison of two techniques used for the recovery of third-stage strongylid nematode larvae from herbage. **Veterinary Parasitology**, v. 122, n. 3, p. 233-244, 2004.

LEVINE, N. D.; ANDERSEN, F. L. Development and survival of *Trichostrongylus colubriformis* on pasture. **Journal of Parasitology**, v. 59, n. 1, p. 147-165, 1973.

LEVINE, N. D.; TODD JUNIOR, K. S. Micrometeorological factors involved in development and survival of free-living stages of the sheep nematodes *Haemonchus contortus* and *Trichostrongylus colubriformis*. **International Journal of Biometeorology**, v. 19, n. 3, p. 174-183, 1975.

LOUVANDINI, H.; VELOSO, C. F. M.; PALUDO, G. R.; DELL'PORTO, A.; GENNARI, S. M.; MCMANUS, C. M. Influence of protein supplementation on the resistance and resilience on young hair sheep naturally infected with gastrointestinal nematodes during rainy and dry seasons. **Veterinary Parasitology**, v. 137, n. 1, p. 103-111, 2006.

MARTIN, R. R.; BEVERIDGE, I.; PULLMAN, A. L.; BROWN, T. H. A modified technique for the estimation of the number of infective nematode larvae present on pasture, and its application in the field under South Australian conditions. **Veterinary Parasitology**, v. 37, n. 2, p. 133-143, 1990.

MELO, H. J. H.; BIANCHIN, I. Estudos epidemiológicos de infecções por nematódeos gastrintestinais de bovinos de corte em zona de cerrado de Mato Grosso. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 12, n. 1, p. 205-216, 1977.

MELO, V. F. P.; PINHEIRO, R. S. B.; HOMEM JUNIOR, A. C.; AMÉRICO, J. H. P.; SANTOS, V. C.; ROSESTOLATO, L. L. R. Manejo de anti-helmínticos no controle de infecções gastrintestinais em cabras. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 16, p. 916-924, 2015.

MEXIA, A. A.; MACEDO, F. A. F.; OLIVEIRA, C. A. L.; ZUNDT, M.; YAMAMOTO, S. M.; SANTELLO, G. A.; CARNEIRO, R. C.; SASA, A. Susceptibilidade a nematóides em ovelhas Santa Inês, Bergamácia e Texel no Noroeste do Paraná. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 32, p. 1921-1928, 2011.

MOLENTO, M. B.; BUZATTI, A.; SPRENGER, L. K. Pasture larval count as a supporting method for parasite epidemiology, population dynamic and control in ruminants. **Livestock Science**, v. 192, p. 48-54, 2016.

MORAES, A.; CARVALHO, P. C. F.; ANGHINONI, I.; LUSTOSA, S. B. C.; ANDRADE, S. E. V. G.; KUNRATH, T. R. Integrated crop–livestock systems in the Brazilian subtropics. **European Journal of Agronomy**, v. 57, p. 4-9, 2014.

MOREIRA, L. M.; FONSECA, D. M.; MARTUSCELLO, J. A.; MORAIS, R. V.; MISTURA, C.; SANTOS, M. E. R. Produção animal em pastagem de capim-braquiária adubada com nitrogênio. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 63, n. 4, p. 914-921, 2011.

MORGAN, E. R.; VAN DIJK, J. Climate and the epidemiology of gastrointestinal nematode infections of sheep in Europe. **Veterinary Parasitology**, v. 189, p. 8-14, 2012.

NARI, A.; FIEL, C. (Ed.). **Enfermedades parasitarias de importancia economica en bovinos**: bases epidemiológicas para su prevencion y control. Montevideo: Hemisferio Sur, 1993. 420 p.

NASCIMENTO, R. S.; CARVALHO, N. L. Integração Lavoura-Pecuária. **Monografias Ambientais**, v. 4, n. 4, p. 828-847, 2011.

O'CONNOR, L. J.; WALKDEN-BROWN, S. W.; KHAN, L. P. Ecology of the free-living stages of major trichostrongylid parasites of sheep. **Veterinary Parasitology**, v. 142, p. 1-15, 2006.

OLIVEIRA-SEQUEIRA, T. C. G.; AMARANTE, A. F. T. **Parasitologia animal**: animais de produção. Rio de Janeiro: EPUB, 2001. 148 p.

PRICHARD, R. K. Genetic variability following selection of *Haemonchus contortus* with anthelmintics. **Trends in parasitology**, v. 17, n. 9, p. 445-453, 2001.

ROCHA, R. A. **Sobrevivência e migração vertical de larvas infectantes de *Trichostrongylus colubriformis* em gramíneas nas diferentes estações do ano.** 2006. 110 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, São Paulo, 2006.

ROCHA, R. A.; BRESCIANI, K. D. S.; BARROS, T. F. M.; FERNANDES, L. H.; SILVA, M. B.; AMARANTE, A. F. T. Sheep and cattle alternately: Nematode parasitism and pasture decontamination. **Small Ruminant Research**, v. 75, n. 2, p. 135-143, 2008.

ROCHA, R. A.; BRICARELLO, P. A.; ROCHA, G. P.; AMARANTE, A. F. T. Recuperação de larvas de *Trichostrongylus colubriformis* em diferentes estratos de *Brachiaria decumbens* e *Panicum maximum*. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 16, n. 2, p. 77-82, 2007.

ROCHA, R. A.; BRICARELLO, P. A.; ROCHA, G. P.; AMARANTE, A. F. T. Retrieval of *Trichostrongylus colubriformis* infective larvae from grass contaminated in winter and in spring. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 23, n. 4, p. 463-472, 2014.

ROCHA, R. A.; BRICARELLO, P. A.; ROCHA, G. P.; AMARANTE, A. F. T. Recovery of *Trichostrongylus colubriformis* infective larvae from three grass species contaminated in the autumn. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 21, n. 4, p. 372-378, 2012.

ROMERO, J. R.; BOERO, C. A. Epidemiología de la gastroenteritis verminosa de los ovinos en las regiones templadas y cálidas de la Argentina. **Analecta Veterinaria**, v. 21, p. 21-37, 2001.

SANTOS, M. C.; XAVIER, J. K.; AMARANTE, M. R.; BASSETTO, C. C.; AMARANTE, A. F. Immune response to *Haemonchus contortus* and *Haemonchus placei* in sheep and its role on parasite specificity. **Veterinary Parasitology**, v. 203, n. 1, p. 127-138, 2014.

SANTOS, M. C.; SILVA, B. F.; AMARANTE, A. F. T. Environmental factors influencing the transmission of *Haemonchus contortus*. **Veterinary Parasitology**, v. 188, n. 3, p. 277-284, 2012.

SILVA, B. F.; AMARANTE, M. R. V.; KADRI, S. M.; CARRIJO-MAUAD, J. R.; AMARANTE, A. F. T. D. Vertical migration of *Haemonchus contortus* third stage larvae on *Brachiaria decumbens* grass. **Veterinary Parasitology**, v. 158, n. 1, p. 85-92, 2008.

SISSAY, M. M.; ASEFA, A.; UGGLA, A.; WALLER, P. J. Anthelmintic resistance of nematode parasites of small ruminants in eastern Ethiopia: Exploitation of refugia to restore anthelmintic efficacy. **Veterinary Parasitology**, v. 135, n. 3, p. 337-346, 2006.

SOCA, M.; SIMÓN, L.; SÁNCHEZ, S.; GÓMEZ, E. Dinámica parasitológica em bostas de bovinos bajo condiciones silvopastoriles. **Agroforesteria em Iãs Américas**, v. 9, p. 33-34, 2002.

SOUZA, P.; BELLATO, A. A.; SARTOR, C. I.; RAMOS, C. I. Período para desinfestação das pastagens por larvas de nematoides gastrintestinais de ovinos, em

condições naturais nos campos de Lages, SC. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 9, n. 2, p. 159-164, 2000.

TAYLOR, E. L. Technique for the estimation of pasture infestation by strongyloid larvae. **Parasitology**, v. 31, n. 4, p. 473-478, 1939.

TETLEY, J. H. The seasonal availability to sheep of infective nematode larvae on pasture. **Journal of Helminthology**, v. 33, n. 4, p. 281-288, 1959.

TORRES, S. E. F. A.; MCMANUS, C.; AMARANTE, A. F. T.; VERDOLIN, V.; LOUVANDINI. Nematódeos de ruminantes em pastagem com diferentes sistemas de pastejo com ovinos e bovinos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 44, n. 9, p. 1191-1197, 2009.

