

ARTIGO CIENTÍFICO

**VIABILIDADE PREDATÓRIA DE *DUDDINGTONIA FLAGRANS* EM MATRIZ ALGINATO DE SÓDIO ESTOCADO E REFRIGERADO POR CINCO ANOS SOB NEMATÓDEOS GASTRINTESTINAIS DE ASININOS**

Felipe Bondiej Ventura Alvares<sup>1\*</sup>; Roberto Alves Bezerra<sup>1</sup>; Wlysse Ferreira Sarmiento<sup>1</sup>; Jossiara Abrantes Rodrigues<sup>2</sup>; Thais Ferreira Feitosa<sup>2</sup>; Paulo Wbiratan Lopes da Costa<sup>3</sup>; Vinicius Longo Ribeiro Vilela<sup>1,2,3</sup> e Fabio Ribeiro Braga<sup>4</sup>

**Resumo:** Os fungos nematófagos são uma importante forma de controle biológico de nematódeos gastrintestinais, pois apresentam passagem segura e inerte pelo trato gastrintestinal dos animais e ação predatória sobre as larvas infectantes desses parasitas nas fezes. Foi avaliada a eficácia de predação de helmintos de formulações peletizadas de fungos nematófagos submetidas a longos períodos de estocagem em asininos. Foram utilizados 32 animais machos, sem raça definida para o experimento. Todos os animais foram vermifugados e então testados para constatação do valor de OPG 0. Foram administrados os fungos nematófagos peletizados por via oral e então foram coletadas amostras de fezes a cada 12 horas após a aplicação, durante 72 horas. Após as coletas, foram realizadas coproculturas com as fezes misturadas com vermiculita expandida e ensaios em placas de Petri com Ágar Água 2%. Nestas culturas, foram adicionadas 1000 larvas de estrôngilos, para recuperação de larvas L3 ao final da incubação. O fungo *D. flagrans* estocado por 5 anos em baixas temperaturas foi tão eficiente quanto o recém-produzido.

**Palavras-chave:** Controle biológico, Equideocultura, Estrongilídeos

**PREDATORY VIABILITY OF *DUDDINGTONIA FLAGRANS* IN SODIUM ALGINATE MATRIX STORED AND REFRIGERATED FOR UP TO FIVE YEARS ON GASTROINTESTINAL NEMATODES OF ASININES**

**Abstract:** Nematophagous fungi are an important form of biological control of gastrointestinal nematodes, as they present safe and inert passage through the gastrointestinal tract of animals and predatory action on the infecting larvae of these parasites in feces. The efficacy of helminth predation of pelletized formulations of nematophagous fungi submitted to long storage periods in asinines was evaluated. Thirty-two male animals were used, with no breed defined for the experiment. All animals were wormed and then tested to verify the OPG 0 value. The nematophagous fungi were orally pelletized and then stool samples were collected every 12 hours after application for 72 hours. After the collections, coprocultures were performed with feces mixed with expanded vermiculite and assays in Petri dishes with 2% Water Agar. In these cultures, 1000 strontium larvae were added to recover L3 larvae at the end of incubation. The fungus *D. flagrans* stored for 5 years at low temperatures was as efficient as the newly produced fungus.

**Keywords:** Biological control, Equideoculture, Estrongilides

\*Autor para correspondência

Recebido para publicação em 22/09/2019; aprovado em 24/05/2020

<sup>1</sup> Departamento de Medicina Veterinária, Instituto Federal da Paraíba (IFPB), Sousa-PB, Brasil, e-mail: felprathalos@gmail.com

<sup>2</sup> Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Patos-PB, Brasil.

<sup>3</sup> Programa de Pós-Graduação em Ciência e Saúde Animal, Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Patos-PB, Brasil.

<sup>4</sup> Departamento de Veterinária, Universidade de Vila Velha, Vila Velha - ES, Brasil.

## INTRODUÇÃO

Dentre as enfermidades mais prevalentes de equídeos, destacam-se as doenças parasitárias, sendo as helmintoses gastrintestinais as mais importantes, principalmente as causadas por pequenos e grandes estrôngilos. A busca pelo controle desses nematoides por meio da utilização de anti-helmínticos é realizada em sua maioria de forma indiscriminada, sem considerar estratégias de controle apropriadas, resultando na resistência aos anti-helmínticos disponíveis, principalmente aos benzimidazóis (MATTHEWS et al., 2004).

