

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA (UNESP)
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E TECNOLÓGICAS
CAMPUS DE DRACENA

Tábata Alves do Carmo

Médica Veterinária

**CONTROLE BIOLÓGICO DE NEMATOIDES
GASTRINTESTINAIS DE EQUINOS MANTIDOS A
PASTO COM ASSOCIAÇÃO DOS FUNGOS
NEMATÓFAGOS *DUDDINGTONIA FLAGRANS* E
*POCHONIA CHLAMYDOSPORIA***

Dracena

2022

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA (UNESP)
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E TECNOLÓGICAS
CAMPUS DE DRACENA**

Tábata Alves do Carmo

Médica Veterinária

**CONTROLE BIOLÓGICO DE NEMATOIDES
GASTRINTESTINAIS DE EQUINOS MANTIDOS A
PASTO COM ASSOCIAÇÃO DOS FUNGOS
NEMATÓFAGOS *DUDDINGTONIA FLAGRANS* E
*POCHONIA CHLAMYDOSPORIA***

Dissertação apresentada à Faculdade de
Ciências Agrárias e Tecnológicas – Unesp,
Campus de Dracena como parte das
exigências para obtenção do título de
Mestre em Ciência e Tecnologia Animal.

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Velludo Gomes de Soutello

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

Dracena

2022

FICHA CATALOGRÁFICA
Desenvolvida pela Seção Técnica de Biblioteca e Documentação
Campus de Dracena

C287c

Carmo, Tábata Alves do.

Controle biológico de nematoides gastrintestinais de equinos mantidos a pasto com associação dos fungos nematófagos *Duddingtonia flagrans* e *Pochonia chlamydosporia* / Tábata Alves do Carmo. -- Dracena: [s.n.], 2022.

51 f. : il.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp). Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas de Dracena. Área do conhecimento: Produção Animal, 2022.

Orientador: Ricardo Velludo Gomes de Soutello

Coorientador: Jackson Víctor de Araújo

1. Anti-helmínticos. 2. Cavalos. 3. Parasitismo. 4. Resistência à drogas. I. Título.

Bibliotecário Fábio S. Rosas
CRB 8/6665

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: "Controle biológico de nematoides gastrintestinais de equinos mantidos a pasto com a associação dos fungos nematofagos *Duddingtonia flagrans* e *Pochonia Chlamydosporia*"

AUTORA: TÁBATA ALVES DO CARMO

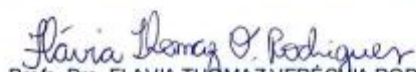
ORIENTADOR: RICARDO VELLUDO GOMES DE SOUTELLO

COORDENADOR: JACKSON VICTOR DE ARAÚJO

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em CIÊNCIA E
TECNOLOGIA ANIMAL, área: Produção Animal pela Comissão Examinadora:



Prof. Dr. RICARDO VELLUDO GOMES DE SOUTELLO (Participação Virtual)
Departamento de Produção Animal / Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas de Dracena - UNESP



Profa. Dra. FLAVIA THOMAZ VERÉCHIA RODRIGUES (Participação Virtual)
Departamento de Produção Animal / Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas de Dracena - UNESP



Prof. Dr. ALESSANDRO FRANCISCO TALAMINI DO AMARANTE (Participação Virtual)
Departamento de Parasitologia / Instituto de Biociências - Unesp de Botucatu

Dracena, 18 de fevereiro de 2022.

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Tábata Alves do Carmo, nascida em 22 de fevereiro de 1995, na cidade de Dracena/SP. Ingressou no curso de Medicina Veterinária na Universidade do Oeste Paulista, em Presidente Prudente/SP, em março de 2014, graduando-se em janeiro de 2019. Em março de 2020 ingressou no curso de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia Animal, na FCAT/Unesp - Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas – Campus de Dracena e integrante do EEPPA – Equipe de Extensão e Pesquisa em Parasitologia Animal (grupo de estudo credenciado ao CNPq).

DEDICATÓRIA

Ao meu pai Abílio Junior e minha mãe Rosângela Pessoa Russo, que me educaram e me possibilitaram mais essa conquista, exemplos de vida fundamentais para a minha vida pessoal e profissional, e todo apoio de minhas irmãs, Bruna Alves e Rafaela Alves.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por ter me mantido na trilha certa durante este projeto de pesquisa com saúde e forças para chegar até o final.

Sou grata à minha família pelo apoio que sempre me deram durante toda a minha vida.

Deixo um agradecimento especial ao meu orientador Ricardo Velludo Gomes de Soutello pelo incentivo e pela dedicação do seu tempo ao meu projeto de pesquisa.

Também quero agradecer à Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas – Unesp Campus de Dracena e a todos os professores pela elevada qualidade do ensino oferecido pelo Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Animal.

Agradeço a todos os alunos da graduação membros do E.E.P.P.A - Equipe de Extensão e Pesquisa a Parasitologia Animal, que contribuíram para desenvolvimento do meu projeto.

Aos meus amigos da pós-graduação, principalmente Mateus Oliveira Mena e Valeska Lourenço que compartilharam dos inúmeros desafios que enfrentamos, sempre com o espírito colaborativo desde o início do mestrado, e também a Isabela Cipriano, Giordani Favare e Gabriel Guelpa que sempre se prontificaram a me ajudar e dar todo apoio.

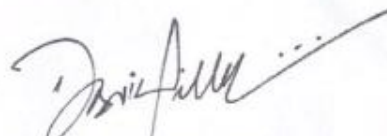
Agradeço a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) pelo apoio ao Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia Animal.

Comissão de Ética no Uso de Animais

Certificado

Certificamos que a proposta intitulada "**Controle biológico de nematoides gastrintestinais com a associação dos fungos nematófagos Duddingtonia flagrans e Pochonia chlamidosporia em equinos mantidos a pasto**" (Biological controlo f gastrointestinal nematodes with the association of the nematophagous fungi Duddingtonia flagrans and Pochonia chlamidosporia in horses kept in pasture), registrada com o nº **05/2020.R1 – CEUA**, sob a responsabilidade do(a) Prof(a). Dr(a). **Ricardo Velludo Gomes de Soutello** – que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de **pesquisa científica** – encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS – CEUA da Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas da UNESP - Câmpus de Dracena, em **25/11/2020**.

Dracena, 09 de dezembro de 2020.



Prof. Dr. Danilo Domingues Millen
Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais

RESUMO

O controle biológico com fungos nematófagos pode ser empregado para diminuir populações de parasitos, já que estes são seus antagonistas naturais. Objetivou-se avaliar a ação dos fungos nematófagos *Duddingtonia flagrans* e *Pochonia chlamydosporia* como alternativa de controle biológico das helmintoses gastrintestinais em equinos. Foram utilizadas 36 equinos fêmeas distribuídos em 3 grupos com 12 animais cada, sendo o delineamento inteiramente casualizado. Os grupos foram: grupo controle, onde os animais eram tratados diariamente com ração comercial (Controle); grupo tratado com fungos, com animais tratados diariamente, com 1g do produto Bioverm Plus/ 10 Kg de peso corporal contendo 10^5 clamidósporos dos fungos *Duddingtonia flagrans* e *Pochonia chlamydosporia*, administrados diariamente, juntamente com concentrado farelado para equinos, e o grupo abamectina, foram tratados a cada 3 meses com o anti-helmíntico abamectina 1%, na dose de 0,2 mg/kg, apresentação em pasta e fornecido por via oral. A ação dos tratamentos foi avaliada com base na contagem de ovos por grama de fezes (OPG) em amostras coletadas a cada 28 dias, coprocultura, contagem de larvas na pastagem e análise microbiológica das fezes. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) por meio do Statistical Analysis System, versão 9.2 e as médias foram comparadas pelo teste Tukey (5%). A médias gerais de OPG e das L3/Kg.MS apresentaram diferença estatística significativa ($p < 0,05$) do grupo tratado com fungos comparado ao grupo controle sendo o controle com maiores médias, e os grupos tratados apresentaram-se semelhantes de modo geral. A recuperação de larvas a partir de coproculturas revelou a predominância de pequenos estrôngilos em relação aos grandes estrôngilos nos três grupos. O grupo abamectina apresentou menores valores de Unidade Formadora de Colônia/ml. Conclui-se que a utilização dos fungos *D. flagrans* e *P. chlamydosporia* é eficiente no controle de nematoides gastrointestinais de equinos mantidos a pasto, promovendo redução da infestação das pastagens por larvas infectantes e consequentemente o grau de infecção por helmintos.

Palavras-chave: Anti-helmínticos. Cavalos. Parasitismo. Resistência à drogas.

ABSTRACT

Biological control with nematophagous fungi can be used to reduce parasite populations, as these are their natural antagonists. The objective was to evaluate the action of the nematophagous fungi *Duddingtonia flagrans* and *Pochonia chlamydosporia* as an alternative for biological control of gastrointestinal helminthiasis in horses. Thirty female horses were divided into 3 groups with 12 animals each, in a completely randomized design. The groups were: control group, where the animals were treated daily with commercial feed (Control); group treated with fungi, with animals treated daily, with 1g of the product Bioverm Plus/ 10 Kg of body weight containing 105 chlamydospores of the fungi *Duddingtonia flagrans* and *Pochonia chlamydosporia*, administered daily, together with mash concentrate for horses, and the abamectin group, were treated every 3 months with the anthelmintic abamectin 1%, at a dose of 0.2 mg/kg, presented in paste and given orally. The action of the treatments was evaluated based on the count of eggs per gram of feces (OPG) in samples collected every 28 days, coproculture, counting of larvae in the pasture and microbiological analysis of the feces. Data were submitted to analysis of variance (ANOVA) using the Statistical Analysis System, version 9.2, and the means were compared using the Tukey test (5%). The general averages of OPG and L3/Kg.MS showed a statistically significant difference ($p < 0.05$) of the group treated with fungi compared to the control group, with the control with the highest averages, and the treated groups were generally similar. The recovery of larvae from coprocultures revealed the predominance of small strongyles in relation to large strongyles in the three groups. The abamectin group had lower values of Colony Forming Unit/ml. It is concluded that the use of the fungi *D. flagrans* and *P. chlamydosporia* is efficient in the control of gastrointestinal nematodes of horses kept on pasture, promoting a reduction in the infestation of pastures by infective larvae and consequently the degree of infection by helminths.