UENO, H.; GONÇALVES, P. C. **Manual para diagnóstico das helmintoses de ruminantes**. 4. ed. Tóquio: Japan International Cooperation Agency, 1998. 145 p.

VAN DIJK, J.; LOUW, M. D. E.; KALIS, L. P. A.; MORGAN, E. R. Ultraviolet light increases mortality of nematode larvae and can explain patterns of larval availability at pasture. **International Journal for Parasitology**, v. 39, n. 10, p. 1151-1156, 2009.

VAN ZYL, E. A.; BOTHA, F. S.; ELOFF, K. J. N.; MSUNTSHA, P. P.; OOSTHUIZEN, P. A.; STEVENS, C. The use of *Lespedeza cuneata* for natural control of gastrointestinal nematodes in Merino sheep. **Onderstepoort Journal of Veterinary Research**, v. 84, n. 1, p. 1-7, 2017.

VERSCHAVE, S. H.; LEVECKE, B.; DUCHATEAU, L.; VERCRUYSSSE, J.; CHARLIER, J. Measuring larval nematode contamination on cattle pastures: Comparing two herbage sampling methods. **Veterinary Parasitology**, v. 210, n. 3, p. 159-166, 2015.

VIEIRA, L. S. Controle de endoparasitoses dos ovinos. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE CAPRINOS E OVINOS DE CORTE; FEIRA NACIONAL DO AGRONEGÓCIO DA CAPRINO-OVINOCULTURA DE CORTE, 2007, João Pessoa. **Anais...** João Pessoa: EMEPA-PB, 2007. 1 CD-ROM.

WANG, T.; VAN WYK, J. A.; MORRISON, A.; MORGAN, E. R. Moisture requirements for the migration of *Haemonchus contortus* third stage larvae out of faeces. **Veterinary Parasitology**, v. 204, n. 3, p. 258-264, 2014.

CAPÍTULO II

Sistema de Integração Lavoura-pecuária como método de controle da contaminação da pastagem por nematódeos gastrintestinais de ovinos

O artigo a seguir está redigido de acordo com as exigências para publicação no periódico *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, excetuando-se o idioma.

RESUMO

O longo período de descanso necessário para que haja descontaminação da pastagem por nematódeos gastrintestinais de ovinos pode ser utilizado com culturas agrícolas. O objetivo foi verificar se após a implantação do sistema de Integração Lavoura-Pecuária (ILP) com um período de 300 dias sem a presença de animais, o pasto estaria livre de contaminação por larvas infectantes (L3) de nematódeos gastrintestinais de ovinos. A área foi utilizada para produção de silagem mista de milho (*Zea mays*), capim-marandu (*Urochloa brizantha* cv. Marandu) e feijão guandu (*Cajanus cajan*), e sobressemeadura de aveia-preta (*Avena strigosa*) para pastejo com ovinos. Essa área foi dividida em quatro tratamentos: (ILP 1) milho + capim-marandu + feijão guandu + aveia na linha; (ILP 2) milho + capim-marandu + feijão guandu + aveia a lanço; (ILP 3) milho + capim-marandu + aveia na linha; (ILP 4) milho + capim-marandu + aveia a lanço. A fim de verificar a descontaminação da pastagem, foram utilizados 12 cordeiros traçadores (3/tratamento), machos não castrados, cruzados Dorper x Santa Inês com 60 dias de idade, 25 kg de peso corporal e livres de infecção por Trichostrongylídeos e *Strongyloides*. Os animais pastejaram a área por 14 dias das 6h às 16h e, após esse período, ficaram mais 14 dias em baias coletivas, sendo abatidos para recuperação e identificação dos parasitas presentes no abomaso e intestinos delgado e grosso. Análises de ovos por grama de fezes (OPG) e coprocultura foram feitas nos dias 0, 7 e 14 pós-pastejo. Não foram detectados ovos (OPG = zero) em nenhuma das coletas de fezes, bem como não foram encontradas larvas nas coproculturas. Depois do abate, não foram encontrados vermes adultos no conteúdo do abomaso, intestino delgado e grosso desses animais. Conclui-se que o período de 300 dias sem a presença de animais foi suficiente para descontaminar a pastagem por larvas infectantes de nematódeos gastrintestinais de ovinos.

Palavras-chave: cordeiros traçadores, controle, nematódeos gastrintestinais

ABSTRACT

The rest period necessary for the decontamination of pasture by gastrointestinal nematodes of sheep can be used with agricultural crops. The objective of this study was to determine if after the implantation of the crop-livestock integration system (ICL) with a period of 300 days without animals, the pasture would be free of contamination by infective larvae (L3) of gastrointestinal nematodes of sheep. The area was used for the production of a mixed silage—maize (*Zea mays*), marandu palisade grass (*Urochloa brizantha* cv. *Marandu*) and pigeon pea (*Cajanus cajan*), and overseeding of black oats (*Avena strigosa*), with the grazing of sheep. This area was divided into four treatment subplots: ICL 1 (maize + marandu palisade grass + pigeon pea + black oats, sown in rows); ICL 2 (maize + marandu palisade grass + pigeon pea + black oats, sown by broadcasting); ICL 3 (maize + marandu palisade grass + black oats, sown in rows); and ICL 4 (maize + marandu palisade grass + black oats, sown by broadcasting). In order to verify the decontamination of the pasture, were used twelve tracer lambs (3 / treatment), male not castrated, Dorper x Santa Inês crossbred with 60 days of age, 25 kg of weight and worm free by *Trichostrongylideos* and *Strongyloides* infections. The animals grazed the area for 14 days from 6 a.m. to 4 p.m., and after that period they stayed another 14 days in collective pens, being slaughtered for recovery and identification of the parasites present in the abomasum and small and large intestines. Analysis of eggs per gram of faeces (EPG) and composite faecal cultures were done on days 0, 7 and 14 post-grazing. No eggs (EPG = zero) were detected in any of the faeces collections, nor were any larvae found in the composite faecal cultures. After slaughter, no adult worms were found in the abomasum, small and large intestine contents. It is concluded that the period of 300 days without animal presence was sufficient to descontaminate the pasture by infective larvae of gastrointestinal nematodes of sheep.

Key words: tracer lambs, control, gastrointestinal nematodes

1. Introdução

A intensificação do sistema e da utilização de monocultura de forragem como fonte de alimento ao ruminante fez com que as populações de parasitas gastrintestinais aumentassem em um nível tal que a produção, em grande escala, tornou-se dependente do uso de anti-helmínticos (Van Zyl et al., 2017). Porém, falhas na aplicação desses fármacos, como uso contínuo, utilização incorreta e indiscriminada fez com que fossem selecionados parasitas resistentes a diversos grupos químicos utilizados no tratamento dos animais (Herrera-Manzanilla et al., 2017). Com o aumento da resistência anti-helmíntica, dificulta-se cada vez mais o controle dos nematódeos gastrintestinais, sendo necessária a busca por métodos alternativos e eficazes.

O controle da contaminação do ambiente com o intuito de diminuir o número de larvas infectantes (L3) na pastagem pode ser um método de controle eficaz. Existem algumas formas de controlar a contaminação da pastagem, dentre elas a seleção de animais resistentes. Neste, a deposição de ovos junto às fezes diminuem e, conseqüentemente, diminui a infecção dos animais (Bassetto et al., 2009). Outro método é o pastejo integrado entre bovinos e ovinos, já que a maioria dos parasitas são espécie específicos (Rocha et al., 2008).

Por muito tempo acreditou-se que a rotação de pastagem seria ideal para a descontaminação, já que a área fica sem animais por um determinado período. Porém, o período normalmente utilizado para esse descanso, em torno de 35 dias, não é suficiente para descontaminar a pastagem (Fernandes et al., 2004). O período de descanso da pastagem influencia no rendimento da forrageira, bem como em seu valor nutricional (Deresz, 2001). Portanto, devido ao baixo valor nutricional resultante de longos períodos de descanso, há comprometimento do desempenho do animal (Cândido et al., 2005).

Assim, para se ter um longo período de descanso, auxiliando na descontaminação da pastagem, sem prejudicar a produtividade, pode ser utilizada a alternância de culturas agrícolas com a forragem para pastejo do animal. É o que acontece no sistema de Integração Lavoura-Pecuária (ILP).

