UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Instituto de Biologia
Curso de Ciências Biológicas - Licenciatura

Trabalho de Conclusão de Curso

Ação de extratos fúngicos sobre ovos e larvas de Tricostrongilídeos presentes em fezes de pequenos ruminantes

Cristiane Telles Baptista

Pelotas, 2017

Cristiane Telles Baptista

Ação de extratos fúngicos sobre ovos e larvas de Tricostrongilídeos presentes em fezes de pequenos ruminantes

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto de Biologia da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Licenciatura em Ciências Biológicas.

Orientadora: Profª Draª Daniela Isabel Brayer Pereira

Pelotas, 2017

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

B222a Baptista, Cristiane Telles

Ação de extratos fúngicos sobre ovos e larvas de tricostrongilídeos presentes em fezes de pequenos ruminantes / Cristiane Telles Baptista ; Daniela Isabel Brayer Pereira, orientadora. — Pelotas, 2017.

43 f. : il.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas) — Instituto de Biologia, Universidade Federal de Pelotas, 2017.

1. Controle biológico. 2. Extratos fúngicos. 3. Parasitoses gastrointestinais. 4. Fungos nematófagos. I. Pereira, Daniela Isabel Brayer, orient. II. Título.

CDD : 616.96

Elaborada por Maria Beatriz Vaghetti Vieira CRB: 10/1032

Cristiane Telles Baptista

Ação de extratos fúngicos sobre ovos e larvas de Tricostrongilídeos presentes em fezes de pequenos ruminantes

Trabalho de conclusão de curso aprovado como requisito parcial para obtenção do título de Licenciatura em Ciências Biológicas, apresentado ao Departamento de Biologia, Faculdade de Biologia, Universidade Federal de Pelotas.

Data da Defesa: 20/12/2017

Banca examinadora:

Profª Drª Daniela Isabel Brayer Pereira (Orientadora) Doutorª em Ciências Veterinárias pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Mscª Júlia de Souza Silveira
Mestre em Ciências pela Universidade Federal de Pelotas

Dr. Fernando de Souza Maia Filho
Doutor em Ciências pela Universidade Federal de Pelotas

Agradecimentos

Primeiramente agradeço a Deus pela minha vida, pela minha família e meus amigos e por guiar meus passos nessa longa caminhada.

Agradeço muito a minha mãe Rosa, pela minha vida, pela educação, pelo incentivo, amizade, companheirismo, paciência, dedicação, carinho, credibilidade e por confiar em mim, sem você eu não teria chegado tão longe.

À minha amada irmã Michele, pelo apoio, incentivo, paciência, carinho e compreensão em todos os momentos essa minha caminhada, por me auxiliar sempre e estar sempre ao meu lado. Agradeço por dividir com você todas minhas vitórias e conquistas, muito obrigada por tudo.

Obrigada meu amor, companheiro e esposo Cleber, por todo apoio, dedicação, carinho, paciência, por aguentar todas minhas crises e estresses durante essa caminhada e sempre acreditar no meu potencial me incentivando sempre a lutar pelos meus objetivos e sonhos. É bom saber que tem alguém me aplaudindo em todas minhas conquistas e que tem alguém pra me consolar nos meus tropeços.

À minha família em geral, pela amizade, carinho, paciência, incentivo e apoio incondicional.

À minha Orientadora Daniela Isabel Brayer Pereira, pela sua orientação, total apoio, tempo dedicado, ensinamentos, opiniões e críticas, atenção, confiança, paciência, profissionalismo e total colaboração para a realização deste trabalho.

Ao nosso grupo de pesquisa que me proporcionou todo o apoio na realização deste trabalho em especial as meninas Caroline, Isabel, Carolina e Júlia, por acompanhar toda minha caminhada. Além das amizades construídas ao longo de nosso convívio e por me ensinar o valor do trabalho em equipe.

Em especial agradeço a minha amada amiga Caroline Braga por me auxiliar sempre nos meus experimentos, por acompanhar minha caminhada sempre me incentivando e me auxiliando no possível, juntas construímos uma amizade que com certeza será para toda vida.

À Universidade Federal de Pelotas pela oportunidade em realizar minha segunda graduação e continuar minha formação.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de estudo e recursos financeiros disponibilizados que tornaram este projeto possível.

Muito Obrigada!

Resumo

BAPTISTA, Cristiane Telles. **Ação de extratos fúngicos sobre ovos e larvas de Tricostrongilídeos presentes em fezes de pequenos ruminantes.** 2017. 43f. Trabalho de Conclusão de Curso (Licenciatura em Ciências Biológicas) – Curso de Ciências Biológicas Licenciatura, Instituto de Biologia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2017.

As helmintoses gastrointestinais são uma das principais causas que interferem no desenvolvimento da atividade pecuária, ocasionando prejuízos no desenvolvimento animal. Dentre os parasitos gastrintestinais que mais acometem ruminantes estão os pertencentes à família Trichostrongylidae e incluem os gêneros *Haemonchus, Trichostrongylus, Ostertagia, Nematodirus* e *Cooperia*. Com isso, a utilização de anti-helmínticos é descrita como um método eficaz no controle do parasitismo. Entretanto, seu uso exacerbado ocasiona o surgimento de nematoides resistentes. Além disso, há uma grande preocupação com relação aos resíduos deixados na carne e no leite, bem como o risco de contaminação ambiental. Neste sentido, sugere-se o controle biológico como uma alternativa viável e promissora que propicia uma redução das infecções ocasionadas por parasitos gastrintestinais. O objetivo deste trabalho se baseia em avaliar a ação *in vitro* de extratos fúngicos de *Purpureocillium lilacinum, Trichoderma virens* e *Duddingtonia flagrans* sobre ovos e larvas de tricostrongilídeos isolados das fezes de pequenos ruminantes. Para a realização deste trabalho foram utilizados três isolados fúngicos: *Purpureocillium lilacinum, Duddingtonia flagrans* e *Trichoderma virens*. A partir desses fungos, dois diferentes extratos foram obtidos: extrato filtrado (EF) e o extrato macerado bruto (MB) e os ensaios foram divididos em dois experimentos. No experimento 1, um volume de 1000 µL de cada extrato foi acrescentado em 16 frascos contendo 4 gramas de fezes com aproximadamente 5mil ovos. No experimento 2, o mesmo volume de fezes não parasitadas foi adicionado a 24 frascos contendo aproximadamente 5 mil larvas. Nos frascos correspondentes ao grupo controle 4gr de fezes contendo 5.000 ovos ou 5.000 larvas foram adicionadas de 1.000 µL de meio mínimo empregado na cultura fúngica. Todos os frascos foram incubados a 28ºC, durante 6 dias. Realizou-se a recuperação e contagem em lupa estereoscópica considerando o número total de ovos eclodidos de larvas tricostrongilídeos no experimento 1, bem como o número de larvas viáveis no experimento 2. Os dados obtidos foram submetidos a análise estatística. Os resultados evidenciaram significativa ação ovicida do MB de *T. virens* ($P<0.05$), enquanto sobre as larvas observou-se que os extratos que demonstraram diferença significativa foram o MB de *P. lilacinum* e MB *D. flagrans.* Embora somente esses extratos tenham apresentado diferença estatística, todos os extratos aqui

avaliados apresentaram atividade ovicida/larvicida e são promissores na utilização para controle biológico.