Keywords: Anthelmintics. Horses. Parasite. Drug resistance.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Animais do grupo fungo sendo tratados com Bioverm Plus.	25
Figura 2 - Coleta de fezes diretamente da ampola retal dos equinos.....	27
Figura 3 - Coleta de pasto a 20 cm de distância do bolo fecal.	28
Figura 4 - Média de ovos por grama de fezes do grupo controle, grupo tratado com fungos e grupo abamectina, de novembro de 2020 a novembro de 2021, em Castilho, São Paulo, Brasil.	32
Figura 5 - Precipitação pluviométrica mensal (mm), médias de temperatura (°C) e umidade relativa do ar (%) de novembro de 2020 a novembro de 2021, em Castilho, São Paulo, Brasil.	39

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Média, erro padrão médio (EPM) da contagem de ovos por grama de fezes (OPG) do grupo controle, grupo tratado com fungos e grupo abamectina, de novembro de 2020 a novembro de 2021, em Castilho, São Paulo, Brasil. . 31
- Tabela 2.** Número de animais que receberam aplicações da abamectina, do grupo controle, grupo tratado com fungos e grupo abamectina, de novembro de 2021 a novembro de 2021, em Castilho, São Paulo, Brasil. 33
- Tabela 3.** Valores percentuais de larvas infectantes de pequenos e grandes estrongilos recuperadas a partir de fezes de animais pertencentes ao grupo controle, grupo tratado com fungos e grupo abamectina de novembro de 2020 a novembro de 2021, em Castilho, São Paulo. 35
- Tabela 4.** Média e erro padrão da média (EPM) do número de larvas infectantes por quilograma de matéria seca (Kg.MS) recuperadas da pastagem do grupo controle, tratado com fungos e abamectina , coletados de novembro de 2020 a novembro de 2021, em Castilho, São Paulo. 36
- Tabela 5.** Média e erro padrão da média (EPM) das unidades formadoras de colônias (UFC), do grupo controle, grupo tratado com fungos e grupo abamectina, no período de novembro de 2020 a novembro de 2021. 38

LISTAS DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CEUA - Cômite de Ética e Uso de Animais

OPG - Ovos por grama de fezes

UFC - Unidade formadora de colônias

KG - Quilograma

MS - Matéria seca

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
2 OBJETIVOS	16
2.1 Objetivo Geral.....	16
2.2 Objetivos Específicos.....	16
3 REVISÃO DE LITERATURA	17
3.1 Principais Helmintos Gastrintestinais de Equinos.....	17
3.2 Tratamento anti-helmíntico	18
3.3 Resistência parasitária.....	19
3.4 Controle biológico	20
3.5 Fungos.....	20
3.6 Fungo Duddingtonia flagrans.....	22
3.7 Fungo Pochonia chlamydosporia.....	23
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	23
4.1 Local e Desenvolvimento.....	23
4.2 Delineamento Experimental.....	24
4.3 Formulação fúngica	25
4.4 Coleta de fezes e exames coproparasitológicos.....	26
4.5 Larvas infectantes recuperadas na pastagem	27
4.6 Análise microbiológica das fezes.....	28
4.7 Dados climáticos.....	29
4.8 Análise estatística.....	29
5 RESULTADOS	29
5.1 Ovos por grama de fezes.....	29

(*) aplicações de abamectina em todos os animais do grupo abamectina a cada três meses.	33
5.2 Coprocultura	34
5.3 Larvas infectantes recuperadas na pastagem	35
5.4 Microbiologia das fezes	37
5.5 Dados Climatológicos	38
6 DISCUSSÃO	40
6.1 Ovos por gramas de fezes.....	40
6.2 Coprocultura	41
6.3 Larvas infectantes recuperadas na pastagem	42
6.4 Microbiologia das fezes	43
7 CONCLUSÃO.....	44
REFERÊNCIAS BIBLOGRAFICAS	45

1 INTRODUÇÃO

O rebanho de equinos no Brasil é de aproximadamente 6 milhões de animais, sendo o estado de Minas Gerais com o maior número de cabeças, o que permite o país ocupar a 3ª posição no ranking dos países com maiores rebanhos equinos no mundo, atrás somente do Estados Unidos e México (ANUALPEC, 2021).

A equideocultura representa um campo repleto de oportunidades econômica e social do agronegócio brasileiro. Com um expressivo rebanho de equídeos, o setor gera mais de 3 milhões de empregos e movimenta R\$ 16 bilhões ao ano (IBEQUI, 2021).

No Brasil, grande parte da criação dos equinos é realizada sob regime extensivo, no qual os animais são mantidos em pastagens contaminadas com larvas infectantes de nematoides, o que favorece constantemente as helmintoses (BRAGA, 2009). Em razão da valorização dos equinos, e a contribuição na economia mundial, é indispensável, a atenção quanto à saúde destes animais, pois podem ser acometidos por diversas doenças, inclusive as verminoses que são mais comuns (REHBEIN *et al.*, 2013).

O parasitismo animal se destaca, devido aos prejuízos consequentes da infecção parasitária, como perda de desempenho em animais de corrida, cólicas gástricas e intestinais além da diarreia em potros. E conforme o grau da carga parasitária, os helmintos podem causar desde um pequeno desconforto abdominal, fraqueza, pelagem áspera, retardo de crescimento, hiporexia, anemia, até episódios fulminantes de cólica e pode levar o animal a óbito (LAGAGGIO *et al.*, 2007).

A principal forma de controle de helmintose, na maioria dos sistemas de criação utiliza-se exclusivamente anti-helmínticos químicos (MARTIN, 1997). Os esquemas de controle de helmintose equina preconizados no Brasil e em outros países são normalmente supressivos, com seis tratamentos por ano (HONER; BIANCHIN, 1995). Os principais grupos químicos utilizados para o controle de helmintose em equinos são os benzimidazóis e as lactonas macrocíclicas (PÉREZ-ÁLVAREZ *et al.*, 2013). As diferenças entre essas classes estão no modo de ação de cada uma (MARTIN, 1997).

O impasse na utilização dos anti-helmínticos comerciais vem sendo o uso de maneira indevida, indiscriminada e sem a associação de estratégias auxiliares de controle (MOLENTO, 2005). E devido a isto, a situação mundial atual é de resistência parasitária a muitas classes de anti-helmínticos comerciais disponíveis no mercado (NIELSEN *et al.*, 2014). E consequentemente a disseminação das populações de nematoides resistentes aos parasiticidas tornou-se uma séria ameaça para a saúde e produção animal em vários países.

Muitos nematoides com alto grau patológico na Medicina Veterinária têm adquirido características genéticas que favorecem o desenvolvimento da resistência anti-helmíntica (HODGKINSON *et al.*, 2008).

Sendo assim, se faz necessária a atribuição de novas formas de controle parasitário, promovendo a redução do número de larvas infectantes nas pastagens, ocasionando assim a diminuição da reinfecção dos animais e consequentemente o uso de anti-helmínticos químicos (ARAÚJO *et al.*, 2004; BRAGA *et al.*, 2009).

O controle biológico com fungos nematófagos pode ser empregado para diminuir populações de parasitos, já que estes são seus antagonistas naturais. A utilização dos fungos namatofágos no controle biológico também é benéfico devido ao sinergismo no controle químico, o que obtém uma maior atuação sobre as formas infectantes presentes nas fezes, bem como sobre os helmintos adultos que estão parasitando o animal (RIBEIRO, 2003; BRAGA *et al.*, 2014).

Devido aos resultados promissores em estudos que demonstraram a efetividade em dispor o uso dos fungos *D. flagrans* e *P. chlamydosporia* para o controle biológico de nematoides gastrintestinais em ruminantes, e poucos estudos realizados com equinos, é de grande importância um estudo que avalie a ação destes agentes em equinos sob condições de pastagens naturalmente infectados, sendo considerada uma alternativa na profilaxia das helmintoses gastrintestinais.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar a ação dos fungos *Duddingtonia flagras* e *Pochonia chlamydosporia* como alternativa no controle biológico de nematoides em equinos mantidos a pasto naturalmente infectados, comparado ao tratamento convencional com anti-helmíntico abamectina, verificando a influência do resíduo destes tratamentos no desenvolvimento das bactérias presente nas fezes.

2.2 Objetivos Específicos

- Avaliar a dinâmica da carga parasitária de helmintos dos equinos por meio da contagem de ovos por grama de fezes (OPG) durante o período experimental.
- Investigar por meio de coproculturas e identificação das larvas infectantes, os diferentes gêneros presentes nos animais, antes e após os tratamentos.
- Quantificar larvas infectantes presentes na pastagem durante o período experimental.
- Avaliar o desenvolvimento das bactérias nas fezes dos equinos após os tratamentos com fungos nematófagos e abamectina.
- Avaliar a influência do clima na predação do fungo *D. flagrans* e *P. chlamydosporia* sobre as larvas infectantes presentes nas fezes e no ambiente.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Principais Helmintos Gastrintestinais de Equinos

A fauna parasitária que afeta os equinos é composta por diversas famílias e gêneros, dentre eles, os nematoides estrongilídeos são os que mais acometem os animais (LICHTENFELS *et al.*, 2008). Os estrongilídeos mais comuns em equinos são os pequenos estrôngilos ou também chamados de ciatostomíneos: *Cyathostomum* spp., *Triodontophorus* spp., *Cylicostephanus* spp.; seguido dos grandes estrôngilos: *Strongylus vulgaris*, *Strongylus equinus*, *Strongylus edentatus* e ainda, *Parascaris equorum*, *Oxyuris equi*, *Strongyloides westeri*, *Trichostrongylus axei* (MOLENTO, 2005; REHBEIN; RENATE, 2013).

Os estrongilídeos são normalmente apontados como endoparasitas do intestino grosso dos equídeos, local onde atingem a forma adulta e a maturidade sexual. As larvas em sua fase de desenvolvimento exógeno encontram-se na pastagem e os animais infectam-se durante o pastoreio, visto que, também podem infectar-se no estábulo por ingestão da cama e feno contaminados (OGBOURNE, 1978; MADEIRA DE CARVALHO, 2001, 2006). Estes nematoides possuem ciclo biológico direto, ou seja, não necessitam de hospedeiro intermediário para completar seu ciclo. As fases de desenvolvimento desses nematoides consistem em ovo, larvas de primeiro a quinto estádios (L1 a L5) e parasitos adultos. Quando as condições ambientais se tornam favoráveis (temperatura e umidade) o ovo embrionado passa a se desenvolver dando origem a L1, passa para L2 e posteriormente para o estágio L3. A L3 migra para a pastagem que circunda a massa fecal num raio máximo de cerca de 30 cm e a um máximo de 10 cm de altura, em função da umidade e da temperatura (ENGLISH, 1979; MADEIRA DE CARVALHO, 2001).

Os pequenos estrôngilos, conhecidos como ciatostomíneos, são considerados os helmintos de maior importância, devido a sua prevalência, potencial patogênico e capacidade de desenvolver resistência anti-helmíntica (LESTER *et al.*, 2014). Estes podem parasitar equinos de todas as idades, porém, apresentam maior patogenicidade nos animais jovens (KAPLAN, 2010; LUKSOVSKY *et al.*, 2013). E compreendem 95-100% da carga parasitária total dos equinos (GASSER *et al.*, 2005). São comumente encontrados no intestino grosso de equinos e podendo influenciar negativamente à saúde e bem-estar de

seus hospedeiros. Devido a estes fatores, os equinos de campo devem receber tratamento anti-helmíntico regularmente.

Durante décadas, os grandes estrôngilos, em especial *Strongylus vulgaris*, foram considerados como uma grande ameaça a vida dos equinos, sendo um dos principais motivos dos programas de controle parasitário. Alguns meios de controle conseguiram reduzir satisfatoriamente a população de *S. vulgaris* (HERD, 1990). Entretanto, resultou em um aumento da prevalência dos ciatostomíneos, principalmente pelo fato de se adaptarem facilmente às novas moléculas e tipos de tratamentos (KAPLAN; NIELSEN, 2010).

3.2 Tratamento anti-helmíntico

O controle parasitário dos estrogilídeos, desde o início do século XX, é realizado pela administração de compostos anti-helmínticos, os quais diminuem a população parasitária nos equinos, a eliminação de ovos nas fezes e a contaminação do ambiente (LYONS; TOLLIVER; DRUDGE, 1999).