Com isso, o objetivo do presente estudo foi verificar se após um período de descanso de 300 dias em um sistema de ILP, com produção de silagem mista de milho, capim-marandu e feijão guandu, e sobressemeadura de aveia preta para pastejo com ovinos, o pasto estaria livre de contaminação por larvas infectantes de nematódeos gastrintestinais.

2. Material e métodos

2.1. Área experimental

O experimento foi realizado na Fazenda Experimental Lageado, pertencente à Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ/UNESP) situada no município de Botucatu-SP (22°51'01"S e 48°25'28"W, com altitude de 777 metros), durante o ano agrícola de 2014/2015.

De acordo com o sistema de classificação de Köppen, o clima predominante da região é o tipo Cwa (subtropical úmido), caracterizado por verões quentes, chuvosos e invernos secos (Alvares et al., 2013). A precipitação média mensal acumulada é mais alta (260,7 mm) em janeiro e menor (38,2 mm) em agosto. Fevereiro é o mês mais quente e julho é o mais frio. A temperatura média mensal varia de 23,2 ° C a 17,1 ° C (Escobedo et al., 2011).

A área experimental foi utilizada pelo segundo ano agrícola consecutivo (2013/2014, 2014/2015), para a implantação de um sistema de ILP com a produção de silagem mista de milho (*Zea mays*), capim-marandu (*Urochloa brizantha* cv. Marandu) e feijão guandu (*Cajanus cajan*) e sobressemeadura de aveia-preta (*Avena strigosa*) com o pastejo de ovinos. Essa área foi dividida em quatro tratamentos: (ILP 1) milho + capim-marandu + feijão guandu + aveia na linha; (ILP 2) milho + capim-marandu + feijão guandu + aveia a lanço; (ILP 3) milho + capim-marandu + aveia na linha; (ILP 4) milho + capim-marandu + aveia a lanço.

Após a semeadura do milho com capim-marandu e/ou feijão guandu, em dezembro de 2014, fez-se a colheita mecânica para ensilagem em abril de 2015. Posteriormente, no mesmo mês, a aveia-preta foi sobressemeada em duas subparcelas: em linha (semeadora-adubadora) e a lanço (manualmente).

2.2. Manejo dos animais

De julho a setembro de 2014, a pastagem foi ocupada por cordeiros naturalmente infectados por nematódeos gastrintestinais. Em dezembro do mesmo ano foi semeado milho em consórcio com o capim-marandu e/ou feijão guandu, e no final de abril de 2015 foi semeado aveia-preta, para pastejo dos cordeiros em julho, deixando a área sem ocupação por animal por 300 dias. A fim de verificar se esse período foi suficiente para que ocorresse a descontaminação da pastagem, foram utilizados 12 cordeiros traçadores (3/tratamento) livres de infecção helmíntica, machos

não castrados, cruzados Dorper x Santa Inês com 60 dias de idade e 25 kg de peso corporal.

Estes animais foram tratados com monepantel (2,5 mg/ kg de peso vivo (PV), Zolvix® Novartis Animal Health) para eliminar a infecção por *Trichostrongylidae*s, e com albendazol (15 mg/ kg de PV, Valbazen®, Pfizer) por 10 dias consecutivos para eliminar a infecção por *Strongyloides*. Para que os animais não se reinfectassem, foram mantidos em baias com piso de concreto, limpas diariamente, e eram alimentados com feno de Tifton 85, adquirido de uma propriedade sem ruminantes, a fim de evitar riscos de contaminação, e concentrado com 16% de proteína bruta.

Os cordeiros traçadores pastejaram a área 14 dias antes da entrada dos animais experimentais. Os piquetes foram delimitados com cerca eletrificada de seis fios e os animais tinham livre acesso à água. Também foram disponibilizados sombrites para maior conforto térmico dos animais. A partir das 6h os cordeiros eram alocados em seus respectivos piquetes e recolhidos a partir das 16h em um galpão coberto, com cortinas laterais e piso de terra batida forrado com casca de café seca, no qual os cordeiros traçadores de cada tratamento eram alocados em uma mesma baia de 25 m² (5,0 m x 5,0 m) e suplementados com concentrado + feno. Após esse período, os cordeiros permaneceram por mais 14 dias em baias coletivas e posteriormente foram abatidos.

2.3. Análises parasitológicas

Amostras de fezes foram coletadas, diretamente do reto dos animais, nos dias 0, 7 e 14 pós-pastejo, para realização da contagem de ovos por grama de fezes (OPG) (Gordon e Whitlock, 1939, modificada) e coprocultura (Roberts e O'Sullivan, 1950).

Após o abate dos animais, foram feitas a recuperação e identificação dos parasitas presentes no abomaso e intestinos delgado e grosso. A cavidade torácica e abdominal foi aberta com cuidado para evitar a perfuração das vísceras. Para evitar que os helmintos passassem de uma víscera para outra foi colocada ligaduras duplas com o auxílio de um barbante entre as mesmas.

O abomaso e os intestinos delgado e grosso foram separados, os mesmos posteriormente foram abertos com uma tesoura ao longo da curvatura e os conteúdos de cada órgão foram colocados separadamente em baldes graduados, juntamente com a água restante da lavagem das mucosas. No material obtido foi adicionado formol a 5% para a conservação do material. Após esta etapa, o intestino delgado foi

submetido à digestão em solução fisiológica por quatro horas, em temperatura de 37°C, para a recuperação de vermes presentes na mucosa (Ueno e Gonçalves, 1998). Este material também foi acondicionado em frascos plásticos e preservado em formol (5%). A identificação dos parasitas foi realizada de acordo com as descrições de Ueno e Gonçalves (1998). Os dados foram analisados descritivamente.

3. Resultados e Discussão

Não foram detectados ovos (OPG = zero) em nenhuma das coletas de fezes, bem como não foram encontradas larvas nas coproculturas. Depois do abate, não foram encontrados vermes adultos no conteúdo do abomaso, intestino delgado e grosso desses animais. Portanto, o período de descanso de 300 dias utilizado com a cultura do milho, capim-marandu e feijão guandu foi suficiente para deixar a área livre de contaminação pelos nematódeos gastrintestinais de ovinos.

Além disso, foram feitos manejos na área como dessecação do marandu para semeadura do milho em sistema de plantio direto, bem como aração e revolvimento do solo que também podem ter contribuído com a descontaminação da área.

Echevarria et al. (1993) reportaram resultados semelhantes em um experimento com alternância de cultura de soja e aveia. Os autores introduziram a cultura de soja em novembro, em uma pastagem que estava previamente contaminada por nematódeos gastrintestinais de ovinos e bovinos. Após a colheita da soja, no final de maio do ano seguinte, foi semeada a aveia preta para pastejo de ovinos e bovinos traçadores. Com exceção de um dos bezerro, os traçadores não tinham nematódeos adultos nem imaturos em seu trato gastrintestinal. Com isso, os autores concluíram que o uso alternado da área para pastagem e culturas agrícolas pode ser um método de controle de parasitas gastrintestinais de ruminantes.

Devido ao aumento da fauna que o sistema silvipastoril proporciona, incluindo predadores diretos e competidores por substrato, acreditava-se que o mesmo poderia ser utilizado como um método de controle aos parasitas gastrintestinais (Soca et al., 2002; Auad e Carvalho, 2011). Contrariando essa hipótese, Faria et al. (2016) recuperaram uma maior quantidade de L3 no sistema silvipastoril que no sistema convencional, com monocultura de capim. O sistema silvipastoril proporciona melhorias nas condições ambientais aos animais, como conforto térmico, devido à baixa incidência de radiação solar, temperaturas mais amenas e maior umidade (Garcia et al., 2001). Essas condições também são ideais

para o desenvolvimento dos nematódeos gastrintestinais (Molento et al., 2016), o que não ocorre no ILP, já que a incidência solar afeta diretamente o capim e o solo, podendo ressecar as fezes, reservatório de ovos e larvas, e aumentar a taxa de mortalidade das L3.

Com a área descontaminada, é importante que os animais entrem para pastejo livres ou com baixa intensidade de infecção, a fim de reduzir a necessidade de tratamentos com anti-helmínticos. Para isso, pode-se combinar alternativas de controle, como oferecer dieta com qualidade nutricional e selecionar animais resistentes. Com isso, o gasto com anti-helmínticos diminui e a produtividade dos animais aumenta, tornando a produção mais rentável e sustentável.