Palavras-chave: Controle biológico; extratos fúngicos; parasitoses gastrointestinais; fungos nematófagos.

Abstract

BAPTISTA, Cristiane Telles. **Action of fungal extracts on eggs and larvae of Tricytrostylidae** present in feces **from small ruminants.** 2017. 43f. Trabalho de Conclusão de Curso (Licenciatura em Ciências Biológicas) – Curso de Ciências Biológicas Licenciatura, Instituto de Biologia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2017.

The gastrointestinal helminths are one of the main causes that interfere in the development of the cattle activity, causing damages in the animal development. Among the gastrointestinal parasites that most affect ruminants are those belonging to the family Trichostrongylidae and include the genera Haemonchus, Trichostrongylus, Ostertagia, Nematodirus and Cooperia. Thus, the use of anthelmintics is described as an effective method in controlling parasitism. However, its exacerbated use causes the emergence of resistant nematodes. In addition, there is great concern about residues left in meat and milk, as well as the risk of environmental contamination. In this sense, biological control is suggested as a viable and promising alternative that allows a reduction of the infections caused by gastrointestinal parasites. The objective of this work is to evaluate the in vitro action of fungus extracts of Purpureocillium lilacinum, Trichoderma virens and Duddingtonia flagrans on eggs and larvae of tricostrongilídeos isolated from feces of small ruminants. Three fungal isolates were used for this work: Purpureocillium lilacinum, Duddingtonia flagrans and Trichoderma virens. From these fungi, two different extracts were obtained: filtered extract (EF) and the crude macerated extract (MB) and the assays were divided into two experiments. In experiment 1, a volume of 1000 µL of each extract was added to 16 flasks containing 4 grams of feces with approximately 5 thousand eggs. In experiment 2, the same volume of non-parasitized feces was added to 24 vials containing approximately 5,000 larvae. In the flasks corresponding to the control group 4gr of feces containing 5,000 eggs or 5,000 larvae were added of 1,000 µL of minimum medium used in the fungal culture. All vials were incubated at 28 ° C for 6 days. The recovery and counting were performed in a stereoscopic magnifying glass considering the total number of hatched eggs of trichotrongilid larvae in experiment 1, as well as the number of viable larvae in experiment 2. The data were submitted to statistical analysis. The results evidenced a significant ovicidal action of the MB of T. virens ($P < 0.05$), whereas on the larvae it was observed that the extracts that showed a significant difference were the MB of P. lilacinum and MB D. flagrans. Although only these extracts presented statistical difference, all the extracts here evaluated had ovicidal / larvicidal activity and are promising in the use for biological control.

Key words: Biological control; fungal extracts; gastrointestinal parasitoses; nematophagous fungi.

Lista de Figuras

Figura 1- Ciclo biológico de helmintos da família Trichostrongylidae. Fonte: MACGAVIN, 2013. 19

Lista de Tabelas

Tabela 1 Eclodibilidade de ovos de tricostrongilídeos após a interação com extratos fúngicos de *Purpureocilium lilacinum* e *Trichoderma virens*..... 28

Tabela 2 Larvas viáveis de tricostrongilídeos após exposição a diferentes extratos fúngicos de *Trichoderma virens, Purpureocilium lilacinum* e *Duddingtonia flagrans*..... 29

Sumário

1 - Introdução 14
1.1 Objetivo Geral 16
1.1.2 Objetivos Específicos 16
2- Revisão de literatura 17
2.1. As Parasitoses Gastrointestinais 17
2.1.1 Ciclo Biológico 19
2.2 Controle Biológico 20
2.3 Fungos Nematófagos 23
3- Materiais e Métodos 24
3.1. Isolados fúngicos: 24
3.2. Produção dos extratos fúngicos: 25
3.3. Amostras de fezes 25
3.3.1. Obtenção das larvas de nematódeos gastrointestinais 25
3.4. Ensaios experimentais: 25
3.4.1. Avaliação da atividade in vitro de extratos fúngicos de *P. lilacinum* e *T. virens* sobre ovos de tricostrongilídeos presentes nas fezes de pequenos ruminantes (Experimento 1 25
3.4.2. Avaliação da atividade in vitro de extratos fúngicos de *P. lilacinum*, *T. virens* e *D. flagrans* sobre larvas de tricostrongilídeos presente nas fezes de pequenos ruminantes (Experimento 2): 26
3.5. Análise estatística 27
4 –Resultados 28
5- Discussão 30
6- Conclusão 32
Referências 33

1 - Introdução

O parasitismo gastrointestinal é responsável por grande parte das perdas observadas nas criações de ovinos, ocasionando inúmeros impactos sobre a produção tais como: crescimento retardado, perda de peso, baixa fertilidade e em casos mais graves, a mortalidade (MOLENTO et al., 2004; ARAÚJO, 2006; LOPES et al., 2013; SOUZA, 2013).

Entre os parasitos gastrointestinais mais frequentes em pequenos ruminantes estão os pertencentes à família Trichostrongylidae e incluem os gêneros *Haemonchus*, *Trichostrongylus, Ostertagia*, *Nematodirus* e *Cooperia*, (FORTES, 1997; VIANA, 2008; VIVEIROS, 2009; DOMINGUES et al., 2013; GILLEARD, 2013). Com maior prevalência cita-se *Haemonchus contortus* que em alguns casos pode representar 99,99% do parasitismo, sendo considerada a espécie mais importante, pois desencadeia quadros graves de anemia seguida de morte, em altas infestações, devido ao seu hábito hematófago e que requer mais cuidados na maioria das propriedades rurais (AMARANTE; SALES, 2007; SILVA et al., 2013; DOMINGUES et al., 2013; GILLEARD, 2013). Levantamentos epidemiológicos têm mostrado que mais de 80% da carga parasitária de pequenos ruminantes é constituída por este parasito (VIEIRA et al., 2014).