Táticas tradicionais de controle baseiam-se principalmente na aplicação estratégica de anti-helmínticos, atualmente representado por três principais classes de medicamentos: as lactonas macrocíclicas (ex: ivermectina, abamectina e moxidectina), as pirimidinas e imidazotiazóis (ex: pamoato de pirantel e levamisol) e o grupo dos benzimidazóis (ex: albendazol, oxiendazol e fenbendazol) (SAMSON-HIMMELSTJERNA, 2012). As diferenças entre os grupos químicos, quando comparados, estão no seu mecanismo de ação. (MARTIN, 1997). As lactonas macrocíclicas fazem parte da classe de anti-helmínticos mais eficientes para o controle de parasitas gastrintestinais, pois sua atividade é de amplo espectro, com alta eficiência e elevada margem de segurança (MULROY, 2001).

Porém, as frequentes aplicações vêm favorecendo no desenvolvimento da resistência anti-helmíntica, principalmente dos ciatostomíneos (KAPLAN, 2004). O principal agravante está sendo a utilização desses produtos de maneira indevida, indiscriminada e sem a associação de estratégias auxiliares de controle (MOLENTO, 2005). Portanto, a situação mundial atual é de resistência à maior

parte das classes de antiparasitários comerciais disponíveis no mercado (NIELSEN *et al.*, 2014).

A eficácia das drogas reduz por consequência de seu caráter seletivo, colaborando com a permanência de organismos resistentes e a eliminação de indivíduos susceptíveis. Logo, a sustentabilidade dos programas de controle da verminose equina está comprometida pela seleção de populações de parasitos resistentes, cujo número de relatos é crescente mundialmente (KAPLAN, 2004).

Outro fator preocupante, é a maneira em que as lactonas macrocíclicas eliminam seus metabólitos e substâncias através da urina e das fezes dos animais diretamente na pastagem, intensificando o volume de substâncias químicas compartilhadas no meio ambiente intervindo negativamente a biodiversidade e a sustentabilidade dos ecossistemas (SOMMER; BIBBY, 2002; KOLAR *et al.*, 2006).

3.3 Resistência parasitária

Acontece através de uma sequência de fatores que consequentemente uma droga reduz sua eficácia contra os parasitos, após um determinado tempo de utilização. A seleção de helmintos resistentes é inevitável, uma vez que já se faz presente, e esta característica é transferida para as próximas gerações (CONDER; CAMPBELL, 1995; MOLENTO, 2005).

Logo, a resistência aos anti-helmínticos é hereditária e a administração repetida selecionará, portanto, uma proporção cada vez maior de indivíduos resistentes. Isso acontece porque o parasito adquire a capacidade de mudar a metabolização do fármaco e/ou mudar o local de ligação do fármaco (TAYLOR *et al.*, 2010).

A intensa frequência de tratamento é uma das causas que favorecem o surgimento da resistência parasitária, seguido da subdosagem, alta densidade de animais em um local, e a falta de critérios para utilização dos produtos. (FRITZEN *et al.*, 2010; KAPLAN, 2002; MOLENTO *et al.*, 2005). Desta forma, a disseminação das populações de nematoides resistentes aos parasiticidas tornou-se uma séria ameaça para a saúde e produção animal em vários países (HODGKINSON, 2008).

Sendo assim, se faz necessário a atribuição de novas formas de controle parasitário, promovendo a redução do número de larvas infectantes nas pastagens, ocasionando assim a diminuição da reinfecção dos animais e consequentemente o uso de anti-helmínticos (ARAÚJO *et al.*, 2004; BRAGA *et al.*, 2009).

3.4 Controle biológico

O controle biológico é um termo utilizado quando antagonistas naturais, presentes no ambiente, controlam ou diminuem padrão aceitável de uma população de organismos considerados prejudiciais, tanto na pecuária quanto na agricultura (GRONVOLD *et al.*, 1996; LAZAROVITS *et al.*, 2007). Os organismos que realizam o controle biológico dos nematoides destacam-se: bactérias, vírus, ácaros, besouros, fungos nematófagos, nematoides predadores dentre outros (GAUGLER; BILGRAMI, 2004).

Na prática, o controle biológico não atua sobre estágios internos de parasitos; contudo, concentra suas ações sobre os hospedeiros intermediários, paratênicos, vetores e estágios larvais de vida livre, diminuindo a fonte de infecção para os hospedeiros finais, além disso, causam menos efeitos negativos no ambiente que os métodos químicos (GRØNVOLD *et al.* 1996).

A identificação de agentes biológicos com ação antagonista sobre as fases de vida livre pode permitir o seu uso, integrado a outras medidas, para redução da contaminação das pastagens e consequentemente da população de nematoides parasitos dos animais criados extensivamente e, consequentemente, reduzir a dependência de produtos químicos utilizados como anti-helmínticos (PADILHA, 1996; WALLER, 1992).

3.5 Fungos nematófagos

Mais de 150 espécies de fungos nematófagos foram catalogadas. Esses fungos também são conhecidos como destruidores de helmintos (Mora *et al.*, 2003). Pesquisas utilizando fungos no controle de nematoides vêm aumentando gradativamente (ARAÚJO *et al.*, 2004). Entre os fungos estudados, são

relatados no controle biológico os gêneros *Arthrobotrys*, *Dactylaria*, *Dactylella*, *Duddingtonia*, *Lactydina*, *Monacrosporium* e *Trichothecium* (RUBNER, 2000).

Os fungos *Duddingtonia flagrans* e *Arthrobotrys oligospora* têm ganhado destaque nas pesquisas (LARSEN, 2000), devido aos seus resultados promissores. Isso se deve, a sua rápida taxa de crescimento, além de sua capacidade para capturar e digerir nematoides (WALLER, 2005).

Os fungos nematófagos são antagonistas dos nematóides, presentes no ambiente, podendo ser isolados do solo (DIAS *et al.*, 1995), das fezes frescas coletadas diretamente do reto de animais (MANUELLI *et al.*, 1999), ou de bolos fecais em decomposição (MAHONEY; STRONGMAN, 1994; SAUMELL; PADILHA, 2000).

Quando presentes no meio ambiente, produzem um extensivo sistema de hifas, e assim são formadas armadilhas que capturam os nematoides mecanicamente ou por adesão. Eles se comportam como antagonistas naturais, promovendo apreensão e a destruição do nematoide, e de acordo com seu mecanismo de ação, são classificados em endoparasitas, predadores e oportunistas, sendo que os grupos dos predadores e oportunistas têm sido estudados no controle biológico das helmintoses com resultados promissores (ARAÚJO, *et al.*, 1998; BRAGA *et al.*, 2007; ARAÚJO, *et al.*, 2009; BRAGA *et al.*, 2009; CARVALHO *et al.*, 2009). Podem ser classificados de acordo com seu mecanismo de ação nos seguintes grupos: ovicidas, endoparasitos, produtores de metabólitos tóxicos aos nematoides e predadores (BARRON, 1977). Os predadores possuem estruturas que capturam os nematoides e utilizam partes de seu corpo como nutrientes. Algumas espécies de predadores podem ser polífagas, consumindo um grande número de espécies de presas. Um segundo grupo é dos organismos que crescem simultaneamente com seus hospedeiros, capturando os nutrientes necessários para seu desenvolvimento e multiplicação. Diferente dos predadores, são capazes de concluir seu ciclo e aumentar sua biomassa em um único nematoide. O terceiro grupo é composto por antagonistas, que possuem grande quantidade de organismos que influenciam a sobrevivência dos nematoides por competição por espaço ou por produção de substâncias tóxicas aos nematoides (STIRLING, 1991).

Os fungos nematófagos são microrganismos benéficos que oferecem muitas vantagens no controle de nematoides parasitas de animais e plantas em

comparação com anti-helmínticos pesticidas químicos. Esses microrganismos não causam resistência e além deste fato, também não contaminam o solo e a água após sua eliminação (MENDOZA-DE GIVES, *et al.*, 2022).

3.6 Fungo *Duddingtonia flagrans*

O fungo *Duddingtonia flagrans* apontado como predador de nematoides, se destaca, pois possuem estruturas chamadas de conídios e massas miceliais que resistem a passagem pelo trato gastrintestinal dos animais, e também existe uma supremacia dos clamidósporos na manutenção da atividade nematófaga. A atividade nematófaga do fungo tem sido normalmente pela administração de péletes por via oral. Esta formulação tem se mostrado eficaz, tanto no aspecto econômico tanto como no biológico, por propiciar uma proteção em animais domésticos e transgir que estes organismos sejam propagados no meio ambiente. A utilização destes fungos como agentes predadores de helmintos, necessita da sua presença no bolo fecal dos hospedeiros, para a possível redução das formas infectantes neste microecossistema e consequentemente na pastagem. (BRAGA; ARAÚJO, 2014).

Os fungos apresentam dois tipos de esporos: conídios com paredes delgadas em conidióforos retos e em quantidade limitadas, sua forma pode variar de elíptico a ovoide com septo mediano (MOTA *et al.*, 2003), ou clamidósporos (esporos de paredes grossas mais resistentes). Esses clamidósporos são estruturas extremamente resistentes para suportar as condições adversas, e durante a passagem pelo trato gastrintestinal dos animais, e em seguida germinar e colonizar as fezes, reduzindo então as L3 nas pastagens (FAEDO *et al.*, 2002; BRAGA *et al.*, 2009). Sendo assim, ao ingerir o fungo ocorre a eliminação dos mesmos juntamente com o conteúdo fecal. Os fungos colonizam as fezes frescas de equinos, em condições climáticas ideais, sendo também comum a sua ingestão durante o pastoreio, e posteriormente excretados nas fezes (LARSEN, 2000).

Os possíveis efeitos adversos da administração de *D. flagrans* aos animais foram estudados por Madeira de Carvalho (2007). O referido pesquisador atestou, por meio de avaliação de parâmetros hematológicos e

bioquímicos que o fungo não causa efeitos adversos quando administrado via oral à equinos.

3.7 Fungo *Pochonia chlamydosporia*

Pochonia chlamydosporia é um deuteromiceto, um parasita facultativo de ovos de nematoide, pertencente a um grupo de bacteriófagos helmínticos denominado "ovites". Suas características morfológicas são: o micélio forma seu micélio septal e produz esporos em um saco fechado, denominado ascósporos.

Possui várias formas de conídios, desde ovais, esféricos e às vezes em forma de bacilo, com pequenos conidióforos e hifas diferenciadas, podendo ser em alguns casos esporos retos, de paredes espessas, de paredes espessas e morfologia tridimensional (GAMS; ZAIRE, 2001). Essa espécie parasita ovos de helmintos por meio de estruturas chamadas de opressores e, quando em contato com esses ovos, são formados a partir de hifas indiferenciadas. Por ser um fungo ovicida e por obter nutrientes da matéria orgânica e da decomposição, não depende da presença contínua de ovos de vermes no meio de cultura para se manter. Este fungo pode parasitar os ovos de uma variedade de vermes e moluscos, e acredita-se que sua variabilidade genética seja extensa. Esse fato pode estar relacionado à interação de vários hospedeiros e sua eficácia no controle biológico desses patógenos (KERRY *et al.*, 2008).

O fungo *P. chlamydosporia* se adapta a diferentes condições climáticas (SANTIAGO *et al.*, 2006). Cresce bem no meio, com temperatura média de 24 e 32 °C (LYSEK *et al.*, 1982). Portanto, podem ser usados em áreas com diferentes condições climáticas sem afetar seu crescimento (SANTIAGO *et al.*, 2006).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Local e Desenvolvimento

O estudo foi realizado na Fazenda Córrego Seco, localizada no município de Castilho – SP (latitude 20°52'09.0" sul, longitude 51°29'22.9" oeste), conveniada com a Faculdade de Ciências Agrárias e

Tecnológicas (FCAT), UNESP - Campus de Dracena, no período de novembro de 2020 a novembro de 2021.