Conclui-se que o sistema de integração lavoura-pecuária é um método alternativo eficaz no controle de nematódeos gastrintestinais de ovinos, pois o período em que a área é utilizada para outras culturas, e sem a presença de animais, é suficiente para que ocorra a descontaminação por esses parasitas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alvares CA, Stape JL, Sentelhas PC, de Moraes G, Leonardo J, Sparovek G. Köppen's climate classification map for Brazil. *Meteorol Z* 2013; 22(6):711-728.
- Auad AM, Carvalho CA. Análise faunística de coleópteros em sistema silvipastoril. *Ci FI* 2011; 21(1):31-39.
- Bassetto, C.C., Silva, B.F., Fernandes, S., Amarante, A.F.T., 2009. Contaminação da pastagem com larvas infectantes de nematoides gastrintestinais após o pastejo de ovelhas resistentes ou susceptíveis à verminose. *Rev Bras Parasitol Vet* 2009; 18(4):63-68.
- Cândido, MJD, Gomide CAM, Alexandrino E, Gomide JA, Pereira WE. Morfofisiologia do sward de *Panicum maximum* cv. Mombaça sob lotação intermitente com três períodos de descanso. *Rev Bras Zootec* 2005; 34(2):338-347.
- Deresz, F. Influência do período de descanso da pastagem de capim-elefante na produção de leite de vacas mestiças Holandês x Zebu. *Rev Bras Zootec* 2001; 30(2):461-469.
- Echevarria FAM, Armour J, Duncan JL, Pinheiro AC. Use of reseeded pastures as an aid in the control of gastrointestinal nematodes. *Vet Parasitol* 1993; 50(1):151-155.
- Escobedo, J.F., Gomes, E.N., Oliveira, A.P., Soares, J., 2011. Ratios of UV, PAR and NIR components to global solar radiation measured at Botucatu site in Brazil. *Renew Energy* 36(1), 169–178.
- Faria, E.F.; Lopes, L.B.; Krambeck, D.R.; Pina, D.S.; Campos, A.K. , 2016. Effect of

the integrated livestock–forest system on recovery of trichostrongylid nematode infective larvae from sheep. *Agrofor Syst* 90 (2), 305-311.

Fernandes, L.H.; Seno, M.C.Z.; Amarante, A.F.T.; Souza, H., Belluzzo, C.E.C., 2004. Efeito do pastejo rotacionado e alternado com bovinos adultos no controle da verminose em ovelhas. *Arq Bras Med Vet Zootec* 56(6), 733–740.

Garcia, R.; Andrade, C.M.S. , 2001. Sistemas silvipastoris na Região Sudeste. Sistemas Agroflorestais Pecuários: Opções de sustentabilidade para áreas tropicais e subtropicais. Embrapa Gado de Leite, Anais, 173–187.

Gordon, H. M; Whitlock, H. V., 1939. A new technique for counting nematode eggs in sheep faeces. *J Counc Sci Ind Res* 12(1), 50-52.

Herrera-Manzanilla, F.A., Ojeda-Robertos, N.F., González-Garduño, R., Cámara-Sarmiento, R., Torres-Acosta, J.F.J., 2017. Gastrointestinal nematode populations with multiple anthelmintic resistance in sheep farms from the hot humid tropics of Mexico. *Vet Parasitol* 9(1), 29-33.

Molento, M.B., Buzatti, A., Sprenger, L.K., 2016. Pasture larval count as a supporting method for parasite epidemiology, population dynamic and control in ruminants. *Livest Sci* 192(1), 48-54.

Roberts, F. H. S; O’Sullivan, S. P., 1950. Methods for egg counts and larval cultures for strongyles infesting the gastrointestinal tract of cattle. *Aust J Agric Res* 1(1), 99-102.

Rocha, R. A.; Bresciani, K. D. S.; Barros, T. F. M.; Fernandes, L. H.; Silva, M. B.; Amarante, A. F. T., 2008. Sheep and cattle alternately: Nematode parasitism and pasture decontamination. *Small Rumin Res* 75(2), 135-143.

Soca, M.; Simón, L.; Sánchez, S.; Gómez, E., 2002. Dinámica parasitológica em bostas de bovinos bajo condiciones silvopastoriles. *Agroforesteria em lãs Américas*, 9(33), 33-34.

Ueno H, Gonçalves PC. *Manual para diagnóstico das helmintoses de ruminantes*. Tóquio: Japan International Cooperation Agency; 1998.

Van Zyl, E. A.; Botha, F. S.; Eloff, K. J. N.; Msuntsha, P. P; Oosthuizen, P. A.; Stevens, C., 2017. The use of *Lespedeza cuneata* for natural control of gastrointestinal nematodes in Merino sheep. Onderstepoort. *J Vet Res* 84(1), 1-7.

CAPÍTULO III

Métodos de amostragem de pasto para a quantificação e identificação de nematódeos gastrintestinais

O artigo a seguir está redigido de acordo com as exigências para publicação no periódico *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, excetuando-se o idioma.

RESUMO

A fim de comparar dois métodos de coleta de pasto para quantificar larvas de terceiro estágio (L3) de nematóides gastrintestinais, 64 cordeiros ($n = 16$) foram alocados em quatro tratamentos com 12 piquetes cada. As amostras de pasto foram coletadas cada nove dias. O método W consiste em percorrer a área sob a forma de um W e novamente um W invertido, sendo as amostras de forragem coletadas a cada 10 passos, e o método Quadrado, em lançar um quadrado de $0,16 \text{ m}^2$ em quatro pontos aleatórios dentro da área, a forragem dentro do quadrado é coletada após cada lance. Após o processamento das amostras de forragem, as L3 foram recuperadas e identificadas. Os métodos de coleta não diferiram estatisticamente entre si ($P = 0,29$). A quantidade de amostra coletada foi maior no método Quadrado ($P < 0,05$). Observou-se correlação positiva entre os dois métodos de coleta, ou seja, os métodos tiveram a mesma tendência. Entretanto, como a área era pequena (225 m^2), o método W foi de mais fácil execução. Foram recuperadas L3 de *Haemonchus* spp., *Trichostrongylus* spp. e *Oesophagostomum* spp., sendo o primeiro gênero encontrado em maior quantidade.

Palavras-chave: Cordeiros; Epidemiologia; Nematódeos; Métodos de amostragem

ABSTRACT

In order to compare two methods of collecting pasture sample to quantify third stage larvae (L3) of gastrointestinal nematodes, 64 lambs ($n = 16$) were allocated to four treatments with 12 paddocks each. Pasture samples were collected every nine days. The W method consists in traversing the area in the form of a W and again an inverted W, forage samples being collected every 10 steps, and the Square method, in tossing a 0.16 m^2 square to four random points within the area, the forage within the square being collected after each toss. After the forage samples had been processed, the L3 were recovered and identified. The methods of collection did not differ statistically among themselves ($P = 0.29$). An amount of sample was higher without Square method ($P < 0.05$). A positive correlation was observed between the two methods of collection, that is, the methods have the same tendency. However, because of the small area (225 m^2), the W method was easier to execute. Were recovered L3 of *Haemonchus* spp., *Trichostrongylus* spp. and *Oesophagostomum* spp., being the first genera found in greater quantity.

Keywords: Lambs; Epidemiology; Nematoda; Methods of sampling

1. Introdução

Um dos maiores entraves na produção de pequenos ruminantes são ocasionados por nematódeos gastrintestinais, que causam prejuízos econômicos devido a mortalidade de animais e/ou redução dos índices produtivos (Burke et al., 2016). Com a resistência aos anti-helmínticos comerciais, torna-se necessária a busca por métodos de controle alternativos (Batista et al., 2016).

Entender a dinâmica populacional das larvas infectantes (L3) presentes na pastagem pode ser o ponto de partida para a criação de programas sustentáveis de controle da verminose (Heckler & Borges, 2016). O desenvolvimento, sobrevivência e migração ao longo da forrageira dos estádios de vida livre desses parasitas, dependem principalmente de fatores ambientais, como chuva, temperatura e umidade relativa do ar (Rocha et al., 2014; Molento et al., 2016).

Há várias técnicas para recuperação de L3 da pastagem, como a utilização de animais com fístula esofágica (Gettinby et al., 1985), animais traçadores (Martin et al., 1990) e amostragens diretamente da pastagem (Taylor, 1939). Como existe correlação entre o número de L3 no pasto e a carga parasitária dos hospedeiros (Martin et al., 1990), por questão ética e financeira, a utilização da amostragem diretamente da pastagem aparenta ser uma técnica eficaz e menos invasiva (Verschave et al., 2015).