Os anti-helmínticos são fármacos utilizados no controle das parasitoses em pequenos ruminantes sendo divididos em várias classes químicas: benzimidazóis, imidotiazóis, pirimidinas, lactonas macrocíclicas (FALBO et al., 2008; AMARANTE, 2009), Entretanto, falhas na utilização, como o uso contínuo e a utilização incorreta e indiscriminada, resultaram na seleção de populações helmínticas com resistência aos diversos grupos químicos utilizados no tratamento dos animais (MOLENTO, 2004; SCHNYDER et al., 2005; TAYLOR et al., 2009; SUTHERLAND; LEATHWICK, 2011; SCOTT et al., 2013; MELO et al., 2015). Outra grande preocupação está relacionada aos resíduos deixados na carne e no leite, bem como o risco de

contaminação ambiental ocasionada por esses fármacos (SUTHERLAND; LEATHWICK, 2011).

Neste sentido, estudos estão sendo realizados com a finalidade de encontrar alternativas para controlar os endoparasitos de pequenos ruminantes, buscando a diminuição do emprego de quimioterápicos e também a redução dos níveis de poluentes no ambiente e nos produtos de origem animal (MOTA et al., 2003).

Entre as diversas alternativas relata-se o controle biológico como uma opção viável e promissora. Este método proporciona redução das infecções ocasionadas por parasitos gastrintestinais com fungos nematófagos, que são os principais antagonistas naturais dos nematoides no solo contaminado e que apresentam capacidade ovicida e larvicida sobre os parasitos gastrointestinais de ruminantes em geral (GAMS; ZARE, 2001; CIARMELA et al., 2002; ARAÚJO et al., 2004a; ARAÚJO et al, 2007; BRAGA et al., 2011) .

Levando-se em consideração a atividade ovicida e larvicida de fungos nematófagos em tricostrongilídeos propõe-se o presente estudo, que busca verificar a atividade ovicida/larvicida de extratos fúngicos sobre ovos e larvas de tricostrongilídeos. A probabilidade de se utilizar fungos nematófagos em ambientes contaminados torna o controle biológico um método promissor e eficaz. Estudos utilizando métodos alternativos para controlar as parasitoses são necessários, visto que ao se reduzir o número de ovos e larvas infectantes se diminuirá a infecção de hospedeiros suscetíveis.

1.1 Objetivo Geral

Avaliar a ação *in vitro* de extratos fúngicos de *Purpureocillium lilacinum, Trichoderma virens* e *Duddingtonia flagrans* sobre fezes de pequenos ruminantes contendo ovos e larvas de tricostrongilídeos.

1.1.2 Objetivos Específicos

- Verificar *in vitro* a ação dos extratos fúngicos de *Purpureocillium lilacinum e Trichoderma virens* sobre ovos de tricostrongilídeos presentes nas fezes de pequenos ruminantes;

- Determinar a ação *in vitro* do extrato fúngico de *Purpureocillium lilacinum, Trichoderma virens* e *Duddingtonia flagrans* sobre larvas de tricostrongilídeos presentes nas fezes de pequenos ruminantes.

2- Revisão de literatura

2.1. As Parasitoses Gastrointestinais

Um dos principais fatores limitantes nos sistemas de produção de ovinos são as parasitoses causadas por endoparasitos que acometem ovinos em qualquer idade e sexo (SILVA et al., 2010). As infecções gastrointestinais provocam diversos efeitos fisiopatológicos nos animais, ocasionando diminuição no ganho de peso, comprometimento da condição corporal, redução da produção de leite e do desempenho reprodutivo e mortalidade, principalmente entre os animais jovens (GRAMINHA et al., 2001).

Grande parte dos animais criados a campo apresenta uma ou mais espécies de parasitos gastrointestinais em seu organismo. Entretanto, nem sempre o parasitismo é sinônimo de doença, pois geralmente os mecanismos imunológicos são capazes de controlar a população de endoparasitos (AMARANTE, 2005).

Por outro lado, os parasitos podem vencer as barreiras imunológicas e causar as parasitoses, cujos sintomas clínicos incluem: desnutrição, avitaminoses, distúrbios gastrintestinais, estados convulsivos e prejuízo ao desenvolvimento dos animais (SOUZA, 2013).

Os parasitos gastrointestinais mais frequentes na ovinocultura pertencem à família Trichostrongylidae e compreendem os gêneros *Haemonchus*, *Trichostrongylus*, *Ostertagia*, *Nematodirus* e *Cooperia* (RUAS; BERNE, 2007). Esses parasitos são cosmopolitas e morfologicamente descritos como invertebrados, filiformes, de 3 a 4 cm de comprimento, com corpo cilíndrico e alongado, simétrico bilateralmente, não segmentado, ausência de cápsula bucal ou presença reduzida e cutícula lisa ou estriada com prolongações (SOTOMAIOR, 2009).

No Brasil, principalmente na região sul, os helmintos mais prevalentes são *H. contortus*, *Trichostrongylus axei*, *T. colubriformis*, *Teladorsagia circumcincta*, *Ostertagia ostertagi, Cooperia* spp., *Nematodirus spatigher, Oesophagostomum venulosum* e *Trichuris ovis* (RAMOS et al., 2004). *H. contortus* desenvolve

rapidamente resistência aos anti-helmínticos (SANGSTER, 2001), fato explicado pelo seu alto potencial biótico (ECHEVARRIA; TRINDADE, 1989), pela sua variabilidade genética e pela presença de um alelo que causa diminuição da suscetibilidade a uma droga (BLACKHALL et al., 1998).

De acordo com Moraes (2002), *H. contortus* é o principal endoparasita de ovinos e o de maior importância econômica, principalmente em regiões de clima tropical, subtropical e temperado, especialmente em condições quentes e úmidas. No Brasil, é o principal nematoide parasito de ovinos (AMARANTE et al., 2004), sendo encontrado em 75% a 100% dos exames de fezes desses animais (MORTENSEN et al., 2003).

Esse helminto apresenta alto grau de patogenicidade, pois o hábito hematófago ocasiona anemia hemorrágica aguda (URQUHART et al., 1998). Possui uma lanceta bucal, que é responsável não só em sugar o sangue, mas também por secretar uma substância anticoagulante capaz de impedir a formação da rede de fibrina no local onde se alimenta. Cada parasito pode remover em torno de 0,05 mL de sangue ao dia por ingestão, além do extravasamento de sangue pelas lesões da região do abomaso do hospedeiro. Em casos hiperagudos de parasitismo, pode ocorrer morte súbita por gastrite hemorrágica (TAYLOR et al., 2007).

Os animais mais jovens são mais suscetíveis, isso se deve principalmente a imunidades desses animais, embora em adultos em situações de estresse, ou com déficit nutricional também podem sofrer anemias fatais (BOWMAN et al., 2003).

De acordo com a literatura, apenas 5% da população dos endoparasitos estão localizados dentro de seus hospedeiros, os 95% remanecentes localizam-se no ambiente sob a forma de ovos e/ou estágios larvais (BOWMAN et al., 2003). As larvas de parasitos nematódeos podem sobreviver na vegetação rasteira pelo tempo aproximado de 100 a 210 dias, como comprovado para a espécie bovina (RAMOS et al., 1993) e de seis meses ou mais para ovinos (SOUTHCOTT et al.,1976; DONALD et al., 1978). Portanto, é indispensável buscar novas alternativas para o controle parasitário. Nesse contexto, pesquisas sobre a interação animal x helmintos x pastagens são necessárias.