4.2 Delineamento Experimental

Foram utilizadas 36 equinos fêmeas, adultas, da raça Quarto de Milha, identificadas por números, nomes e resenha. Os animais foram distribuídos em 3 grupos com 12 animais cada, sendo o delineamento inteiramente casualizado. Cada grupo permaneceu em um piquete separado dos demais grupos, sendo semelhantes, e com pastagens naturalmente infestadas por helmintos, formadas por *Cynodon* e *Paspalum atratum*. Todos animais receberam tratamento anti-helmíntico com abamectina 1% por via oral 28 dias antes do início do experimento, para apresentarem homogeneidade na carga parasitária. Também foram pesados por uma balança eletrônica, no início do estudo e a cada 28 dias para monitoramento de peso. Os grupos foram distribuídos da seguinte forma:

- **Grupo controle:** os animais foram tratados diariamente com concentrado farelado para equinos fabricado por Premix, sendo fornecido 500g para cada animal.

- **Grupo tratado com fungos:** os animais eram tratados com o produto BiovermPlus® fabricado pela empresa Cinergis, com 1g/10 Kg de peso corporal, contendo 10^5 clamidósporos dos fungos *D. flagrans* e *P. chlamydosporia*, administrados diariamente, juntamente com 500g para cada animal de concentrado farelado para equinos – Premix (Figura 1).

- **Grupo tratado com abamectina:** tratados a cada 3 meses, com o anti-helmíntico à base de abamectina 1% – Animax Gel® 10g, na dosagem de 2g para cada 100 kg de peso corporal apresentação em pasta fornecido por via oral, e 500g para cada animal de concentrado farelado para equinos – Premix diariamente.

Foi preconizado a administração do anti-helmíntico abamectina, naqueles indivíduos que independentemente do grupo apresentaram valor de OPG a partir de 1000, para a sanidade dos animais utilizados no experimento.

O uso de animais foi aprovado pelo Comitê de Ética e Uso de Animais da Faculdade de Engenharia da UNESP / Dracena, de acordo com as normas internacionais de uso de animais em pesquisa (certificado de autorização número 05/2020. R1 – CEUA).

Figura 1 - Animais do grupo fungo sendo tratados com *Bioverm Plus*.



Fonte: Elaborado pela autora.

4.3 Formulação fúngica

Foi avaliada uma formulação composta com 10^5 clamidósporos por grama do fungo *Duddingtonia flagrans* e 10^5 clamidósporos do fungo *Pochonia chlamydosporia Bioverm plus*. O produto utilizado, foi em forma de pó de fina granulometria, embalados em sacos de polipropileno de cor cristal, hermeticamente lacrados e mantidos em temperatura ambiente ao abrigo da luz solar direta. Sendo fornecido pela empresa Cinergis Saúde e Nutrição Animal Ltda.

4.4 Coleta de fezes e exames coproparasitológicos

As amostras de fezes foram coletadas no D0 e a cada 28 dias, diretamente da ampola retal de cada animal. As foram amostras acondicionadas em sacos plásticos, com identificação dos animais e mantidas em caixa térmica com gelo químico, até sua chegada ao laboratório. Posteriormente, eram refrigeradas até o momento das análises, que ocorreriam em um prazo máximo de até 24 horas. Para os exames de contagem de ovos por grama de fezes (OPG), utilizou-se a câmara de McMaster, segundo a técnica de Gordon e Whitlock (1939) modificada. Esta técnica, constitui-se em diluir 4 gramas de fezes, seguido da homogeneização, em 56 ml de solução salina hiper saturada (NaCl), para que ocorra a suspensão dos ovos. Em seguida a suspensão é filtrada e colocada na câmara de Mc Master. Assim, a contagem de ovos era efetuada e o resultado multiplicado por 50, expressando o número final em ovos por grama de fezes.

O cultivo de larvas infectantes nas fezes e a extração das larvas foram realizados pelo método de Roberts e O'Sullivan (1950). Esta técnica consiste em colocar 50-60 gramas de fezes em copos de plástico descartáveis, umedecer e cobrir as amostras com um papel alumínio perfurado e posteriormente colocá-las na estufa (BOD) durante 14 dias à temperatura de 26 -28⁰C e umidade relativa de 70- 80%. Após os 14 dias, o copo com as fezes deverá ser preenchido com água e invertido sobre uma placa de Petri, a qual será também será preenchida por água morna. Posteriormente será acondicionada em um tubo de ensaio após 24 horas, serão tampados e armazenados em refrigerador a 4-5⁰C até contagem e identificação larval segundo Madeira de Carvalho (2001) dos diferentes gêneros e/ou espécies, sempre que possível com base na contagem de 100 exemplares.

As análises foram realizadas no Laboratório de Parasitologia e Sanidade Animal da Faculdade de Zootecnia UNESP / Dracena - SP.

Figura 2 - Coleta de fezes diretamente da ampola retal dos equinos.



Fonte: Elaborado pela autora.

4.5 Larvas infectantes recuperadas na pastagem

Para a recuperação de larvas das pastagens, as amostras foram coletadas nos 3 piquetes dos 3 grupos em “Z” a partir de 5 pontos alternados, de acordo com Taylor (1939) e Raynaud e Gruner (1982). As amostras eram pesadas e reservadas 200g de pastagem de cada piquete dos grupos, que posteriormente eram acondicionadas em estufa a 65°C durante 72 horas para obter a matéria seca que era utilizada para recuperar as larvas infectantes (L3).

O sedimento foi examinado em microscópio óptico e contagem e identificação das larvas segundo os critérios estabelecidos por Madeira de Carvalho (2001).

Figura 3 - Coleta de pasto a 20 cm de distância do bolo fecal.



Fonte: Elaborado pela autora.

4.6 Análise microbiológica das fezes

As análises microbiológicas das fezes foram efetuadas por meio das fezes obtidas nas coletas a cada 28 dias, sendo estas coletadas e armazenadas como descrito anteriormente na técnica de OPG. Posteriormente realizadas no Laboratório de Parasitologia da Faculdade de Zootecnia UNESP/ Dracena – SP, em duplicatas a partir de pools de cada grupo em que foram utilizados o método de contagem em placas (SILVA *et al.*, 1997; HAJDENWURCEL, 1998). Para a avaliação de bactérias totais, 5g da amostra composta de fezes de cada grupo eram diluídos em 45ml de solução salina esterilizada, seguido de diluições decimais em série de 10⁵, e 0,1 ml de alíquotas serão transferidas para placas de Petri contendo aproximadamente 15 ml de meio de cultura Agar nutriente, e incubadas em BOD. Mantidas em temperatura de 27°C +/- 1°C e umidade 55% +/- 19 5% por 48h. Para a quantificação das bactérias, e utilizando o método UFC (unidade formadora

de colônia) que, para Franco e Landgraf (1996), é a mais utilizada nos laboratórios de análise, pois diferentes grupos de microrganismos podem ser enumerados de acordo com o meio de cultura e/ou as condições de incubação empregadas, consistindo em identificar e contar as colônias viáveis presentes nas placas.

4.7 Dados climáticos

As informações sobre precipitação, umidade relativa e temperatura média, mínima e máxima foram obtidas a partir dos registros da estação meteorológica de Castilho, SP, localizada a 5 km do local do experimento, uma parceria da Embrapa Solos com a usina Virálcool – Unidade II (empresa de açúcar e etanol) e a UDOP (União dos Produtores de Bioenergia).

4.8 Análise estatística

Todos os dados foram submetidos ao teste de normalidade Shapiro-Wilk e transformados usando $\log_{10}(x+1)$ quando necessário, que foi o caso de OPG e L3/kg de MS. Os dados foram analisados por ANOVA com medidas repetidas no tempo para OPG, L3/kg de MS e UFC usando o modelo Linear Generalizado (GLM). As médias foram comparadas pelo teste de Tukey. Valores de $p \leq 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos.

5 RESULTADOS

5.1 Ovos por grama de fezes

No início do experimento, os três grupos apresentaram médias semelhantes na contagem de ovos por grama de fezes, o que reflete a homogeneidade dos grupos (Tabela 1). Também é possível observar, que no primeiro trimestre, nos meses de novembro, dezembro e janeiro, os três grupos não apresentaram diferença estatística significativa ($p < 0,05$). Após o terceiro mês de tratamento, em fevereiro, observou-se que apenas o grupo abamectina apresentou diferença significativa em relação ao grupo controle e tratado com

fungos. Já no mês de março os grupos controle, tratado com fungo e tratado abamectina, apresentaram, respectivamente 634, 200 e 245 de médias de OPG, sendo possível observar que os grupos tratados diferiram do grupo controle. Em julho os três grupos diferiram significativamente entre si, a maior média (643 OPG) no grupo controle, média de 475 OPG no grupo tratado com fungos e 296 OPG no grupo abamectina. Em setembro observou-se, que somente o grupo abamectina apresentou diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$), com zero de média de OPG. Nos dois últimos meses do estudo (outubro e novembro) o grupo tratado com fungos diferiu significativamente do grupo controle, que, por sua vez, não diferiu do grupo abamectina. Quando analisadas as médias gerais de OPG dos grupos, observou-se que no grupo controle (635) foi maior que do grupo fungo (385) e do grupo abamectina (313), indicando diferença estatística significativa ($p < 0,05$) dos grupos tratados em relação ao grupo controle, mas não diferindo entre si.

Tabela 1 - Média, erro padrão médio (EPM) da contagem de ovos por grama de fezes (OPG) do grupo controle, grupo tratado com fungos e grupo abamectina, de novembro de 2020 a novembro de 2021, em Castilho, São Paulo, Brasil.

Mês	OPG		
	Controle	Fungos	Abamectina
Nov	108 ($\pm 42,3$)	104 ($\pm 45,2$)	117 ($\pm 46,6$)
Dez	447 ($\pm 117,5$)	321 ($\pm 92,0$)	427 ($\pm 199,8$)
Jan	641 ($\pm 144,8$)	779 ($\pm 160,9$)	581 ($\pm 124,9$)
Fev	791 ($\pm 125,8$) a	700 ($\pm 191,8$) a	704 ($\pm 150,6$) a *
Mar	634 ($\pm 100,6$) a	200 ($\pm 70,4$) b	179 ($\pm 67,2$) b
Abr	1075 ($\pm 147,3$)	500 ($\pm 124,0$)	742 ($\pm 136,3$)
Mai	747 ($\pm 112,1$) a	600 ($\pm 168,8$) a	279 ($\pm 78,2$) b *
Jun	706 ($\pm 76,4$) a	433 ($\pm 151,6$) a	20 ($\pm 16,8$) b
Jul	643 ($\pm 84,4$) a	475 ($\pm 292,1$) b	296 ($\pm 109,8$) c
Ago	590 ($\pm 71,3$) a	133 ($\pm 52,0$) b	246 ($\pm 68,9$) ab *
Set	637 ($\pm 100,4$) a	346 ($\pm 104,3$) a	0 b
Out	467 ($\pm 73,4$) a	183 ($\pm 88,4$) b	208 ($\pm 149,5$) ab
Nov	764 ($\pm 96,0$) a	233 ($\pm 109,3$) b	496 ($\pm 200,1$) ab
MÉDIA GERAL	635 a	385 b	313 b

Médias aritméticas com letras distintas na mesma linha se diferem significativamente pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