Com isso, diversos pesquisadores vem seguindo metodologias que amostram a contaminação local por nematódeos gastrintestinais diretamente no pasto. Com objetivo de avaliar a atividade anti-helmíntica de um alimento taninífero em cabras e determinar o impacto potencial na contaminação de pastagens, Lopes et al. (2016) realizaram as coletas de forragem semanalmente de acordo com Taylor (1939). Os autores só encontraram L3 na pastagem no 98º dia de pastejo das cabras alimentadas com tanino, com 5,8 L3 de *Trichostrongylus* spp. por quilograma de matéria seca (L3/kg MS).

A fim de investigar a sobrevivência de L3 na pastagem, Falzon et al. (2014) coletaram amostras de pasto mensalmente durante o inverno (janeiro a abril) em Ontario, Canadá. As amostras foram coletadas traçando-se dois W na área, parando a cada 20 a 30 passos. Os autores verificaram que as larvas de *Haemonchus* spp. não sobreviveram bem na pastagem durante o período avaliado, enquanto as L3 de *Teladorsagia* spp., *Trichostrongylus* spp. e *Nematodirus* spp. sobreviveram.

Para se determinar o grau de contaminação natural de uma pastagem, Taylor (1939) propôs que a coleta de pastagem fosse feita por duas pessoas. Uma pessoa traçando um W e a outra um W invertido na área, realizando em torno de 100 paradas, sendo coletadas amostras em 4 pontos diferentes em cada uma dessas paradas. O primeiro ponto seria imediatamente em frente aos pés da pessoa que está coletando, e os outros 3 escolhidos como fosse conveniente, atrás e dos lados dos pés.

Verschave et al. (2015), na Bélgica, compararam dois métodos para quantificação da contaminação da forragem pastejada por bovinos: o modificado descrito por Taylor (1939) e o Método Quadrado. O primeiro é realizado como o descrito anteriormente. Já o segundo, um quadrado de 0,16 m² é jogado 4 vezes na área de forma aleatória, e todo o conteúdo de dentro do quadrado é coletado. Grandes discrepâncias foram vistas entre os métodos, mas sem diferença significativa. Os autores concluíram que em áreas maiores que 1 hectare, a diferença entre o tempo de duração da coleta é maior que em áreas menores, sendo o Método Quadrado o mais rápido de ser realizado.

Apesar das vantagens de se mensurar a quantidade de L3 diretamente da pastagem, há necessidade de aprimoramento dessa técnica, a fim de torná-la menos laboriosa e/ou mais fidedigna aos resultados. Com esse intuito, o objetivo da presente pesquisa foi comparar dois métodos de coleta de pasto para quantificação e identificação de larvas infectantes de nematódeos gastrintestinais de ovinos.

2. Material e Métodos

2.1. Área experimental

O experimento foi realizado na Fazenda Experimental Lageado, pertencente à Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ/UNESP) situada no município de Botucatu-SP (22°51'01"S e 48°25'28"W, com altitude de 777 metros), durante o ano agrícola 2014/2015.

De acordo com o sistema de classificação de Köppen, o clima predominante da região é o tipo Cwa (subtropical úmido), caracterizado por verões quentes, chuvosos e invernos secos (Alvares et al., 2013). A precipitação média mensal acumulada é mais alta (260.7 mm) em janeiro e menor (38.2 mm) em agosto. Fevereiro é o mês mais quente e julho é o mais frio, com temperatura média mensal, respectivamente, de 23.2 ° C a 17.1 ° C (Escobedo et al., 2011).

A área experimental foi utilizada pelo segundo ano agrícola consecutivo (2013/2014, 2014/2015), para a implantação de um sistema de Integração Lavoura-Pecuária (ILP) com a produção de silagem mista de milho (*Zea mays*), capim-marandu (*Urochloa brizantha* cv. Marandu) e feijão guandu (*Cajanus cajan*) e sobressemeadura de aveia-preta (*Avena strigosa*) em linha ou a lanço para pastejo com ovinos. Essa área foi dividida em quatro tratamentos: (ILP 1) milho + capim-marandu + feijão guandu + aveia na linha; (ILP 2) milho + capim-marandu + feijão guandu + aveia a lanço; (ILP 3) milho + capim-marandu + aveia na linha; e (ILP 4) milho + capim-marandu + aveia a lanço.

A semeadura do milho com capim-marandu e/ou feijão guandu foi realizada em dezembro de 2014, e a colheita mecânica para ensilagem em abril de 2015. Posteriormente, no mesmo mês, a aveia-preta foi sobressemeada em duas modalidades de semeadura: em linha (semeadora-adubadora) e a lanço (manualmente), seguidas de incorporações com gradagem leve. Cada modalidade de semeadura foi dividida em 12 piquetes, com 225 m² cada, para pastejo com ovinos, de julho a setembro de 2015.

2.2. Manejo dos animais experimentais

Foram utilizados 16 animais por tratamento, totalizando 64 cordeiros machos mestiços Poll Dorset x Corriedale com média de 90 dias de idade e 25 kg de peso corporal, com infecção natural por nematódeos gastrintestinais, com uma média de 6748 ovos por grama de fezes (OPG). Os cordeiros foram identificados e vacinados contra clostridioses (Sintoxan TPolivalente®, Merial SA) e distribuídos nos tratamentos de acordo com o peso corporal.

Os animais foram rotacionados em 12, com três dias de ocupação 33 dias de descanso. O período experimental teve 72 dias de duração, permitindo dois ciclos de pastejo em cada piquete por tratamento.

Os piquetes foram delimitados com cerca eletrificada de seis fios e os animais tiveram livre acesso à água. Sombrites foram disponibilizados para maior conforto térmico dos animais. Às 6:00 horas os cordeiros eram alocados em seus respectivos piquetes e recolhidos a partir das 16:00 horas para um galpão coberto onde recebiam silagem + concentrado, totalizando 10 horas de pastejo.

Este estudo foi aprovado e conduzido de acordo com o protocolo experimental aprovado pelo Comitê de Ética local (protocolo número 01/2016-CEUA).

2.3. Coleta de amostra de pastagem

A fim de comparar os dois métodos de coleta, o W e o Quadrado (Figura 1), durante o experimento foram coletadas amostras da pastagem a cada nove dias, a partir da entrada dos animais, nos piquetes 1, 6 e 11 de cada tratamento, totalizando 8 coletas por piquete. A escolha dos piquetes se deu pela distribuição dos mesmos, buscando homogeneidade na amostragem da área. O número total de coletas foi 96 (8 coletas/piquete, 3 piquetes/tratamento, 4 tratamentos).

As coletas foram realizadas sempre no período da manhã. A coleta de pastagem pelo método W seguiu as recomendações de Taylor (1939), que consiste na coleta de amostras de capim a cada dez passos, traçando a área em forma de um W e um W invertido. Neste método, a cada coleta foram amostrados, em média, 11 pontos da área. O outro método avaliado foi o do Quadrado, descrito por Verschave et al. (2015), onde lança-se um quadrado de 0,16 m² quatro vezes na área de forma aleatória, sendo coletado todo o capim de seu interior.

As amostras de capim foram cortadas rente ao solo com o auxílio de uma tesoura de poda e colocadas em sacos plásticos, previamente identificados, e levadas imediatamente ao laboratório para serem processadas. No começo do experimento, o capim que estivesse a uma distância menor de 30 centímetros das fezes dos ovinos não era coletado, evitando superestimar a contaminação por L3 da amostra de pasto. Com o passar do tempo, devido à alta taxa de lotação (59 animais/ha), onde 16 animais pastejaram durante 3 dias consecutivos 12 piquetes de 225 m² (25 x 9 m) de área, as fezes estavam distribuídas em toda a área, não havendo possibilidade de manter os 30 centímetros de distância das fezes para a amostragem.

O processamento consistiu na separação das amostras em baldes, previamente identificados com o número do piquete, tratamento e coleta, onde permaneceram imersas em quatro litros d'água com 0,5 mL de detergente neutro (para facilitar a separação das larvas do capim) por quatro horas. Após esse período, cada amostra foi transferida para um segundo balde, também identificado, contendo quatro litros d'água e 0,5 mL de detergente neutro, permanecendo imerso por mais três horas, totalizando, assim, sete horas de imersão das amostras de capim em água (Niezen et al., 1998).