2.1.1 Ciclo Biológico

Segundo Lapage (1976) os parasitos que pertencem à família Trichostrongylidae apresentam ciclo biológico exógeno direto, como demonstrado na figura 1:

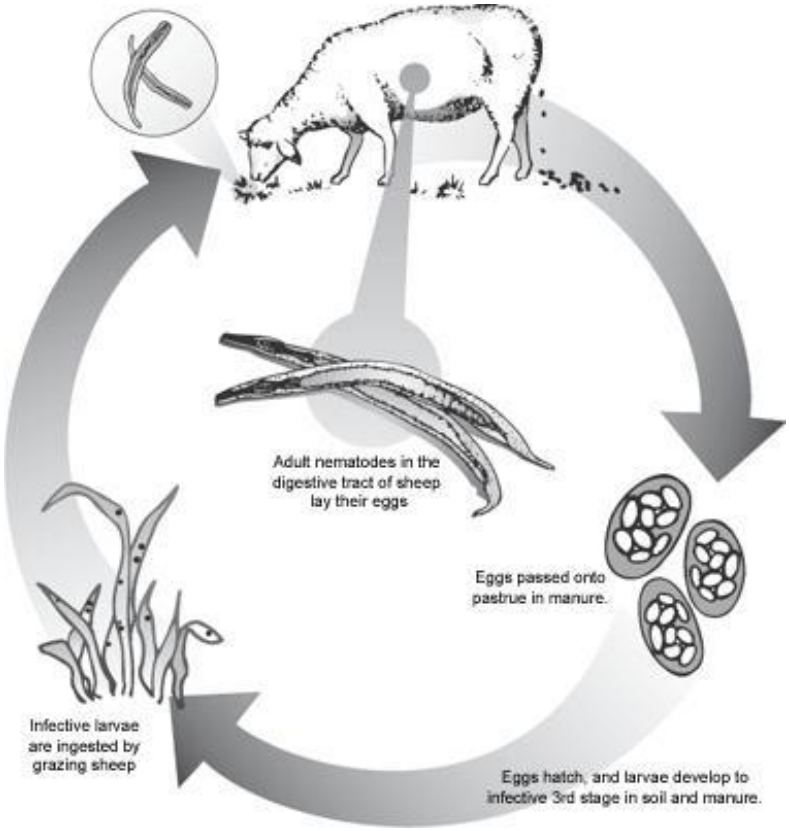

Figura 1- Ciclo biológico de helmintos da família Trichostrongylidae.
Fonte: MACGAVIN, 2013.

Os ovos são eliminados, no estado de mórula, juntamente com as fezes do hospedeiro infectado para o ambiente. No ambiente ocorre o desenvolvimento da larva de primeiro estágio e posteriormente sua eclosão e desenvolvimento em larvas de segundo e terceiro estágios, essa evolução pode variar de cinco a várias semanas (BOWMAN et al., 2003).

A eclosão dos ovos, assim como o desenvolvimento das larvas desses parasitos são controladas por vários fatores ambientais, como temperatura, umidade e pela própria larva que passa a digerir a membrana interna impermeável do ovo através da secreção de enzimas. Com isso, a larva de primeiro estágio (L1) é capaz de absorver água, dilatando-se e rompendo assim o ovo. Sendo assim, o parasito inicia a fase de vida livre ou pré-parasitária (BOWMAN et al., 2003).

De modo geral, o período de vida pré-parasitária ou vida livre compreende os três primeiros estágios (L1, L2 e L3) do desenvolvimento do parasito. Os dois primeiros estágios (L1 e L2) alimentam-se principalmente de bactérias do meio ambiente, entretanto a L3 (forma infectante) possui cutícula remanescente do segundo estágio, impedindo a larva de se alimentar, ao mesmo tempo lhe confere maior proteção contra variáveis ambientais (BOWMAN et al., 2003).

Os ovinos se infectam ao ingerir forragens contaminadas com formas infectantes (larvas de terceiro estágio ou L3). As L3 desembainham-se e ao atingir seu habitat definitivo (abomaso ou intestino delgado) sofrem duas novas mudas L4 e L5 e posteriormente diferenciam-se em machos ou fêmeas parasitos adultos. Entre as mudas, tanto na fase pré-parasitária quanto parasitária, as larvas apresentam um curto período de letargia. Entre duas a três semanas após a ingestão da L3 ocorre o completo desenvolvimento dos helmintos (exceto *Nematodirus*, cujo período é de quatro semanas). Após esse período inicia-se a eliminação de ovos nas fezes do hospedeiro (ECHEVARRIA, 1996a; URQUHART et al., 1998; VLASSOF et al., 2001; BOWMAN et al., 2003).

O período pré-patente pode ser mais longo em consequência do fenômeno de hipobiose que as L3 ou L4 apresentam-se dentro do hospedeiro. Dependendo da espécie do parasito, pode ocorrer um retardo na emergência dessas larvas da mucosa, que pode ser de semanas a meses (RADOSTITS et al., 2002).

2.2 Controle Biológico

A diminuição do número de larvas infectantes é um dos principais alvos no controle das parasitoses (PADILHA; MENDOZA-de-GIVES, 1996). Atualmente, diferentes métodos que visam limitar a população de larvas encontradas no ambiente têm sido estudados, incluindo métodos químicos, de manejo e biológicos. Destes, o mais utilizado é o controle químico através do emprego de anti-helmínticos (JACKSON, 2004).

O método convencional de controlar os nematoides parasitos de pequenos ruminantes é a utilização de anti-helmínticos sintéticos que agem sobre as formas parasitárias no hospedeiro (WALLER, 2005). Tradicionalmente, o controle dos parasitos gastrintestinais de ruminantes tem baseado-se unicamente na utilização de

drogas antiparasitárias de amplo espectro (CHARLES; FURLONG, 1996), visando a redução da contaminação parasitária das pastagens (BRUNDSON, 1980).

As classes de anti-helmínticos mais empregadas no tratamento de nematoides são: levamisole e seus análogos (morantel e pirantel), lactonas macrocíclicas (avermectinas e milbemicinas) e benzimidazoles (tiabendazole) (PRICHARD, 1990).

O controle químico de nematoides gastrointestinais possui boa eficácia, eliminando rapidamente muitos dos gêneros e espécies de helmintos parasitos de animais. Contudo, seu uso exclusivo e excessivo, propiciou o aparecimento de nematoides resistentes a esses fármacos (SUTHERLAND; LEATHWICK, 2011).