Visando limitar o uso de anti-helmínticos, buscou-se a utilização de métodos alternativos como ferramenta de controle das formas de vida livre nas pastagens, destacando-se a utilização de fungos nematófagos (CASTRO et al., 2003). Os fungos percorrem o trato gastrointestinal inerte e quando são expelidos junto das fezes para o ambiente, colonizam o esterco. Assim, entram em contato com as larvas eclodidas, produzindo armadilhas que causam a morte destas, reduzindo o número de larvas infectantes e prevenindo a reinfecção dos animais (SILVA et al., 2009).

Objetivou-se avaliar a eficácia de formulações peletizadas em matriz de alginato de sódio de *Duddingtonia flagrans* armazenados por dois e cinco anos, em temperatura entre 2° a 8°C, sobre a predação de larvas infectantes de nematódeos após passagem do trato gastrintestinal de asininos.

## MATERIAL E MÉTODOS

O isolado do fungo *D. flagrans* (AC001) foi obtido da área da Zona da Mata do Estado de Minas Gerais, Brasil. Esse isolado foi peletizado em matriz alginato de sódio na Universidade Federal de Viçosa (MG).

Os péletes de *D. flagrans* que foram utilizados neste experimento possuíam datas de produção distintas. Os péletes foram armazenados em baixas temperaturas (2-8 °C) desde maio de 2013 e agosto de 2016. Em maio de 2018 foram produzidos mais péletes de *D. flagrans*.

Foram coletadas fezes de 32 asininos, machos, SRD, divididos em 4 grupos de 8 animais. Os grupos receberam fungos estocados por 60 meses (GI), 24 meses (GII) ou os fungos recém-produzidos (GIII). O quarto grupo não recebeu fungos nematófagos, servindo como grupo controle. Foram realizados exames de contagem de Ovos por Grama de Fezes (OPG) de acordo com o método de Gordon & Whitlock (1939). Após os exames, foram administradas doses únicas de Ivermectina e Pamoato de Pirantel nesses animais. Dez dias após a administração dos fármacos, foram realizados novos OPGs para constatação de exames negativos.

Foram administrados os péletes de fungos nematófagos juntamente com a ração comercial e coletadas fezes dos animais diretamente da ampola retal a cada 12 horas durante 3 dias.

Utilizando as fezes coletadas 12, 24, 36, 48, 60 e 72 horas após a administração dos fungos, foram realizados dois ensaios, A e B.

No ensaio A, as amostras foram homogeneizadas e 4 g de fezes foram colocadas em placas de Petri com 9 cm diâmetro contendo 2% de agar de água (AA 2%), acondicionados em incubadora BOD a 25 °C, no escuro. Para testar a atividade predatória dos péletes de fungos produzidos em períodos diferentes (AC001), foram adicionadas 1000 L3 de estrongilídeos em placas de Petri dos grupos testados. No décimo quinto dia, as L3 foram recuperadas pelo método de Baermann (ARAÚJO et al., 2010).

O ensaio B ocorreu concomitantemente ao ensaio A, em que fezes frescas dos 8 asininos foram processados para a preparação de coproculturas (ROBERTS & O'SULLIVAN, 1950), sendo misturadas com vermiculita expandida, molhada. Foram produzidas 12 repetições para cada grupo, duas para cada período indicado. Em cada coprocultura foram adicionados 1000 larvas de estrôngilos. As culturas foram incubadas a 28 °C por 10 dias. No final deste período foram obtidas L3 pelo método de Baermann, e identificadas e quantificadas de acordo com Bevilaqua et al. (1993).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observou-se que após passagem dos péletes contendo *D. flagrans* (AC001) pelo trato gastrointestinal dos asininos, independente do tempo de estocagem dos péletes, houve redução larval significativa ( $p < 0,01$ ) até o intervalo de 72 horas nos ensaios A e B.

No ensaio A, houve diferença significativa ( $p < 0,01$ ) sobrede redução larval entre os grupos contendo *D. flagrans* (GI, GII e GIII) e o controle já a partir do intervalo de 12 horas. Os picos de redução ocorreram às 72 horas no GI (94,7%) e no GII (97%); e às 60 horas no GIII (96,9%).

Os resultados deste trabalho corroboram Tavela et al. (2011), que ao avaliarem a predação dos fungos *D. flagrans* sob larvas infectantes de nematódeos após passagem pelo trato gastrointestinal de equídeos, observaram redução considerável de larvas infectantes no período de entre 12 e 72 horas. Os resultados observados por Braga et al. (2011), que obtiveram redução de 88,6% de larvas infectantes de ciatostomíneos de equídeos, ao utilizarem o fungo *D. flagrans* armazenado em sílica gel no período de sete anos.