Decorridas as sete horas, as amostras de capim foram retiradas dos baldes, embaladas em sacos de papel e secas em estufa a 60°C, por 72 horas, para determinar a massa seca. Juntou-se a água dos dois baldes, que então permaneceu em repouso por 24 horas. Após, retirou-se o sobrenadante, e o sedimento foi

transferido para um cálice de sedimentação. A recuperação e quantificação das L3 foi realizada de acordo com Carneiro e Amarante (2008). Alíquotas de 20% das larvas recuperadas foram mortas e coradas com lugol e identificadas de acordo com Ueno e Gonçalves (1998).

O tempo, em minutos, necessário para realizar a coleta de pasto em cada um dos dois métodos foi mensurado na primeira coleta.

2.4. Análise estatística

Comparou-se os dados da mesma coleta, piquete e tratamento, em cada um dos métodos avaliados. Os tratamentos não foram considerados na análise estatística, pois observou-se previamente que os mesmos não diferiram estatisticamente entre si.

A normalidade dos dados foi verificada com o programa PAST version 2.17c. Devido à não normalidade dos dados, as comparações foram feitas pelo teste não paramétrico de Mann-Whitney e interpretadas com o software Minitab, versão 16.2.4 (Minitab Inc., State College, PA, EUA). Valores de $P \leq 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos. As figuras foram feitas no Graphpad Prism 5. Nestas constam os valores da mediana (valor mínimo – valor máximo).

O coeficiente Kappa de Cohen (k) foi determinado. Este coeficiente é uma medida do acordo entre dois testes, onde 1 é o acordo perfeito entre eles, e os valores próximos e até abaixo de 0 indicam nenhuma concordância, ou a concordância foi exatamente a esperada pelo acaso (Cohen, 1960).

Foi determinado também o coeficiente de correlação não-paramétrica de Spearman entre os métodos de coleta, realizado pelo graphpad Prism 5. Esse coeficiente levar em consideração a ordem dos dados e não o seu valor intrínseco e serve para verificar o inter-relacionamento das variáveis.

3. Resultado

Das 96 coletas, foram recuperadas L3 em apenas 40, isto é, em diferentes ocasiões, não foram recuperadas L3 em 56 coletas por ambas as técnicas. O nível de concordância, coeficiente kappa de Cohen ($k \pm$ erro padrão), entre os dois métodos foi de $0,51 \pm 0,09$, portanto moderado.

Observou-se correlação de Spearman positiva entre os métodos ($P = 0,0072$), indicando que os postos das duas variáveis seguem aproximadamente o mesmo padrão (Figura 2).

Larvas infectantes dos seguintes gêneros foram recuperadas das amostras de forragem: *Haemonchus*, *Trichostrongylus* e *Oesophagostomum*. *Haemonchus* spp. foi o gênero encontrado em maior quantidade, com 87,23% do total de larvas encontradas no método W e 74,22% no método Quadrado. O segundo gênero mais abundante nas amostragens foi *Trichostrongylus* spp., com 11,77% no método W e 23,28% no do Quadrado. O gênero *Oesophagostomum* spp. foi quem apareceu em menor quantidade, sendo 1% das larvas totais recuperadas no método W e 2,5% no Quadrado.

Considerando apenas as 40 coletas em que foram recuperadas L3, não foram observadas diferenças estatísticas significativas entre os métodos W e Quadrado na análise dos dados dos gêneros *Haemonchus* spp. ($P = 0,31$), *Trichostrongylus* spp. ($P = 0,33$) e *Oesophagostomum* spp. ($P = 0,22$). As medianas (valor mínimo – valor máximo) das larvas recuperadas de *Haemonchus* spp., *Trichostrongylus* spp. e *Oesophagostomum* spp, respectivamente no método W foram 633,28 (0 – 50.925,93), 231,12 (0 – 3.867,64) e 137,32 (0 – 393,4). Já no método Quadrado, os valores foram, respectivamente, 345,43 (0 – 4.136,5), 121,15 (0 – 1.496,26) e 0 (0 – 327,01) (Figura 3).

A mediana (valor mínimo – valor máximo) do total de larvas recuperadas da pastagem usando o método W e Quadrado foi de 368,7 (0 – 53.240,75) e 253,7 (0 – 4.395,05) L3/kg MS, respectivamente. Apesar da grande discrepância encontrada entre a quantidade de larvas recuperadas nos dois métodos (Figura 4), não houve diferença estatística significativa entre elas ($P = 0,29$).

Em termos de quantidade de amostra de pastagem coletada, houve diferença estatística entre os dois métodos avaliados ($P < 0,05$). A mediana (valor mínimo – valor máximo) da quantidade de massa seca foi maior no método Quadrado, 48.39 gramas (5,57 – 159,07) quando comparado com o método W, 22,07 gramas (3,59 – 93,76) (Figura 5).

A média do tempo necessário para a coleta de pasto no método W foi 2 minutos e 44 segundos, enquanto no método Quadrado foi 6 minutos e 3 segundos.

4. Discussão

Os gêneros de nematódeos gastrintestinais encontrados no presente estudo também foram encontrados por Bassetto et al. (2009) na mesma cidade, Botucatu – SP, onde, devido ao clima subtropical, *Haemonchus* spp. foi o mais abundante, seguido de *Trichostongylus* spp. e *Oesophagostomum* spp. em pequena quantidade.

Ao avaliarem os mesmos métodos de coleta de pasto para quantificação de L3 de nematódeos gastrintestinais de bovinos na Bélgica, Verschave et al. (2015) também não encontraram diferença estatística significativa entre eles. Porém, os autores utilizaram outro método de separação das L3 do capim, seguindo o proposto por Taylor (1939).

Mesmo não havendo diferença estatística significativa, o método W recuperou, numericamente maior número de L3 que o método Quadrado, mesmo tendo sido coletada uma quantidade menor de amostra de forragem. Isso pode indicar que o método Quadrado não representou a área de forma homogênea e ao recuperar número menor de L3 e quantidade maior de forragem, pode ter subestimado o resultado real da contaminação da área.

A correlação positiva entre os dois métodos sugere que eles concordam entre si, mostrando que quando a quantidade de L3 recuperada no método W aumenta, no método Quadrado também se eleva. Esses resultados são confirmados com o teste Kappa, do qual sugere uma concordância moderada entre os dois métodos avaliados.

O método Quadrado, devido às medidas pré-fixadas da moldura, também é utilizado para se quantificar a disponibilidade de forragem na área. Com isso, o método Quadrado pode ser utilizado como uma nova abordagem para quantificação de L3 de nematódeos gastrintestinais na pastagem, obtendo a contaminação da área total disponível para pastejo animal. Já no método W, mais tradicionalmente utilizado para tal finalidade, não é possível saber a disponibilidade de forragem da área que está sendo analisada, porém amostra mais pontos (11) que o método Quadrado (4).

O método W foi mais rápido de ser executado, levando menos da metade do tempo necessário para que se concluísse a coleta do pasto pelo método Quadrado. Isso pode ser devido à pequena área utilizada no experimento (225 m²), o que facilitou ao pesquisador seguir o caminho designado pelo método W e fez com que este método fosse de mais fácil execução para realizar a coleta de pasto.

Concluiu-se que na área onde foi realizado o estudo, o método W mostrou-se de mais fácil execução. Os dois métodos parecem ser complementares, podendo ser utilizados na mesma ocasião, com diferentes objetivos.