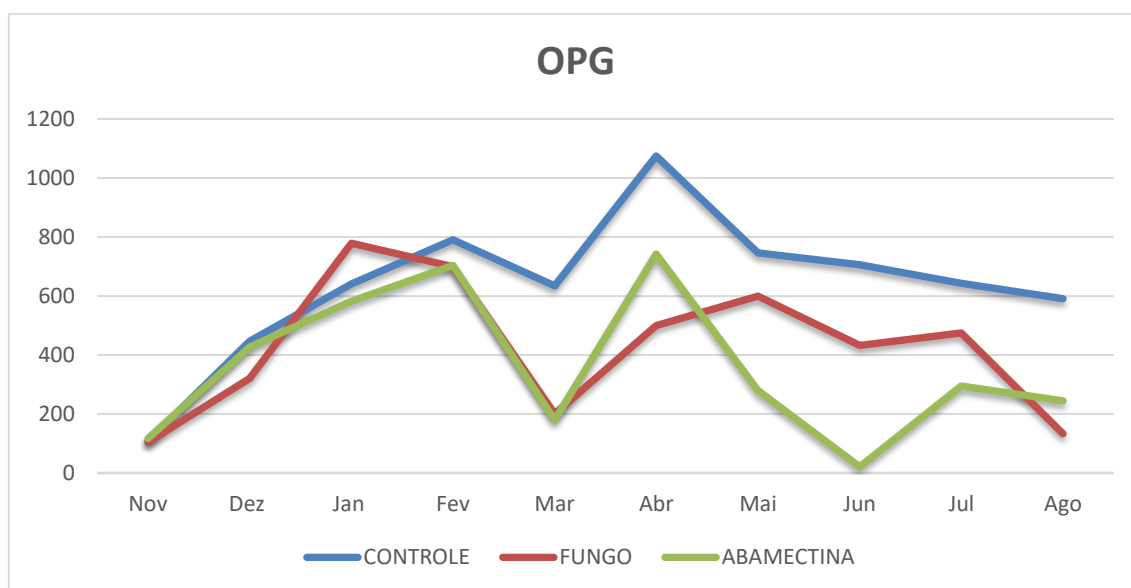
(*) meses de aplicação da abamectina no grupo abamectina.

Fonte: elabora pela autora.

A dinâmica das contagens de ovos por gramas de fezes dos três grupos está representada na Figura 4. O grupo controle se manteve com médias de OPG superiores aos dos grupos tratados em quase todo o período experimental. Os dois grupos tratados apresentaram as médias em níveis semelhantes.

Destacando reduções dos valores de OPG nos meses de março, junho e setembro, após as aplicações da abamectina em todos os animais do grupo abamectina.

Figura 4 - Média de ovos por grama de fezes em equinos do grupo controle, do grupo tratado com fungos e do grupo abamectina, de novembro de 2020 a novembro de 2021, em Castilho, São Paulo, Brasil.



Fonte: Elaborado pela autora.

Conforme descrito anteriormente, além do tratamento anti-helmíntico no grupo abamectina a cada três meses, ficou preconizada a administração da abamectina em todos os animais do experimento que apresentassem valores da contagem de OPG igual ou superior a 1000. Sendo assim, a Tabela 2 apresenta a quantidade de animais e os meses nos quais foram realizadas as aplicações. Desta forma, foi possível observar que após o início do experimento, no grupo controle, todos os meses haviam animais com necessidade de aplicações da abamectina, que variou de 1 a 5 animais por mês. No grupo fungo, diferente dos demais grupos, os animais demoraram mais para apresentar a necessidade de aplicação da abamectina, pois somente no terceiro mês (fevereiro) houve aplicação, variando de 1 a 2 animais apresentando necessidade, e em 4 ocasiões durante o período experimental nenhum dos animais pertencentes a este grupo necessitou de anti-helmíntico. No grupo tratado com abamectina,

assim como o grupo controle, houveram animais que necessitaram das aplicações um mês após o início do experimento, sendo que variou de 1 a 4 animais necessitados, e apenas em 3 ocasiões não houve necessidade de aplicação da abamectina. No entanto, no grupo abamectina houve necessidade de 10 aplicações além dos meses preconizados (fevereiro, maio, agosto e novembro). E de maneira geral, os animais deste grupo apresentaram uma diferença grande no número de aplicações, totalizando 58, seguido do grupo controle com 26 aplicações, e do grupo tratado com fungos, com 12 aplicações no período experimental.

Tabela 2 - Número de equinos tratados individualmente com abamectina[#] no grupo controle, no grupo tratado com fungos e no grupo abamectina, de novembro de 2021 a novembro de 2021, em Castilho, São Paulo, Brasil.

Mês	Controle	Fungos	Abamectina
Nov	0	0	0
Dez	2	0	1
Jan	2	1	2
Fev	2	2	12*
Mar	1	0	0
Abr	5	2	4
Mai	2	1	12*
Jun	2	2	0
Jul	2	2	2
Ago	1	0	12*
Set	3	1	0
Out	1	0	1
Nov	3	1	12*
TOTAL	26	12	58

[#]Tratamento individual era realizado sempre que o animal apresentava contagem superior a 1000 OPG.

(*) aplicações de abamectina em todos os animais do grupo abamectina a cada três meses.

5.2 Coprocultura

A Tabela 3 apresenta os valores percentuais de pequenos e grandes estrôngilos recuperados das fezes a partir das coproculutras. Inicialmente, os três grupos apresentaram prevalência de 100% de pequenos estrôngilos (ciatostomíneos), permanecendo, desta forma, nos meses de novembro a julho. Nos dois grupos tratados, houve 100% de prevalência de pequenos estrôngilos durante todo o período experimental. Enquanto que, para grandes estrôngilos as quantidades recuperadas foram extremamente baixas, sendo encontradas após 8 meses de estudo, somente no grupo controle, com aumento gradativo, sendo nos meses de agosto (1%), setembro (3%), outubro (5%) e novembro (17%) de prevalência. Portanto, não sendo encontrado a presença de grandes estrôngilos nos dois grupos tratados.

Tabela 3 - Valores percentuais de larvas infectantes de pequenos e grandes estrôngilos recuperadas a partir de coproculturas com fezes de animais pertencentes ao grupo controle, grupo tratado com fungos e grupo abamectina de novembro de 2020 a novembro de 2021, em Castilho, São Paulo.

Mês	Pequenos Estrôngilos			Grandes Estrôngilos		
	Controle	Fungos	Abamectina	Controle	Fungos	Abamectina
Nov	100%	100%	100%	0%	0%	0%
Dez	100%	100%	100%	0%	0%	0%
Jan	100%	100%	100%	0%	0%	0%
Fev	100%	100%	100%	0%	0%	0%
Mar	100%	100%	100%	0%	0%	0%
Abr	100%	100%	100%	0%	0%	0%
Mai	100%	100%	100%	0%	0%	0%
Jun	100%	100%	100%	0%	0%	0%
Jul	100%	100%	100%	0%	0%	0%
Ago	99%	100%	100%	1%	0%	0%
Set	97%	100%	100%	3%	0%	0%
Out	95%	100%	100%	5%	0%	0%
Nov	83%	100%	100%	17%	0%	0%

5.3 Larvas infectantes recuperadas na pastagem

Conforme demonstrado na Tabela 4, os três grupos iniciaram o estudo apresentando médias semelhantes de larvas infectantes recuperadas na pastagem (L3). Já no segundo mês (dezembro), os três grupos apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) entre si. Em março houve diferença significativa entre os grupos controle e tratado com fungos, sendo que o grupo abamectina não diferiu destes. Sendo assim, durante todo o período estudado, o grupo tratado com fungos apresentou valores médios de larvas infectantes recuperadas nas pastagens menores que o grupo controle e tratado abamectina. A média geral apresentada, no grupo controle foi 2267, grupo tratado com fungos

1100 e o no grupo abamectina 3115, indicando que, os três grupos diferiram significativamente ($p < 0,05$) entre si, sendo o grupo tratado com fungos com menor média geral de larvas infectantes recuperadas nas pastagens.

Tabela 4 - Média e erro padrão da média (EPM) do número de larvas infectantes por quilograma de matéria seca (Kg.MS) recuperadas a partir da pastagem de um piquete do grupo controle, um do grupo tratado com fungos e um do grupo abamectina, coletados de novembro de 2020 a novembro de 2021, em Castilho, São Paulo.

Mês	L3/KG.MS		
	Controle	Fungos	Abamectina
Nov	120 ($\pm 34,6$)	153 (± 0)	135 (± 0)
Dez	238 ($\pm 8,8$) c	355 ($\pm 12,4$) b	540 ($\pm 11,8$) a
Jan	7444 ($\pm 704,1$)	2163 ($\pm 969,0$)	9905 ($\pm 149,5$)
Fev	7672 ($\pm 235,2$)	2325 ($\pm 80,67$)	7672 ($\pm 4181,8$)
Mar	3430 ($\pm 231,2$) a	718 ($\pm 209,23$) b	2833 ($\pm 1031,6$) ab
Abr	1818 ($\pm 194,5$) ab	423 ($\pm 151,8$) b	2032 ($\pm 1736,4$) a
Mai	1686 ($\pm 123,6$) a	84 ($\pm 54,7$) b	3810 ($\pm 1933,4$) a
Jun	6265 ($\pm 495,5$)	4837 ($\pm 3659,9$)	8801 ($\pm 1878,1$)
Jul	271 ($\pm 27,8$) b	260 ($\pm 44,37$) b	486 ($\pm 37,6$) a
Ago	407 ($\pm 3,7$) a	251 ($\pm 14,4$) b	470 ($\pm 15,27$) a
Set	304 ($\pm 9,8$) b	0 c	625 ($\pm 92,5$) a
Out	919 ($\pm 138,6$)	436 ($\pm 7,13$)	675 ($\pm 33,3$)
Nov	922 ($\pm 33,2$) a	295 ($\pm 53,7$) b	510 ($\pm 9,8$) a
Média Geral	2267 b	1100 a	3115 c

Médias aritméticas com letras distintas na mesma linha diferem significativamente pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

5.4 Microbiologia das fezes

A Tabela 5 apresenta os valores médios de UFC/ml dos três grupos. Observou-se que as médias iniciais foram semelhantes nos três grupos, nos dois primeiros meses (novembro e dezembro), não diferindo significativamente entre si. O grupo tratado com fungos obteve valores médios mensais de UFC/ml superiores aos outros grupos, durante quase todo período experimental, com exceção somente nos meses de abril e maio, após as aplicações da abamectina em alguns animais pertencentes ao grupo (Tabela 2). A média geral de UFC/ml apresentada, pelos grupos foram, 147 no grupo controle, 207 no grupo tratado com fungos e 84 no grupo abamectina. Portanto, os três grupos diferiram significativamente ($p < 0,05$) entre si, sendo o grupo abamectina com a menor média geral de UFC/ml, provavelmente devido ao maior número de aplicações da abamectina neste grupo, seguido do grupo controle que também sofreu influência dos tratamentos com a abamectina, com mais frequência de aplicações em relação ao grupo tratado com fungos sendo que este, apresentou as maiores médias de UFC/ml, devido ao menor número de aplicações da abamectina neste grupo.

Tabela 5. - Média e erro padrão da média (EPM) das unidades formadoras de colônias (UFC), do grupo controle, grupo tratado com fungos e grupo abamectina, no período de novembro de 2020 a novembro de 2021.