No ensaio B, quantificando a recuperação de larvas não predadas, observou-se diferença estatística significativa ( $p < 0,01$ ) no GII a partir das 12 horas, no GIII a partir das 24 horas e no GI a partir das 36 horas. De forma geral, a partir das 24 horas, a redução foi mais acentuada, chegando ao pico de redução no intervalo de 60 horas em todos os grupos tratados. Nas 60 horas, o grupo I teve redução de 80,5%; o grupo II de 92,5% e o grupo III de 90,2%, todos esses valores são diferentes estatisticamente entre si, no

entanto, nas 72 horas, o grupo I não difere do grupo III (78,3% no grupo I e 81,2% no grupo III), demonstrando que o fungo mais antigo ainda possui boa capacidade predatória.

O ensaio B apresentou resultados semelhantes ao de Andrade et al., (2016) que ao avaliarem o fungo *D. Flagrans* como forma de controle de larvas de nematóides de equinos, obtiveram redução de até 80.4%.

## CONCLUSÃO

Concluiu-se que o uso de péletes em matriz de alginato de sódio contendo *D. flagrans* armazenados até cinco anos foram efetivos sobre a predação de larvas infectantes de nematódeos após passagem do trato gastrintestinal de asininos.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARAÚJO, J.M.; ARAÚJO, J.V.; BRAGA, F.R.; CARVALHO, R.O. In vitro predatory activity of nematophagous fungi and after passing through gastrointestinal tract of equine on infective larvae of *Strongyloides westeri*. **Parasitology Research**. v.107, p.103–108, 2010.

BEVILAQUA, C.M.L.; RODRIGUES, M.L.; Cocordet, D. Identification of infective larvae of some common strongylids of horses. **Revue de Médecine Vétérinaire**. v.144, p.989–995, 1993.

BRAGA, F. R.; ARAÚJO, J.V.; ARAÚJO, J. M.; TAVELA, A. O.; FERREIRA, S.R.; SOARES, F. E. F. Influence of the preservation period in silica-gel on the predatory activity of the isolates of *Duddingtonia flagrans* on infective larvae of cyathostomins (Nematoda: Cyathostominae). **Experimental Parasitology**. v.128, p.460–463, 2011

CASTRO, A. A.; OLIVEIRA, C. R. C.; ANJOS, D. H. S.; ORNELAS, E. I.; BITTENCOURT, V. R. E. O.; ARAÚJO, J. V.; SAMPAIO, I. B. M.; RODRIGUES, M. L. A. Potencial dos fungos nematófagos *Arthrobotrys* sp. E *Monacrosporium thaumanisium* para o controle de larvas de ciatostomíneos de equinos (Nematoda: Cyathostominae). **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**. v. 12, n. 2, p. 53-55, 2003.

GORDON, H. M. & WHITLOCK, H. V. A new technique for counting nematode eggs in sheep faeces. **Journal Council Science Industry Research**. v.12, p.50-52, 1939.

MATTHEWS, J. B. HODGKINSON, J. E.; DOWDALL, S. M. J.; PROUDMAN, C. J. Recent developments in research into the Cyathostominae and *Anoplocephala perfoliata*. **Veterinary Research**. v. 35, n. 4, p. 371-381, 2004.

ROBERTS, F. H. S. & O' SULLIVAN, J. P. Methods of egg counts and laval cultures for strongyles infesting the gastrointestinal tract of cattle. **Australian Agriculture Research**. v. 1. p. 99-102, 1950.

SILVA, A. R.; ARAÚJO, J. V.; BRAGA, F. R.; FRASSY, L. N.; TAVELA, A. O. Biological control of sheep gastrointestinal nematodiasis in atropical region of the southeast of Brazil with the nematode

predatory fungi *Duddingtonia flagrans* and *Monacrosporium thaumasium*. **Parasitology Research**. v.105, p.1707–1713. 2009.

TAVELA, A.O., ARAÚJO, J.V., BRAGA, F.R., SILVA, A.R., CARVALHO, R.O., ARAUJO, J.M., FERREIRA,S.R., AND CARVALHO, G.R. Biological Control of cyathostomin (Nematoda: Cyathostominae) with nematophagous fungus *Monacrosporium thaumasium* in Tropical Southeastern Brazil. **Veterinary Parasitology**, 175, 92\_96, 2011.