AGRADECIMENTOS

Marina Piza recebeu bolsa de estudo da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP; número do processo 2015/25413-1).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alvares, C.A., Stape, J.L., Sentelhas, P.C., de Moraes, G., Leonardo, J., Sparovek, G., 2013. Köppen's climate classification map for Brazil. *Meteorol Z* 22(6), 711-728.
- Bassetto, C.C., Silva, B.F., Fernandes, S., Amarante, A.F.T., 2009. Contaminação da pastagem com larvas infectantes de nematoides gastrintestinais após o pastejo de ovelhas resistentes ou susceptíveis à verminose. *Rev Bras Parasitol Vet* 18(4), 63-68.
- Batista, E.K.F., Neves, C.A., Mendonça, I.L., 2016. Resistência anti-helmíntica em ovinos e caprinos – uma revisão. *Rev Cient Elet Med Vet* 27(1), 1-15.
- Burke, J.M., Miller, J.E., Terrill, T.H., Smyth, E., Acharya, M., 2016. Examination of commercially available copper oxide wire particles in combination with albendazole for control of gastrointestinal nematodes in lambs. *Vet Parasitol* 215(1), 1-4.
- Carneiro, R.D., Amarante, A.F.T.D., 2008. Seasonal effect of three pasture plants species on the free-living stages of *Haemonchus contortus*. *Arq Bras Med Vet* 60(4), 864-872.
- Escobedo, J.F., Gomes, E.N., Oliveira, A.P., Soares, J., 2011. Ratios of UV, PAR and NIR components to global solar radiation measured at Botucatu site in Brazil. *Renew Energy* 36(1), 169–178.
- Falbo, M.K., Soccol, V.T., Sandini, I.E., Novakowski, J.H., Soccol, C.R., 2015. Effect of spraying *Arthrobotrys conoides* conidia on pastures to control nematode infection in sheep. *Semin: Cien Agrar* 36(1), 239-252.
- Falzon, L.C., Menzies, P. I., VanLeeuwen, J., Shakya, K. P., Jones-Bitton, A., Jacob, A., Jansen, J. T., Peregrine, A. S., 2014. Pilot project to investigate over-wintering of free-living gastrointestinal nematode larvae of sheep in Ontario, Canada. *Can Vet J* 55(8), 749-756.
- Gettinby, G., McKellar, Q.A., Bairden, K., Theodoridis, Y., Whitelaw, A., 1985. Comparison of two techniques used for the recovery of nematode infective larvae from pasture. *Res Vet Sci* 39(1), 99-102.
- Heckler, R.P., Borges, F.A., 2016. Climate variations and the environmental population

of gastrointestinal nematodes of ruminants. *Nematoda* 3(1) 1-11.

- Lopes, S. G., Barros, L. B. G, Louvandini, H., Abdalla, A. L., Costa-Junior, L. M., 2016. Effect of tanniferous food from *Bauhinia pulchella* on pasture contamination with gastrointestinal nematodes from goats. *Parasit Vectors* 9(102) 1-7.
- Martin, R.R., Beveridge, I., Pullman, A.L., Brown, T.H., 1990. A modified technique for the estimation of the number of infective nematode larvae present on pasture, and its application in the field under South Australian conditions. *Vet Parasitol* 37(2), 133-143.
- Molento, M.B., Buzatti, A., Sprenger, L.K., 2016. Pasture larval count as a supporting method for parasite epidemiology, population dynamic and control in ruminants. *Livest Sci* 192(1), 48-54.
- Niezen, J.H., Waghorn, G.C., Charleston, W.A.G., 1998. Establishment and fecundity of *Ostertagia circumcincta* and *Trichostrongylus colubriformis* in lambs fed lotus (*Lotus pedunculatus*) or perennial ryegrass (*Lolium perenne*). *Vet Parasitol* 78(1), 13-21.
- Rocha, R.A.D., Bricarello, P.A., Rocha, G.P.D., Amarante, A.F.T.D., 2014. Retrieval of *Trichostrongylus colubriformis* infective larvae from grass contaminated in winter and in spring. *Rev Bras Parasitol Vet* 23(4), 463-472.
- Taylor, E.L., 1939. Technique for the estimation of pasture infestation by strongyloid larvae. *Parasitology* 31(4), 473-478.
- Ueno, H., Gonçalves, P.C. (4ed), 1998. Manual para diagnóstico das helmintoses de ruminantes. Japan International Cooperation Agency, Tóquio. 145 pp.
- Verschave, S.H., Levecke, B., Duchateau, L., Vercruyse, J., Charlier, J., 2015. Measuring larval nematode contamination on cattle pastures: comparing two herbage sampling methods. *Vet Parasitol* 210(3), 159-166.

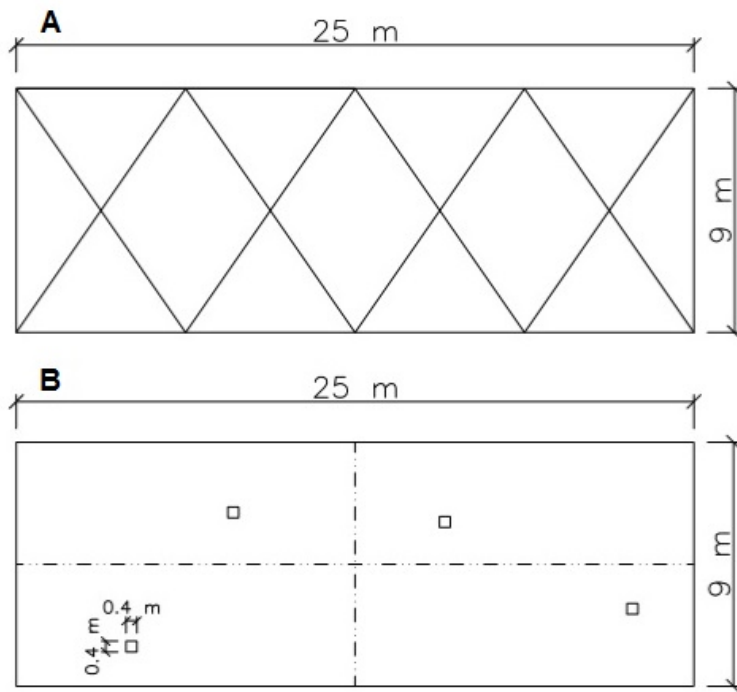


Figura 1. Método W (A) e método Quadrado (B).

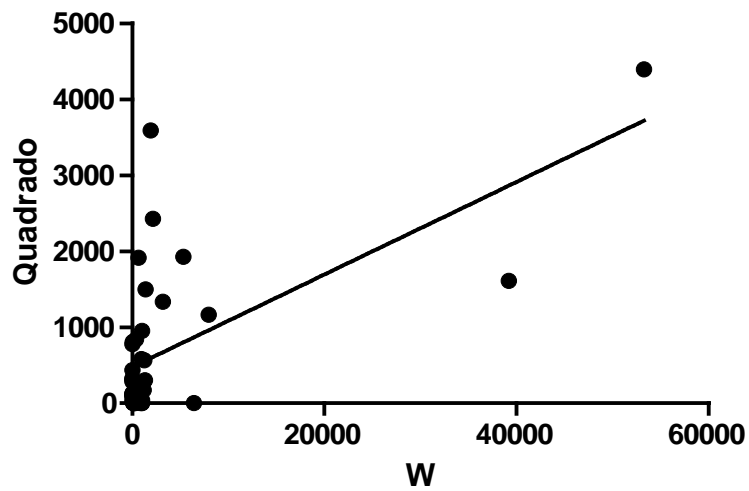


Figura 2. Correlação de Spearman positiva entre o método W e o método Quadrado.

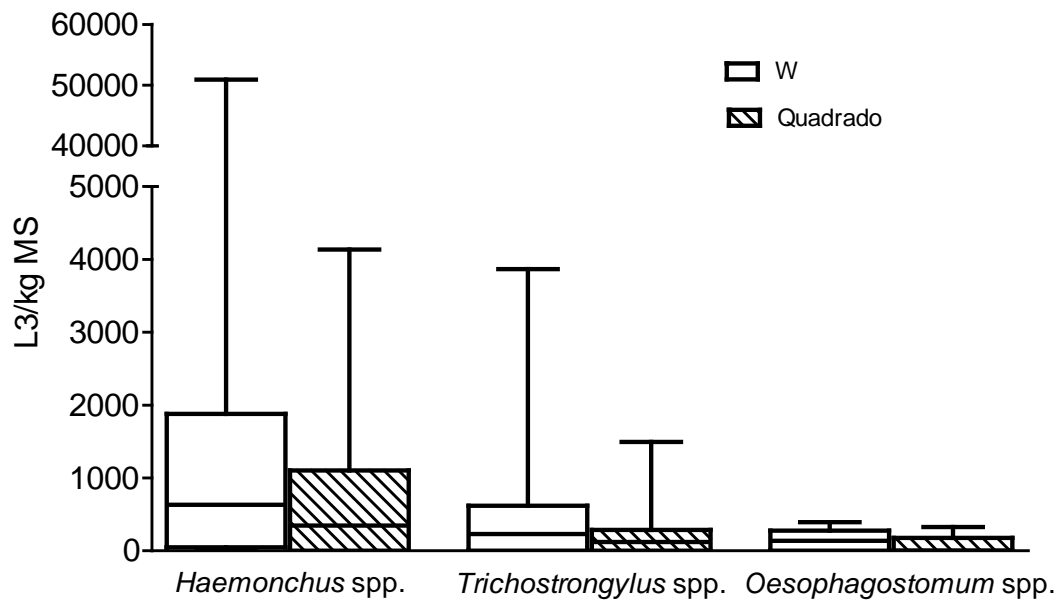


Figura 3. Boxplot da quantidade de larvas infectantes por gênero por quilograma de massa seca (L3/kg MS), no método W e Quadrado, mostrando a mediana, quartis e barras do valor máximo.