Mês	UFC/ml		
	Controle	Fungos	Abamectina
Nov	203 ($\pm 40,0$)	295 ($\pm 5,0$)	209 ($\pm 9,0$)
Dez	243 ($\pm 52,5$)	280 ($\pm 10,0$)	162 ($\pm 11,0$)
Jan	478 ($\pm 22,0$) a	319 ($\pm 23,0$) b	219 ($\pm 21,0$) b *
Fev	22 ($\pm 0,50$) b *	339 (± 0) a *	111 ($\pm 74,5$) ab *
Mar	15 ($\pm 0,5$) b	27 (± 0) a	3 ($\pm 0,5$) c
Abr	190 ($\pm 0,5$) a *	9 ($\pm 0,5$) b *	37 ($\pm 27,5$) b *
Mai	160 ($\pm 20,0$) a *	8 ($\pm 0,5$) b	1 (± 0) b
Jun	150 ($\pm 25,0$)	400 ($\pm 104,5$) *	288 ($\pm 8,0$)
Jul	7 ($\pm 0,5$)	25 ($\pm 10,5$)	7 ($\pm 0,5$) *
Ago	3 ($\pm 0,5$) b *	600 (± 0) a	2 ($\pm 0,5$) b *
Set	300 (± 0) a	300 ($\pm 10,0$) a *	38 ($\pm 0,5$) b
Out	12 ($\pm 7,0$)	10 (± 0)	3 ($\pm 1,0$)
Nov	38 ($\pm 16,0$)	82 ($\pm 16,0$)	15 (± 0) *
Média Geral	147 b	207 a	84 c

Médias aritméticas com letras distintas na mesma linha se diferem significativamente pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

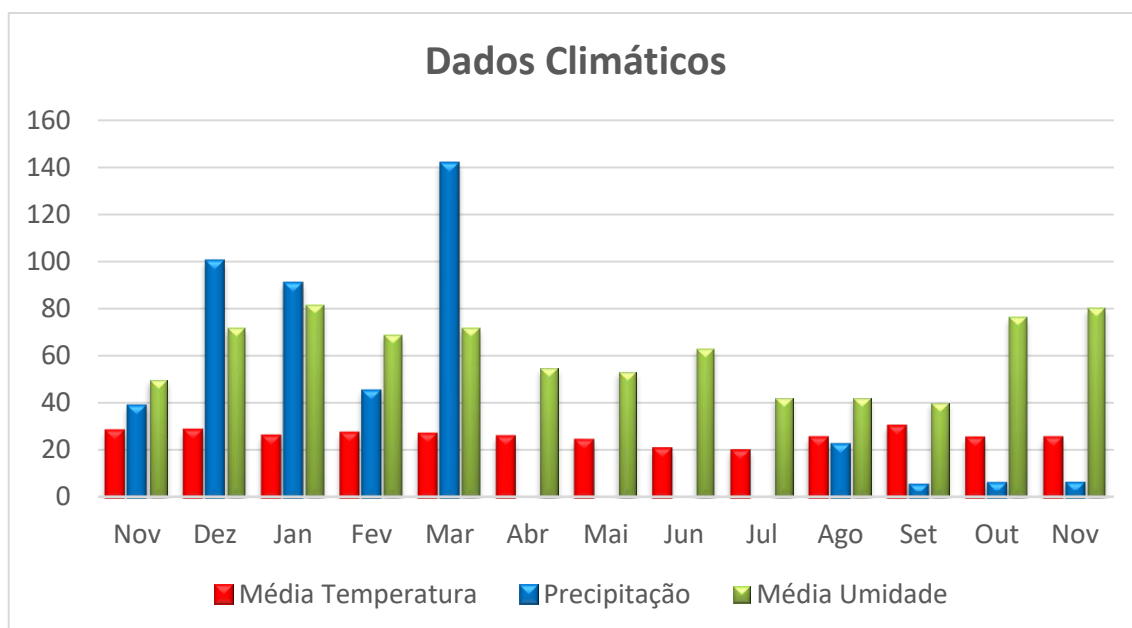
(*) indica os meses que alguns animais receberam aplicações da abamectina.

5.5 Dados Climatológicos

Os dados climáticos do município Castilho – SP, obtidos durante o período experimental, estão representados na Figura 5, apontando os maiores índices médios de temperatura, precipitação pluviométrica e umidade relativa do ar nos primeiros meses de estudo, de novembro a março. Não foram registradas precipitações pluviométricas nos meses de abril, maio, junho e julho (período seco). Houve retorno de período com chuvas no mês de agosto, porém com

baixas precipitações pluviométricas até o mês último mês do estudo (novembro). Portanto, observou-se que nos meses com temperaturas mais elevadas (primeiros meses) do ano, houve também, os maiores índices de chuva, e nos meses onde as temperaturas foram mais baixas ocorreu o período de carência das chuvas.

Figura 5 - Precipitação pluviométrica mensal (mm), médias de temperatura (°C) e umidade relativa do ar (%) de novembro de 2020 a novembro de 2021, em Castilho, São Paulo, Brasil.



Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

6 DISCUSSÃO

6.1 Ovos por gramas de fezes

A conduta de aplicação do anti-helmíntico abamectina, em todos os animais, antes de iniciar o experimento, refletiu na homogeneidade dos valores médios de OPG apresentados pelos três os grupos na fase inicial do estudo. A diminuição das médias de OPG no grupo tratado com fungos, a partir do quarto mês de estudo foi observada após redução das larvas infectantes recuperadas nas pastagens. Assim como, em estudos realizados por Larsen *et al.* (1996), onde utilizaram o fungo *D. flagrans* em potros mantidos em pastagem, relataram diferença significativa nas médias de OPG somente após 5 meses de estudo. Braga *et al.* (2009), em seu estudo realizado durante 6 meses avaliando o uso de *D. flagrans* em éguas mantidas em pastagem, também observaram diferença significativa nas médias de OPG a partir do terceiro mês, assim como apresentado neste estudo.

Os agentes controladores biológicos possuem seu modo de ação diferente do tratamento químico, que por sua vez, atua diretamente na redução dos valores de OPG, já no caso dos fungos, Fausto (2019) afirma que a utilização dos fungos controladores biológicos de nematoides, não se espera redução do OPG nos primeiros meses de tratamento, já que o resultado, é consequência da redução da infestação de larvas infectantes na pastagem, que se tornará menor ao longo do período de tratamento.

Não é possível afirmar qual dos fungos apresentou maior atividade predatória, mas é provável que *D. flagrans* tenha influenciado na atividade predatória das L3, e *P. chlamydosporia* tenha influência na redução do OPG do grupo tratado com fungos quando comparado ao grupo controle. Segundo Mauchline *et al.* (2003). o fungo *P. chlamydosporia* tem sido implicado como predador de vários gêneros de helmintos, e a capacidade de parasitar ovos de helmintos através de suas estruturas, quando em contato com os mesmos. Diante do exposto, é possível afirmar que a utilização dos fungos requer um tratamento com menor necessidade de aplicações de anti-helmíntico, Campos *et al.* (2008) afirma que um dos pontos favoráveis ao uso dos fungos

nematófaos no controle de helmintos gastrointestinais, é a redução do uso de anti-helmínticos comerciais.

6.2 Coprocultura

A prevalência dos pequenos estrôngilos (ciatostomíneos) observada, nos três grupos do presente estudo, principalmente nos grupos tratados, segundo Kaplan e Nielsen (2010) está relacionado, à alta capacidade de adaptação destes nematoides às novas moléculas e tipos de tratamentos. De acordo com, Barbosa *et al.* (2001); Pereira e Vianna (2006), os ciatostomíneos são encontrados com mais prevalência e com maior intensidade parasitária em equinos no Brasil, representando de 80-100% da carga parasitária total. E comumente são os mais encontrados em animais criados a campo (REINEMEYER; NIELSEN, 2013), assim como os animais do presente estudo, que foram mantidos em pastagens naturalmente infectadas.

A presença exclusiva de pequenos estrôngilos no grupo tratado com fungos, mostra sua atividade predatória sob as larvas de grandes estrôngilos, os quais foram observados somente no grupo controle, compreendendo assim, a presença de *Strongilus vulgaris*, Andersen *et al.* (2013) que é considerado o nematoide mais patogênico dos grandes estrôngilos, devido a sua extensa migração no sistema arterial mesentérico, a presença destas larvas no sistema arterial causa arterite e trombose, com riscos de comprometimento intestinal.

O grupo controle teve a presença de animais que passaram um longo período sem tratamento anti-helmíntico. E segundo autores, grandes intervalos na utilização dos tratamentos anti-helmínticos, podem favorecer o reaparecimento dos grandes estrôngilos, considerado um parasito de alto grau patogênico (AUSTIN, 1994; ANDERSEN *et al.*, 2013). Logo, a identificação de grandes estrôngilos a partir do oitavo mês de experimento, apenas no grupo controle, está relacionado a este fato, que para Larsen *et al.* (1996), os grandes estrôngilos possuem um período pré-patente relativamente longo, de 6 a 7 meses, diminuindo assim a velocidade de reinfecção. Em estudo realizado por Vera *et al.* (2020), helmintos da espécie *S. vulgaris*, considerados sensíveis as lactonas macrocíclicas, foram encontrados em uma das propriedades estudadas pelo autor, sendo a mesma onde foi realizado o presente estudo.

Atualmente, a resistência aos anti-helmínticos em nematódeos gastrointestinais de equídeos tem se tornado um fenômeno mundial (LESTER *et al.*, 2013; CERNEA *et al.*, 2015; MARTÍNEZ-VALLADARES *et al.*, 2015), este fato justifica a prevalência dos ciatostomíneos em todos os grupos. Chapman *et al.*, (1996), esta distribuição já é esperada, uma vez que os pequenos estrôngilos são mais resistentes a medicações anti-helmínticas disponíveis no mercado.

6.3 Larvas infectantes recuperadas na pastagem

A utilização dos fungos *D. flagrans* e *P. chlamydosporia* reduziu a contaminação de larvas infectantes (L3) recuperadas na pastagem, agindo diretamente no ambiente, a partir do segundo mês de experimento. Em estudo semelhante, realizado por Baudena *et al.* (2000), também teve duração de 12 meses e observaram que *D. flagrans* promoveu redução significativa no número de L3 no segundo mês de uso.

As altas médias de temperatura associada com aumento da precipitação, além de terem promovido maior migração das larvas para a pastagem, também é possível que tenham elevado o crescimento fúngico e, conseqüentemente, aumentam sua atividade predatória. Santos, (2000) afirma, que o fungo *Duddingtonia flagrans*, atinge seu melhor crescimento em temperaturas entre 25°C e 30°C, sendo 30°C a temperatura ótima de desenvolvimento, e as variáveis ambientais também podem afetar diretamente o desenvolvimento do fungo e dos estádios pré-parasíticos dos nematoides gastrintestinais de equinos. Sendo semelhantes as condições climáticas apresentadas no presente estudo, se mostrando favorável ao desenvolvimento dos fungos. Portanto, os fungos *D. flagrans* e *P. chlamydosporia*, mostraram sua atividade no controle biológico de nematoides gastrintestinais de equinos, mesmo sob temperaturas e precipitações mais baixas. Sendo assim, mesmo com o desafio nas pastagens, o grupo tratado com fungos, apresentou menor grau de infestação de larvas infectantes comparado aos outros grupos, devido a ação dos fungos. Pois, proporcionam a redução do número de larvas infectantes no ambiente, e conseqüentemente expondo os animais a uma menor carga parasitária de helmintos (FAUSTO, 2019).