A resistência anti-helmíntica foi registrada pela primeira vez em 1964, nos Estados Unidos por Drudge et al. (1964). No Brasil, o primeiro relato aconteceu no Rio Grande do Sul (DOS SANTOS; GONÇALVES, 1967). Nos últimos anos, a resistência frente aos diferentes princípios ativos empregados tem ocorrido com maior incidência e velocidade (KAPLAN; VIDYASHANKAR, 2012).

Adicionalmente ao problema da resistência parasitária, a presença de resíduos químicos dos fármacos anti-helmínticos nos produtos de origem animal, bem como os riscos de contaminação ambiental que ocasionam efeitos tóxicos a organismos não alvos no meio ambiente (SUTHERLAND; LEATHWICK, 2011) são aspectos relevantes a ser considerados no emprego do controle químico.

Diante dos problemas que o tratamento exclusivo com fármacos apresenta, são necessárias estratégias para minimizar a disseminação da resistência e contaminação ambiental. Uma estratégia que tem se mostrado viável e crescente nesse ramo de pesquisa é o emprego de tratamentos alternativos que possam agir de forma sinérgica com os fármacos antiparasitários (KENYON et al., 2009). Nesse sentido, algumas opções estão sendo avaliadas e inseridas no manejo tais como: desenvolvimento de vacinas (KNOX; SMITH, 2001), seleção genética de hospedeiros (GASBARRE; MILLER, 1999), técnicas de tratamento seletivo como Famacha (MOLENTO, 2004), plantas detentoras de taninos (ATHANASIADOU et al., 2001), rotação de pastagens (LARSSON et al., 2007) e utilização de controladores biológicos (ARAÚJO et al., 2006b).

O controle biológico é um método ecológico em que ocorre a diminuição de uma população parasitária para níveis sub-clínicos aceitáveis e para manutenção dos índices produtivos em limiar econômico, através da utilização de um antagonista

natural. Na prática, o controle biológico não atua sobre estágios internos de parasitos, contudo concentra suas ações sobre os hospedeiros intermediários, paratênicos, de transporte, vetores e estágios larvais de vida livre, diminuindo a fonte de infecção para os hospedeiros finais.

Os micro-organismos selecionados como antagonistas naturais no controle biológico devem ser eficientes em reduzir populações, bem como a fonte de infecção para os hospedeiros finais, ser de fácil manipulação em laboratório, não ser patogênico a seres humanos e animais, sobreviver no solo em condições adversas, ser fácil de produzir em massa e de baixo custo (GRONVOLD et al., 1996; MOTA et al., 2003; FERRAZ et al., 2010). Essa técnica visa completar os métodos tradicionais empregados, assumindo que toda e qualquer população é regulada por antagonistas de forma espontânea na natureza e na carência desses, uma população poderia aumentar indiscriminadamente (ARAÚJO, et al., 2014).

De acordo com a literatura há inúmeros antagonistas naturais dos helmintos no meio ambiente, entre eles protozoários, bactérias, vírus, ácaros, besouros e fungos. Dentre esses organismos destacam-se os fungos nematófagos, os quais vêm demonstrando bons resultados como agentes de biocontrole, podendo ser encontrados nos mais distintos ambientes (RIBEIRO, 2003; BRAGA; ARAÚJO, 2014).

O controle biológico utilizando fungos promove a diminuição de larvas infectantes nas pastagens. Com isso, medidas que têm como objetivo minimizar a contaminação nesses ambientes contribuem significativamente para o controle da parasitose (CASTRO et al., 2002).

Os fungos nematófagos estão sendo largamente estudados como agentes de controle biológico de parasitos de importância em medicina veterinária. Os resultados das pesquisas são promissores e evidenciam a redução de espécies patógenas de helmintos, tanto em experimentos *in vitro* como *in vivo* (MENDOZA-DE-GIVES et al., 1992; ARAÚJO et al., 1998; FAEDO et al., 2000; ASSIS; ARAÚJO, 2003; FONTENOT et al., 2003; ARAÚJO et al., 2004b; ARAÚJO et al., 2004c; GRAMINHA et al., 2005; MAIA-FILHO et al., 2013; HOFSTATTER et al., 2016; MAIA-FILHO et al., 2017).

2.3 Fungos Nematófagos

Os fungos nematófagos são encontrados na maioria dos táxons fúngicos, incluindo Ascomycetes (Orbiliaceae assexuada e Clavicipitaceae), Basidiomycetes (Pleurotaceae), Zygomycetes (Zoopagales), Chytridiomycetes e Oomycetes. Eles são amplamente distribuídos no ambiente e podem se reproduzir em quase todos os tipos de solo devido aos poucos requisitos nutricionais e vitamínicos. Foi proposto que o fenótipo de captura de nematoides seja uma resposta evolutiva dos fungos às deficiências nutricionais em habitats limitantes de nitrogênio. Como o nitrogênio é essencial para o crescimento de fungos e não está disponível livremente no solo onde o carbono é abundante, a captura direta de compostos de nitrogênio de outras formas vivas é uma vantagem (ZHANG; HYDE, 2014).

Os fungos nematófagos representam uma ampla variedade de micro-organismos que estabelecem relações predadoras, parasitas e bioquímicas com os nematoides (MANKAU, 1980). Esses fungos são cosmopolitas, presentes em diferentes habitats, principalmente em ambientes ricos em matéria orgânica (FERNANDEZ, 2011). Podem ser isolados do solo, fezes frescas retiradas da ampola retal do animal (MANUELLI et al., 1999) e do bolo fecal em decomposição no ambiente (SAUMELL; PADILHA, 2000).

Segundo Barron (1977) e Mota et al. (2003) mais de 150 espécies de fungos nematófagos são catalogadas. Tais fungos podem ser denominados de destruidores de helmintos, porém alguns apresentam também características ovicidas, podendo predar ovos de helmintos. Comportando-se como antagonistas naturais dos nematoides, são capazes de promover a captura, morte ou mesmo destruição dos parasitos, colaborando para que os desafios relacionados à resistência e ecotoxicidade sejam minimizados. No entanto, o emprego desses agentes de controle não exclui a necessidade de empregar programas integrados de controle parasitário, seleção de animais resistentes e confecção de vacinas (ARAÚJO et al., 1998).

Estes fungos atuam na fase de vida livre dos parasitos e uma maneira de dispersá-losno bolo fecal seria através sua ingestão. Assim o fungo seria disseminado juntamente as fezes, onde ocorre o desenvolvimento de ovos e larvas de nematoides. Para que o fungo chegue ao bolo fecal, ele também deve resistir ao estresse da passagem pelo trato gastrintestinal, e assim chegar viável às fezes para

predar nematoides (LARSEN et al., 1992). Com relação ao impacto ambiental pelo uso de fungos nematófagos, experimentos com animais criados em pastagens demonstraram que não ocorre mudança na constituição da fauna natural de nematoides do solo (YEATES; KING, 1997).