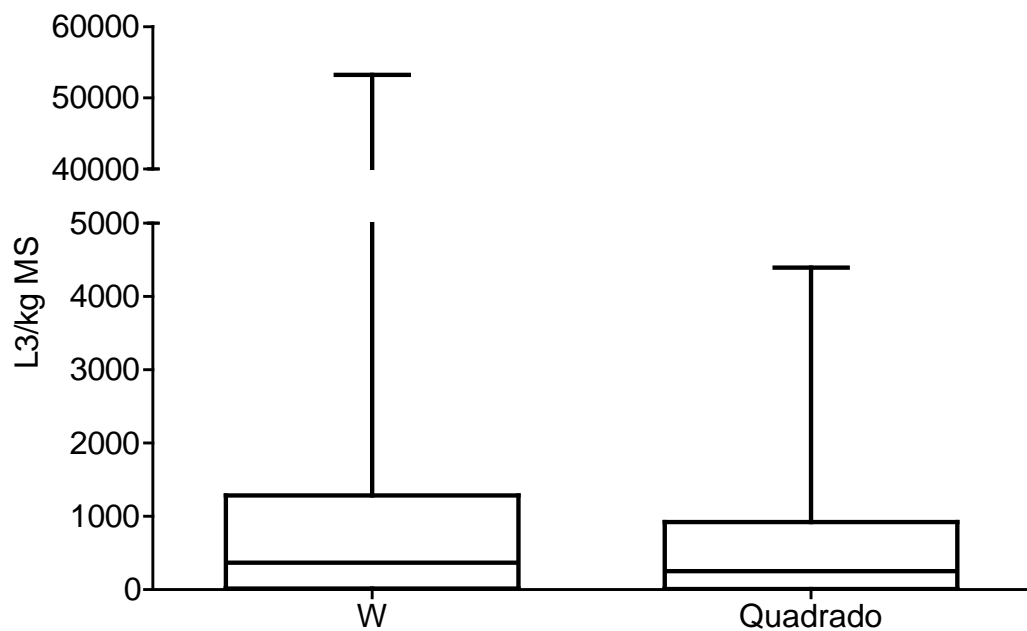


Figura 4. Boxplot do total de larvas infectantes por quilograma de massa seca (L3/kg MS) no método W e quadrado, mostrando a mediana, quartis e barras do valor máximo.

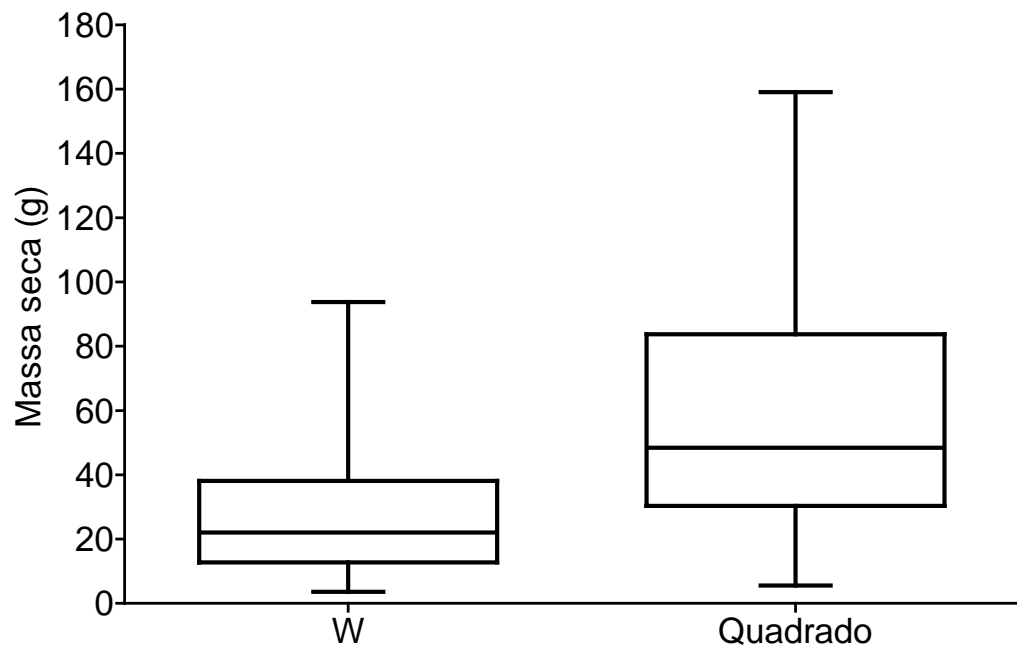


Figura 5. Boxplot dos pesos, em gramas, das amostras coletadas nos métodos W e Quadrado, mostrando a mediana, quartis e barras do valor máximo e mínimo.

IMPLICAÇÕES

No Brasil e no mundo, a infecção por nematóides gastrintestinais é um grande problema na produção de ovinos, pois causa diminuição na produtividade e elevada mortalidade desses pequenos ruminantes. A verminose é um problema de difícil controle, mas muito comum nas propriedades.

Devido à resistência desses parasitas aos anti-helmínticos, utilizar métodos alternativos de controle tem se tornado de grande importância no atual cenário, possibilitando aos produtores que continuem trabalhando com ovinos, levando adiante o comércio de lã e carne.

Um dos métodos alternativos que pode ser utilizado para o controle de nematóides gastrintestinais de ruminantes é o manejo ambiental. Longos períodos de descanso da pastagem, sem animais na área, são necessários para a descontaminação. Porém, essa prática é zootecnicamente inviável, já que prejudica a qualidade da forrageira. Com isso, a utilização de alternância entre culturas agrícolas e pastagens pode ser uma solução viável ao problema.

O sistema de Integração Lavoura-Pecuária (ILP) segue esse princípio, alternando culturas como milho, soja, feijão guandu, milheto, com pastagens de aveia, azevém, braquiária, dentre outras, para entrada dos animais. O tempo em que o solo é utilizado para a plantação das culturas agrícolas, bem como o revolvimento posterior necessário para a implantação do pasto, são suficientes para que as larvas infectantes morram, deixando a área livre para a entrada dos animais pastejadores.

Dessa forma, o presente estudo validou o sistema ILP como um método eficaz de controle da verminose ovina por descontaminar a área, tem grande importância na produção de ovinos. Com isso, há a necessidade de se criar estratégias a fim de diminuir a carga parasitária dos animais antes da entrada ou durante o pastejo dos mesmos na pastagem. Assim, a área teria baixa contaminação e o sistema se tornaria menos dependente do uso de anti-helmínticos comerciais.

Em áreas contaminadas por nematóides gastrintestinais, há a necessidade de se conhecer a dinâmica populacional dos parasitas, tanto na pastagem quanto dentro do hospedeiro, a fim de desenvolver estratégias de controle.

Para isso, a quantificação de larvas infectantes desses nematóides na pastagem se faz necessária, tendo a necessidade da escolha de uma técnica apropriada para a recuperação das larvas infectantes da forragem, de forma mais fidedigna e/ou menos laboriosa.

Dentre as metodologias que são empregadas para essa análise, está a utilização de animais traçadores, prática ainda muito comum nas pesquisas sobre nematódeos gastrintestinais. O uso do animal pode tornar o custo da técnica elevada, além de ser mais laboriosa. A quantificação diretamente pela forragem é uma alternativa viável, já que há relação entre a quantidade de larvas infectantes no pasto e a infecção parasitária no animal.

As metodologias apresentadas neste estudo, o método W e o método Quadrado, são simples e de fácil execução, podendo ser implantados rotineiramente nas propriedades. Permitem que a amostragem seja feita por pessoas sem especialidade técnica no assunto, e levadas ao laboratório especializado para quantificação e identificação das larvas. As técnicas não exigem grandes investimentos e são de baixo custo de execução, além de seus resultados refletirem a realidade local.

Portanto, o experimento realizado é de grande importância para os estudos sobre parasitologia animal e pode contribuir com futuras pesquisas sobre a epidemiologia e biologia dos parasitas gastrintestinais de ovinos.