6.4 Microbiologia das fezes

Foi observado no presente estudo que, a utilização do anti-helmíntico abamectina, interfere no desenvolvimento das bactérias presentes nas fezes dos equinos. Pois, após as aplicações nos animais, era observada redução nas médias de UFC/ml, principalmente no grupo abamectina, que apresentou os menores valores médios de UFC, e maior número de animais com aplicações, Floate *et al.*, (2001) afirmam que isto se deve às altas concentrações das lactonas macrocíclicas excretadas nas fezes, principalmente nas primeiras semanas pós-tratamento, pois afetam as populações de fauna coprófaga que mantiveram contato com estas fezes e há espécies vulneráveis mesmo em concentrações mínimas destes fármacos.

Tudo indica que, os fungos não interferiram no desenvolvimento dos microrganismos presentes nas fezes, uma vez que, no grupo tratado com fungos houve somente a redução nos valores de UFC/ml seguido das aplicações necessárias da abamectina em alguns animais do grupo, KNOX *et al.* (2002) comprovaram que *D. flagrans* não promoveu impacto ambiental negativo, quando usado em um sistema de produção a pasto. Os autores observaram que o número de nematoides de vida livre e de microartrópodos não foram reduzidos ($P>0,05$) pelo fungo, como também não foi verificado efeito ($P>0,05$) sobre a presença de outros fungos predadores.

A utilização dos fungos *D. flagrans* e *P. chlamydosporia*, não interferiu no desenvolvimento da população microbiana presente nas fezes como apresentado no grupo abamectina, onde o desenvolvimento dos microrganismos foi influenciado pelas aplicações da abamectina requeridas no período estudado.

Portanto, os distúrbios que as lactonas macrocíclicas podem causar em invertebrados não alvo e sobre a participação dos seus associados na degradação das fezes e no solo são imprevisíveis, podendo influenciar negativamente a biodiversidade e a sustentabilidade dos ecossistemas agrícolas (KOLAR *et al.*, 2006).

7 CONCLUSÃO

A utilização dos fungos *Duddingtonia flagrans* e *Pochonia chlamydosporia* é eficiente no controle de nematoides gastrointestinais de equinos mantidos a pasto, promovendo redução da infestação das pastagens por larvas infectantes e consequentemente o grau de helmintose. Sendo assim, é considerada uma alternativa para minimizar o uso de drogas anti-helmínticas em um programa de controle parasitário em equinos, pois não propicia o impacto no desenvolvimento bacteriano nas fezes provocados pelas lactonas macrocíclicas.

REFERÊNCIAS BIBLOGRAFICAS

ANDERSEN, U. V.; HOWE, D. K.; DANGOUDOUBIYAM, S.; TOFT, N.; REINEMEYER, C. R.; LYONS, E. T. SvSXP: a *Strongylus vulgaris* antigen with potential for prepatent diagnosis. **Parasites & Vectors**, London, v. 6, p. 84, 2013.

ANUALPEC. **Anuário da Pecuária Brasileira**. São Paulo: FNP Consultoria/Agros Comunicação. Anual., 2021. 220 p.

AUSTIN, S. M. Large strongyles in horses. **Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian**, [S.l.], v. 16, n. 5, p 650-657, 1994.

ARAÚJO, J. V.; GOMES, A. P. S.; GUIMARÃES, M. P. Biological control of bovine gastrointestinal nematode parasites in southern Brazil by the nematode – trapping fungus *Arthrobotrys robusta*. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, [S.l.], v. 7, n.2, p. 117-122, 1998.

ARAÚJO, J. V.; STEPHANO, M. A.; SAMPAIO, W. M. Passage of nematode trapping fungi through the gastrointestinal tract of calves. **Veterinary. Arhiv.**, [S.l.], v. 69, n. 2, p. 69-78, 1999.

ARAÚJO, J. V.; MOTA, M. A.; CAMPOS, A.K. Controle biológico de helmintos parasitos de animais por fungos nematófagos. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, [S.l.], v. 13, suplemento 1, p. 165-170, 2004.

BARBOSA, O. F.; ROCHA, U. F.; SILVA, G. S.; SOARES, V. E.; VERONEZ, V. A.; OLIVEIRA, G. P.; COSTA, A. J. A survey on Cyathostominae nematodes (Strongylidae, Strongylidae) in pasture bred horses from São Paulo State, Brazil. Semina: **Ciências Agrárias**, [S.l.], v. 22, n. 1, p. 21-26, 2001.

BARRON, G. L. **The nematode-destroying fungi**. Ontario: Canadian Biological Publications, 1977. 110 p.

BRAGA, F. R.; ARAÚJO, J. V.; SILVA, A. R.; ARAUJO, J. M.; CARVALHO, R. O.; TAVELA, A. O.; CARVALHO, G. R.; CAMPOS, A. K. Biological control of horse cyathostomin (Nematoda: Cyathostominae) using the nematophagous fungus *Duddingtonia flagrans* in tropical southeastern Brazil. **Veterinary Parasitology**, [S.l.], v. 163, p. 335-340, 2009.

BRAGA, F. R.; ARAÚJO, J. V.; CAMPOS, A. K.; CARVALHO, R. O.; SILVA, A. R.; TAVELA, A. O.; MACIEL, A. S. Observação in vitro da ação dos isolados fúngicos *Duddingtonia flagrans*, *Monacrosporium thaumasium* e *Verticillium chlamydosporium* sobre ovos de *Ascaris lumbricoides* (Lineu, 1758). **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, [S.l.], v.40, n.3, p.356-358, 2007.

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

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Revisão do Estudo do Complexo do Agronegócio do Cavalo**. 2016. Disponível em: <https://tinyurl.com/ybjn6er3>. Acesso em: 10 ago. 2021.

CAMPOS, A. K.; ARAÚJO, J. V.; GUIMARÃES, M. P. Interaction between the nematophagous fungus *Duddingtonia flagrans* and infective larvae of *Haemonchus contortus* (Nematoda: Trichostrongyloidea). **Journal of Helminthology**, [S.l.], v. 82, p. 337-341, 2008.

CARVALHO, R. O.; ARAÚJO, J. V.; BRAGA, F. R.; FERREIRA, S. R.; ARAUJO, J. M.; SILVA, A. R. E.; FRASSY, L. N.; ALVES, C. D. F. Control of Ancylostomosis in dogs using the nematode-trapping fungus *Monacrosporium thaumasium* in southeastern Brazil. **Veterinary Parasitology**, [S.l.], v. 165, p. 179-183, 2009.

CHAPMAN, M. R.; FRENCH, D. D.; MONAHAN, C. M.; KLEI, T. R. Identification and characterization of a pyrantel pamoate resistant cyathostome population. **Veterinary Parasitology**, [S.l.], v. 66, n. 3-4, p. 205, 1996.

CONDER, G. A.; CAMPBELL, W. C. Chemotherapy of nematode infections of veterinary importance, with special reference to drug resistance. **Advances in Parasitology**, v.35, p.1-83, 1995.

COURTNEY, C. H. Seasonal transmission of equine cyathostomin in warm climates. **Veterinary Parasitology**, [S.l.], v. 85, p. 173–180, 1999.

DIAS, W. P.; FERRAZ, S. Crescimento e esporulação de *Arthrobotrys* spp. em diferentes substratos, meios de cultura, pH e níveis de temperatura. **Nematol. Bras.**, [S.l.], v.17, p. 168-181, 1995.

ENGLISH, A. W. The epidemiology of equine strongylosis in southern Queensland: 1. The Bionomics of the free-living stages in faeces and on pasture. **Australian Veterinary Journal**, [S.l.], v. 55, p. 299-305, 1979.

FAEDO, M.; LARSEN, M.; DIMANDER, S. O.; YEATES, G. W.; HÖGLUND, J.; WALLER, P. J. Growth of the Fungus *Duddingtonia flagrans* in soil surrounding feces deposited by cattle or sheep fed the fungus to control nematode parasites. **Biological Control**, [S.l.], v. 23, p. 64-70, 2002.

FAUSTO, G. C. S. **Formulação do fungo *Duddingtonia flagrans* em farelo de arroz no controle de nematoides parasitos gastrintestinais de bovinos e equinos**. 2019. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2019.

FERNÁNDEZ, A. S.; HENNINGSEN, E.; LARSEN, M.; NANSEN, R.; GRØNVOLD, J.; SØNDERGAARD, J. A new isolate of the nematophagous fungus *Duddingtonia flagrans* as biological control agent against free-living larvae of horse strongyles. **Equine Veterinary Journal**, [S.l.], 31, p. 488–491, 1999.

- FLOATE, K. D.; SPOONER, R.; COLWELLI, D. Larvicidal activity of endectocides against pest flies in the dung of treated cattle. **Medicine Veterinary Entomology**, [S.l.], v. 15, p. 117–120, 2001.
- FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRA F. M. **Microbiologia de alimentos**. São Paulo: Atheneu, 1996. p. 182.
- FRITZEN, B. ROHN, K.; SCHNEIDER, T. Endoparasite control management on horse farms-lessons from worm prevalence and questionnaire data. **Equine Veterinary Journal**, London, v. 42, n. 1, p. 79-83, jan. 2010.
- GAUGLER, R.; BILGRAMI, L. A. **Nematode behavior**. Wallingfors:, CAB Publishing, 2004. p. 219.
- GAMS, W.; ZARE, R. A revision of *Verticillium* sect: *prostrata* III. **Generic classification**, [S.l.], v. 73, p. 329-337, 2001.
- GORDON, H. M.; WHITLOCK, H. V. A new technique for counting nematode eggs in sheep faeces. **Journal of the Council for Scientific Industrial Research**, [S.l.], v. 12, p. 50-52, 1939.
- GRONVOLD, J.; WOLSTRUP, J.; LARSEN, M.; HENRIKSEN, S. A.; NANSEN, P. Aspects of biological control with special reference to arthropods, protozoans and helminthes of domesticated animals. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 64, p. 47-64, 1996.
- HAJDENWURCEL, J. R. **Atlas de microbiologia de alimentos**. São Paulo: Fonte Comunicações, 1998. p. 66.
- HODGKINSON J. E.; CLARK H. J.; KAPLAN R. M.; LAKE S. L.; MATTHEWS J. B. The role of polymorphisms at beta tubulin isotype 1 codons 167 and 200 in benzimidazole resistance in *cyathostomins*. **International Journal for Parasitology**, [S.l.], v. 38, p. 1149-1160, 2008.
- HONER, M. R.; BIANCHIN, I. **Vermínose equina**: sugestões para um melhor controle em animais de fazenda. Campo Grande: EMBRAPA – CNPGC, 1995. 4 p. (Comunicado Técnico, n. 28). Disponível em: <http://www.cnpqc.embrapa.br/publicacoes/cot/CoT28.html>. Acesso em: 30 mar. 2022.
- IBEQUI - INSTITUTO BRASILEIRO DE EQUIDEOCULTURA. **Perfil Institucional**. 202. Disponível em: https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/camaras-setoriais-tematicas/documentos/camaras-setoriais/equideocultura/reuniao-ordinaria-da-cs-equideocultura/37a-ro/ibequi_perfil_fev21.pdf. Acesso em: 20 nov. 2021.
- KAPLAN, R. M. Anthelmintic resistance in nematodes of horses. **Veterinary Research**, Les Ulis, v. 33, n. 5, p. 491-507, Sept./Oct. 2002.
- KAPLAN, R. M.; NIELSEN, M. K. An evidence-based approach to equine parasite control: itain't the 60s anymore. **Equine Veterinary Education**, Newmarket, v. 22, n. 6, p. 306-316, June 2010.