De acordo com a estratégia e o modo de ação sobre os nematoides, os fungos são classificados em ovicidas, predadores e endoparasitas. Os ovicidas,também chamados de oportunistas, destroem os ovos de parasitos penetrando a membrana externa. Logo emitem suas hifas para o interior do ovo e consumem o embrião (DE FREITAS, 2010). As espécies de fungos endoparasitos são parasitos obrigatórios e infectam os nematoides quando esses ingerem seus esporos ou pela adesão dos conídios à cutícula do helminto com posterior desenvolvimento do tubo germinativo para penetração na cutícula e destruição interna do nematoide (CARNEIRO, 1992). Os fungos nematófagos predadores são espécies saprofíticas que, em condições de restrição nutricional, desenvolvem estruturas tridimensionais na forma de anéis constritores, anéis não constritores, redes, hifas adesivas e botões adesivos que servem para capturar os nematoides. Após a captura da larva o fungo predador emite suas hifas para o interior do nematoide nutrindo-se dele (MOTA et al., 2003).

3- Materiais e Métodos

3.1. Isolados fúngicos: Foram utilizados três isolados fúngicos: *Purpureocillium lilacinum*, adquirido do CENARGEN (Centro Nacional de Pesquisa de Recursos Genéticos e Biotecnologia, Embrapa), *Duddingtonia flagrans*, cedida pelo Laboratório de Pesquisas Micológicas da Universidade Federal de Santa Maria; e *Trichoderma virens*, pertencente à micoteca do Laboratório de Micologia, Instituto de Biologia, Departamento de Microbiologia e Parasitologia, Universidade Federal de Pelotas.

As culturas foram mantidas em tubos de ensaio contendo agar batata (PDA) a 4ºC, posteriormente foram sub-cultivadas emplacas de Petri com PDA e incubadas a 25°C, durante dez dias. A seguir, discos de 4mm de cultura de cada isolado fúngico foram transferidos para frascos tipo Erlenmeyer contendo 100 mL de meio mínimo líquido [glicose(1,8g/L); NH4NO3(0,4g/L); MgSO47H2O (0,12g/L); Na2HPO4 7H2O

(3,18g/L), KH2PO4 (0,26g/L), extrato de levedura (0,3g/L)]. Os frascos foram incubados a 25°C em agitador rotatório a 120 rpm, durante cinco dias.

3.2. Produção dos extratos fúngicos: A partir das culturas em meio mínimo líquido, dois diferentes extratos dos fungos foram obtidos, os quais foram denominados: extrato filtrado (EF), obtido pela passagem do sobrenadante através de papel filtro Whatman nº1 e o extrato macerado bruto (MB). Para obtenção do macerado bruto (MB), primeiramente o micélio foi separado do meio sobrenadante através de tamis. Em seguida o micélio fúngico foi macerado em três banhos de nitrogênio líquido até a obtenção de um pó, o qual foi ressuspendido ao meio líquido sobrenadante. Todos os extratos foram preparados e utilizados no mesmo dia.

3.3. Amostras de fezes: A coleta de fezes foi realizada da ampola retal de 32 ovinos naturalmente infectados com nematódeos gastrointestinais. As fezes foram encaminhadas para o laboratório, acondicionadas em caixas térmicas para mantê-las refrigeradas.

3.3.1. Obtenção das larvas de nematódeos gastrointestinais

As larvas (L1) foram obtidas, a partir da incubação dos ovos de acordo com a técnica descrita por Hubert e Kerboeuf (1992). Os ovos recuperados foram incubados em estufa, a 25°C durante 24 horas. Após esse período obteve-se as larvas de primeiro estágio (L1) eclodidas dos ovos.

3.4. Ensaios experimentais:

3.4.1. Avaliação da atividade in vitro de extratos fúngicos de P. lilacinum e T. virens sobre ovos de tricostrongilídeos presentes nas fezes de pequenos ruminantes (Experimento 1): Em frascos estéreis, foram adicionados 4 gramas de fezes parasitadas com aproximadamente 5 mil ovos de tricostrongilídeos e juntamente a elas foram vertidos 1000 µL dos extratos fúngicos, EF e MB, preparados conforme item 3.2. Nos frascos correspondentes ao grupo controle colocou-se 4gr de fezes parasitadas e vertido 1000 µL de meio mínimo empregado na cultura fúngica. Todos os frascos foram incubados a 28°C e UR acima de 80%, durante seis dias. Cada tratamento foi constituído de quatro repetições, assim como

o grupo controle. Seguindo a técnica de coprocultura descrita por Roberts e O'Sullivan (1950), foi realizada a recuperação e contagem das larvas em lupa estereoscópica. A interpretação levou em consideração o número total de larvas (ovos eclodidos) de tricostrongilídeos presentes em cada frasco dos grupos tratados e controle.

Para a verificação de larvas viáveis e intactas (recuperação de larvas), foi utilizada a técnica de Baermann (CORT et al., 1922) modificada. Cada frasco foi virado dentro de placas de petri, para que o conteúdo de dentro do frasco fique em contato com a placa e adicionada água destilada morna dentro das placas. Transcorrido o tempo de repouso de 1 a 2 horas, 2 a 5 mL da água das placas foram coletadas e examinadas em microscópio. A leitura final levou em consideração o número total de larvas que realizaram a migração.

3.4.2. Avaliação da atividade in vitro de extratos fúngicos de P. lilacinum, T. virens e D. flagrans sobre larvas de tricostrongilídeos presente nas fezes de pequenos ruminantes (Experimento 2): Em frascos, foram adicionados 4 gramas de fezes não parasitadas, em seguida foram vertidos 1000 µL dos extratos fúngicos, EF e MB, preparados conforme item 3.2. A esse volume foi acrescido 1000 µL de uma suspensão contendo aproximadamente 5 mil larvas de tricostrongilídeos produzidas conforme item 3.2. Nos frascos correspondentes ao grupo controle foi dispensado 4gramas de fezes não parasitadas e uma suspensão contendo aproximadamente 5 mil larvas e adicionado 1000 µL do meio mínimo empregado para a cultura fúngica. Todos os frascos foram incubados a 28°C e UR acima de 80%, durante seis dias. Cada tratamento foi constituído de quatro repetições, assim como o grupo controle. Após este período foi realizada a recuperação, contagem e identificação das larvas em lupa estereoscópica e se levou em consideração o número total de larvas de tricostrongilídeos presentes em cada frasco dos grupos tratados e controle.

Para a verificação de larvas viáveis e intactas (recuperação de larvas), foi utilizada a técnica de Baermann (CORT et al., 1922) modificada. Cada frasco foi vertido dentro de placas de petri, para que o conteúdo de dentro do frasco fique em contato com a placa e adicionado água destilada morna dentro das placas. Transcorrido o tempo de repouso de 1 a 2 horas, cerca de 2 a 5 mL da água das

placas foram coletadas e examinadas em microscópio. A leitura final levou em consideração o número total de larvas que realizaram a migração.

3.5. Análise estatística: Visando comparar os tratamentos utilizando extratos enzimáticos de *T. virens*, *P. lilacinum* e *D. flagrans* nas contagens de ovos e larvas de tricostrongilídeos, foram aplicados testes não paramétricos de Friedman, seguidos de comparação múltipla por meio de testes de Dunn, após verificada ausência na distribuição normal dos dados nos testes de Shapiro-wilk. Considerou-se um nível mínimo de confiança de 95% em todas as análises estatísticas.

Para cada experimento, também foi calculado o percentual de redução da média de larvas utilizando-se a seguinte equação, conforme citado por Braga et al. (2010, 2011):

$$\% \text{ de redução} = \frac{(\text{média de larvas do grupo controle} - \text{média de larvas do grupo tratado})}{\text{média de larvas do grupo controle}} \times 100$$

4 –Resultados

Na tabela 1 estão demonstrados os resultados obtidos a partir da interação dos extratos fúngicos EF e MB de *T. virens* e *P. lilacinum* com os ovos de tricostrongilídeos. Quando comparados os fungos e seus extratos entre si, evidenciou-se que apenas o MB do *T. virens* diferiu do grupo controle assim como dos demais (P<0.05).

Tabela 1: Eclodibilidade de ovos de tricostrongilídeos após a interação com extratos fúngicos de *Purpureocilium lilacinum* e *Trichoderma virens.*

Comparação entre os tratamentos	Média de ovos eclodidos
MB *T. virens* X MB *P. lilacinum*	1,000[a]
MB *T. virens* X EF *P. lilacinum*	0,442[a]
MB *T. virens* X EF *T. virens*	0,073[a]
MB *T. virens* X controle	0,008[b]
MB *P. lilacinum* X EF *P. lilacinum*	1,000[a]
MB *P. lilacinum* X EF *T. virens*	0,736[a]
MB *P. lilacinum* X controle	0,139[a]
EF *T. virens* X EF *P. lilacinum*	1,000[a]
EF *P. lilacinum* X controle	1,000[a]
EF *T. virens* X controle	1,000[a]

Médias seguidas de letras diferentes na coluna e linha diferiram estatisticamente (P<0.05)

Observou-se que o percentual de redução de eclodibilidade do extrato MB de ambos os isolados fúngicos foi superior ao extrato EF, sendo o percentual para o MB de *T. virens* de 91,4% e para o MB de *P. lilacinum* de 89,7%. Já para o EF de *T. virens* observou-se percentual de redução de eclodibilidade de 42,6% e para o EF de *P. lilacinum* de 63,5%. Embora estatisticamente somente o MB do *T. virens* tenha demonstrado diferença significativa do grupo controle, notou-se que todos os extratos testados apresentaram algum grau de redução de eclodibilidade.

De acordo com a tabela 2, que mostra a ação dos extratos fúngicos sobre as larvas, evidenciou-se a partir da análise estatística que os extratos fúngicos quando comparados entre si e com o grupo controle, não demonstraram diferença significativa (P<0.05). Entretanto, o extrato MB de *D. flagrans* e o MB de *P. lilacinum* diferiram dos demais extratos assim como do grupo controle evidenciando sua ação larvicida e reduzindo a migração das larvas de tricostrongilídeos (P<0.05).

Tabela 2: Larvas viáveis de tricostrongilídeos após exposição a diferentes extratos fúngicos de *Trichoderma virens, Purpureocilium lilacinum* e *Duddingtonia flagrans.*

Comparação entre os tratamentos	Média de larvas
MB *D. flagrans* X MB *P. lilacinum*	1,000[a]
MB *D. flagrans* X MB *T. virens*	1,000[a]
MB *D. flagrans* X EF *P. lilacinum*	0,701[a]
MB *D. flagrans* X EF *T. virens*	0,451[a]
MB *D. flagrans* X EF *D. flagrans*	0,461[a]
MB *D. flagrans* X controle	0,007[b]
MB *P. lilacinum* X MB *T. virens*	1,000[a]
MB *P. lilacinum* X EF *P. lilacinum*	1,000[a]
MB *P. lilacinum* X EF *T. virens*	1,000[a]
MB *P. lilacinum* X EF *D. flagrans*	1,000[a]
MB P. *lilacinum* X controle	0,022[b]
MB *T. virens* X EF *P. lilacinum*	1,000[a]
MB *T. virens* X EF *T. virens*	1,000[a]
MB *T. virens* X EF *D. flagrans*	1,000[a]
MB *T. virens* X controle	0,113[a]
EF *P. lilacinum* X EF *T. virens*	1,000[a]
EF *P. lilacinum* X EF *D. flagrans*	1,000[a]
EF *P. lilacinum* X controle	1,000[a]
EF *T. virens* X EF *D. flagrans*	1,000[a]
EF *T. virens* X controle	1,000[a]
EF *D. flagrans* X controle	1,000[a]

Médias seguidas de letras diferentes na coluna e linha diferiram estatisticamente (P<0.05)

Todos os extratos testados mostraram-se eficientes em sua capacidade de causar a redução de migração das larvas, sendo que os MB de todos os fungos testados mostraram atividade larvicida superior aos EF dos mesmos fungos. Os resultados encontrados em percentual de redução de migração de larvas para o M do *T. virens* foi de 81,2%, para o MB do *P. lilacinum* foi de 85,6% e para o MB de *D. flagrans* foi de 87,6%. Já para os extratos filtrados os percentuais foram: EF do *T. virens* foi de 69,6%, para o EF do *P. lilacinum* foi de 70,3% e para o EF de *D. flagrans* foi de 70,0%.

5- Discussão

Nesse estudo evidenciou-se que os extratos fúngicos MB e EF preparados a partir de culturas de *T. virens* (MICLAB008) e *P. lilacinum* (CG 193) apresentaram atividade ovicida sobre ovos de tricostrongilídeos parasitos de pequenos ruminantes.

Nos estudos realizados por Hoffstätter et al. (2016), foi comprovada a ação ovicida de diferentes extratos a partir de quatro isolados fúngicos, incluindo *T. virens* (MICLAB008) e *P. lilacinum* (CG 193) sobre ovos de *Ancylostoma* spp.. Embora esses autores tenham observado significativo efeito ovicida dos extratos avaliados, os mesmos evidenciaram que os extratos MB e EF de *P. lilacinum* não diferiram entre si em sua ação ovicida. Nossos resultados foram semelhantes, pois também não foi possível evidenciar-se diferença entre a atividade ovicida dos extratos EF e MB do fungo *P. lilacinum* sobre ovos de tricostrongilídeos. Resultados similares foram relatados por Baptista (2017), ao testar *in vitro* a ação desses extratos sobre suspensão de ovos de tricostrongilídeos obtidos a partir de fezes de animais parasitados. O diferencial do presente estudo é que a ação dos extratos fúngicos foi avaliada sobre ovos presentes no bolo fecal.