KNOX, M. R.; JOSH, P. F.; ANDERSON, L. J. Deployment of *Duddingtonia flagrans* in an improved pasture system: dispersal, persistence, and effects on free-living soil nematodes and microarthropods. **Biological Control**, [S.l.], v. 24, n. 2, p.176-182, 2002.

KOLAR, L.; FLAJS, V. C.; KUZNER, J.; MARC, I.; POGACNIK, M.; BIDOVEC, A.; VANGESTEL, C. A. M.; ERZEN, N. K. Time profile of abamectin and doramectin excretion and degradation in sheep faeces. **Environmental Pollution**, [S.l.], v.144, p.197-202, 2006.

LAGAGGIO, V. R. A.; JORGE, L. L. OLIVEIRA, V.; FLORES, M. L.; SILVA, J. H. **Achados de formas parasitárias em camas de equinos**. Santa Maria: [s.n.], 2007.

LAVELLE, P.; SPAIN, A. V. **Soil ecology**. Dordrecht: Kluwer Academic, 2001. p.654.

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

LARSEN, M.; NANSEN, P.; GRØNDAHL, C.; THAMSBORG, S. M.; GRØNVOLD, J.; WOLSTRUP, J.; HENRIKSEN, S. A.; MONRAD, J. The capacity of the fungus *Duddingtonia flagrans* to prevent strongyle infections in foals on pasture. **Parasitology**, v. 113, p. 1–6, 1996.

LESTER, H. E.; SPANTON, J.; STRATFORD, C. H.; BARTLEY, D. J.; MORGAN, E. R.; HODGKINSON, J. E.; COUMBE, K.; MAIR, T.; SWAN, B.; LEMON, G.; COOKSON, R.; MATTHEWS, J. B. Anthelmintic efficacy against cyathostomins in horses in Southern England. **Veterinary Parasitology**, [S.l.], v. 197, n. 1–2, p. 189-196, 2014.

LIMA, R. A. S; CINTRA, A. G. **Revisão do estudo do complexo do agronegócio do cavalo**. 2016. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/assuntos/camarassetoriais-tematicas/documentos/camaras-setoriais/equideocultura/anosanteriores/revisao-do-estudo-do-complexo-do-agronegocio-do-cavalo>. Acesso em: 28 mar. 2021.

LUKSOVSKY, J.; CRAIG, T. M.; BINGAM, G. M.; CIR, T.; FORRETS, D. Determining treatment to control two multidrug-resistant parasites on a texas horse farm. **Journal of Equine Veterinary Science**, Wildomar, v. 33, n. 2, p. 115-119, 2013.

LYONS, E.; TOLLIVER, S.; DRUDGE, J. Historical perspective of cyathostomes:prevalence, treatment and control programs. **Veterinary Parasitology**, v. 85, p. 97-112, 1999.

LAZAROVITS, G.; GOETTEL, S. M.; VINCENT, C. Adventures in Biocontrol. En: Biological control. A Global Perspective. Case Studies from Around the World. CAB International. Wallinford, Oxforsshire, [S.l.], p 1 -6, 2007.

LICHTENFELS, J. R.; KHARCHENKO, V. A.; DVOJNOS, G. M. Illustrated identification keys to strongylid parasites (Strongylidae: Nematoda) of horses, zebras and asses (Equidae). **Veterinary parasitology**, [S.l.], v.156, n.1, p.4-161, 2008.

LOVE, S. Treatment and prevention of intestinal parasite-associated disease. **Veterinary Clinics of North America: Equine**, [S.l.], v.19, p.791–806, 2003.

LYONS, E.T.; DRUDGE, J.H.; TOLLIVER, S.C.; Larval cyathostomiasis. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, [S.l.], v. 16, p. 501–513, 2000.

MADEIRA DE CARVALHO, L. M. **Epidemiologia e controlo da estrongilidose em diferentes sistemas de produção equina em Portugal**. Lisboa: Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Técnica de Lisboa, 2001.

MADEIRA DE CARVALHO, L. M. Estrongilidose dos equídeos: biologia, patologia, epidemiologia e controlo. In: ESTOJO, D. R.; ANDRADA, J. J. T.; MADEIRA DE CARVALHO, L. M. **In Memoriam Prof Ignacio López-Navarrete Cózar**. Cáceres: Tempo, 2006. Cap.6, p. 277-326. Disponível em: http://www.researchgate.net/publication/247777715_estrongilidose_dos_equedeos_biologia_patologia_epidemiologia_e_controlo. Acesso em: 12 fev. 2021.

MADEIRA DE CARVALHO, L. M.; GILLESPIE, A. T.; SERRA, P. M. Eficácia do fungo nematófago *Duddingtonia flagrans* no controlo biológico da estrongilidose equina no Ribatejo. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, [S.l.], v. 102, p. 233-247, 2007.

MAHONEY, C. J.; STRONGMAN, D. B. Nematophagous fungi from cattle manure in four states of decomposition at three sites in Nova Scotia, Canada. **Mycologia**, [S.l.], v.86, n. 3, p. 371-375, 1994.

MANUELLI, P. R.; WALLER, P. J.; FAEDO, M.; MAHOMMED, F. Biological control of nematode parasites of livestock in Fiji: screening of fresh dung of small ruminants for the presence of nematophagous fungi. **Veterinary Parasitology**, [S.l.], v.81, p. 39-45, 1999.

MAUCHLINE TH, K. B. R.; HIRCH, P. The biocontrol fungus *Pochonia chlamydosporia* shows nematode host preference at the infraspecific level. **Mycological Research**, [S.l.], v. 108, p. 161-169, 2003.

MARTIN, R. J. Modes of action of anthelmintic drugs. **Veterinary Journal**, [S.l.], v.154, p.11-34, 1997.

MENDOZA-DE GIVES, P.; BRAGA, F. R.; ARAÚJO, J. V. Nematophagous fungi, an extraordinary tool for controlling ruminant parasitic nematodes and other biotechnological applications. **Biocontrol Science and Technology**, [S.l.], v. 32, p. 1-17, 2022.

MOLENTO, M. B. Resistência parasitária em helmintos de equídeos e propostas de manejo, **Ciência Rural**, [S.l.], v. 35, n. 6, p. 1469-1477, 2005.

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

NIELSEN, M. K.; REINEMEYER, C. R.; DONECKER, J. M.; LEATHWICK, D. M.; Anthelmintic resistance in equine parasites—Current evidence and knowledge gaps. **Veterinary Parasitology**, v.204, p.55-63, 2014.

OGBOURNE, C. P. Pathogenesis of Cyathostome (*Trichonema*) infections of the horse. A review. Commonwealth Agricultural Bureaux, Commonwealth Institute of Parasitology, **Miscellaneous publication**, [S.l.], v. 5, p. 25, 1978.

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

PEREIRA, J. R.; VIANNA, S. S. S. Gastrointestinal parasitic worms in equines in the Paraíba Valley, State of São Paulo, Brazil. **Veterinary Parasitology**, [S.l.], v. 140, n. 3-4, p. 289-295, 2006.

PÉREZ-ÁLVAREZ, S.; ROJAS-MUJICA, K.; BELLO, H.; VILORIA, D.; MORALES, A. Comparative study of two therapies pharmacological based a ivermectin and febendazol by *strongyles* control intestinal in thoroughbreds horses. **Journal of Veterinary Science & Technology**, Kagoshima, v. 4, n. 5, p. 144- 145, Oct. 2013.

RAYNAUD, J. P.; GRUNER, L. Feasibility of herbage sampling in large extensive pastures and avaliability of cattle nematode infective larvae in mountain pastures. **Veterinary Parasitology**, [S.l.], v. 10, n. 1, p. 57-64, 1982.

REINEMEYER, C. R.; NIELSEN, M. K. **Handbook of equine parasite control**. Iowa: Wiley Blackwell, 2013.

REHBEIN, S.; MARTIN, V.; RENATE, W. Prevalence, intensity and seasonality of gastrointestinal parasites in abattoir horses in Germany. **Parasitology Research, Berlin**, [S.l.], v. 112, n. 1, p. 407-413, 2013.

RIBEIRO, R. R. **Atividade predatória sobre larvas de *Trichostrongilídeos* de isolados fúngicos do gênero *Monacrosporium* após a passagem pelo trato gastrintestinal de bovinos**. 2003. 44 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2003.

ROBERTS, F. H. S.; O'SULLIVAN, P. J. Methods for eggs counts and larval cultures for *Strongyles* infecting the gastrointestinal tract of cattle. **Australian Journal of Agricultural Research**, Victoria, v. 1, n. 1, p. 99-192, 1950.

RODRIGUES, M. S.; SILVA, F. C.; BARREIRA, L. P.; KOVACS, A. SALLOVITZ, J.; LANUSSE, C. Persistence of ivermectin in plasma and faeces following administration of a sustained-release bolus to cattle. **Res. Vet. Sci.**, [S.l.], v. 66, p. 57–61, 2006.

SAMSON-HIMMELSTJERN, G. V. Anthelmintic resistance in equine parasites detection, potential clinical relevance and implications for control. **Veterinary Parasitology**, [S.l.], v. 185, n. 1, p. 2-8, 2012.

SANTOS, C. P. **Isolamento, identificação, produção de fungos nematófagos e avaliação de algumas características biológicas do fungo *Duddingtonia flagrans***. 2000. 90 f. Dissertação (Doutorado em Medicina Veterinária). – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2000.

SAUMELL, C. A.; PADILHA, T.; SANTOS, C. P. Nematophagous fungi in sheep faeces in Minas Gerais, Brazil. **Mycol Res.**, [S.l.], v. 104, n. 8, p. 1005-1008, 2000.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. São Paulo: Varela, 1997. p. 259.

SOMMER, C.; BIBBY, B. M. The influence of veterinary medicines on the decomposition of dung organic matter in soil. **European Journal of Soil Biology**, [S.l.], v. 38, p. 155–159, 2002.

STIRLING, G. R. **Biological Control of Plant Parasitic nematodes**. Wallingford: CAB International, 1991. 282 p.

STROMBERG, B. E. Environmental factors influencing transmission. **Veterinary Parasitology**, [S.l.], v. 72, p. 247–264, 1997

TAVELA, A. O. **Controle biológico de ciatostomíneos de equinos resistentes a ivermectina e pamoato de pirantel com o fungo *Monacrosporium thaumasium***. 2010. 42 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2010.

TAYLOR, E. L. Technique for the estimation of pasture infestation by *strongyloid* larvae. **Parasitology**, [S.l.], v. 31, p. 473–478, 1939.

TAYLOR, M. A.; COOP, R. L.; WALL, R. L. **Parasitologia Veterinária**. Rio de Janeiro: Rio de Janeiro, 2010. 742 p.

VERA, J. H. S.; FACHIORLI, D. F.; RAMIRES, L. M.; SAES, I. L.; YAMADA, P. H.; GONCALVES, J. A.; OLIVEIRA, K.; AMARANTE, A. F. T.; SOUTELLO, R. V. G. Efficacy of ivermectin, moxidectin and febendazole in equine in Brazil. **Veterinary Parasitology**, [S.l.], v. 20, p. 100374, 2020.

WALLER, P.J. Prospects for biological control of nematodes of parasites of ruminants. New. Z. **Vet. Jour.**, [S.l.], v.40, p.1-3, 1992.