Para o extrato MB do *T. virens,* observou-se que ele diferiu de todos os extratos e também do grupo controle ($P<0.05$), mostrando sua eficiência na redução da eclodibilidade de ovos de tricostrongilídeos. De acordo com Baptista (2017), seus resultados foram semelhantes aos encontrados no presente trabalho, pois no seu estudo foi evidenciado que a ação dos extratos MB e EF de *T. virens* diferiram entre si, bem como do grupo controle ($P<0.05$) nos períodos avaliados. Resultadossimilares também foram relatados por Hoffstätter et al. (2016) ao avaliar a ação de MB e EF de *T. virens* sobre ovos de *Ancylostoma* spp..

Entretanto, ressalta-se que os percentuais de redução de eclodibilidade do MB para ambos os fungos se comportaram sempre de forma superiores aos EF, atingindo valores acima de 89%, concordando com os resultados relatados por Hoffstätter et al. (2016). Esses autores sugeriram que essa atividade do extrato MB pode ser decorrente da presença de enzimas intracelulares que são liberadas durante o processo de maceração e que somadas à ação das enzimas extracelulares secretadas no sobrenadante aumentam a eficácia do extrato do fungo.

Considerando que este é o primeiro estudo a avaliar a ação de extratos fúngicos sobre fezes parasitadas com ovos de tricostrongilídeos e avaliando os resultados obtidos, acredita-se no potencial de *P. lilacinum* e *T. virens* como agentes de biocontrole.

Os fungos considerados predadores representam um grupo de micro-organismos muito utilizados no controle biológico de nematoides. Os mesmos agem predando larvas infectantes (L3) presentes no ambiente (SOARES et al., 2012). Para isso, o processo de infecção depende da ação hidrolítica de enzimas tais como serina proteases (LOPEZ-LLORCA; ROBERTSON, 1992; BONANTS et al. 1995). Várias serina proteases de fungos nematófagos foram purificados e caracterizados, todos muito sensíveis ao inibidor da serina protease, sugerindo que essas proteases desempenham um papel similar na infecção contra nematoides (ZHAO et al., 2004; YANG et al., 2005, 2008; WANG et al. 2006).

No presente estudo evidenciou-se que os extratos fúngicos utilizados sobre larvas de ticostrongilídeos não diferiram do grupo controle, com exceção do MB de *P. lilacinum* e do MB da *D. flagrans* que mostraram-se superiores em sua capacidade de causar a redução da migração das larvas ($P<0.05$). Estudos realizados por Soares et al. (2012), evidenciaram que a serina protease Mt1 produzida pelo fungo *Monacrosporium thaumasium* (NF34a), causou a inviabilização de 23,9% das larvas (L1) de *Angiostrongylus vasorum.* Ao mesmo tempo, Braga et al. (2011a) ao avaliarem a ação do extrato bruto enzimático de *Duddingtonia flagrans* sobre larvas de *Angiostrongylus vasorum*, obtiveram um percentual de redução de larvas de 53,5% e 71,3% em 24 e 48 horas, respectivamente. Esses resultados vão de encontro com os achados no presente estudo, embora os resultados aqui apresentados mostraram-se mais promissores. Contudo, apesar de somente os extratos MB de *P. lilacinum* e *D. flagrans* terem apresentado diferença

significativa, todos os extratos aqui avaliados foram capazes de reduzir o percentual de larvas infectantes.

6- Conclusão

Os extratos enzimáticos dos fungos *T. virens*, *P. lilacinum* e *D. flagrans* reduzem o percentual de eclodibilidade, assim como o número de larvas viáveis após a exposição de ovos e larvas de tricostrongilídeos. Conclui-se que tais fungos são promissores no controle biológico de tricostrongilídeos presentes nas fezes de pequenos ruminantes.

Referências

AMARANTE, A. F. T.; BRICARELLO, P. A.; ROCHA, R. A.; GENNARI, S. M. Resistance of Santa Ines, Suffolk and Ile de France lambs to naturally acquired gastrointestinal nematode infections. **Veterinary Parasitology**, v.120, p.91-106, 2004.

AMARANTE, A. F. T.; SALES, R. O. Controle de endoparasitoses dos ovinos. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v.1, n.1, p.91-113, 2007.

AMARANTE, A. F. T. Controle da verminose ovina. **Revista Conselho Federal de Medicina Veterinária**, n.34, p.19-30, 2005.

AMARANTE, A. F. T.; SALES, R. O. Controle de endoparasitoses dos ovinos. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v. 1, n. 1, p. 91-113, 2007.

AMARANTE, A.F.T. Nematoides gastrintestinais em ovinos. In: CAVALCANTE, A.C.R.; VIEIRA, L.S.; CHAGAS, A.C.S.; MOLENTO, M.B. **Doenças parasitárias de caprinos e ovinos: epidemiologia e controle**. Brasília, DF: Embrapa, p.19-61, 2009.

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

ARAÚJO, J. V.; ASSIS, R. C. L.; CAMPOS, A. K.; MOTA, M. A. Atividade in vitro dos fungos nematófagos dos gêneros *Arthrobotrys, Duddingtonia e Monacrosporium* sobre nematoides tricostrongilídeos (nematoda: Trichostrongyloidea) parasitos gastrintestinais de bovinos. **Revista brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 13, n.2, p. 65-71, 2004a.

ARAÚJO, J. V.; GUIMARÃES, M. P.; CAMPOS, A. K.; SÁ, N. C.; SARTI, P.; ASSIS, R. C. L. Control of bovine gastrointestinal nematode parasites using pellets of the

nematode-trapping fungus *Monacrosporium thaumasium.* **Ciências Rural**, Santa Maria. v.34, n.2, p.457-463, 2004b.

ARAÚJO, J. V.; ASSIS, R. C. L.; ALVES, P. H.; CAMPOS, A. K.; GANDRA, J. R. Controle biológico de tricostrongilídeos (Nematoda: Trichostrongyloidea) gastrintestinais de bovinos pelo fungo *Monacrosporium sinense.* **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia.** v.56, n.4, p.467-471, 2004c.

ARAÚJO, J. V. Diagnóstico das helmintoses. Universidade Federal de Viçosa, p.9-46 (**Caderno Didático, 113**), 2006.

ARAÚJO, J. V.; FREITAS, B. W.; VIERA, T. C.; CAMPOS, A. K. Avaliação do fungo predador de nematoides *Duddingtonia flagrans* sobre larvas infectantes de *Haemonchus contortus* e *Strongyloides papilosus* em caprinos. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.15, p.76-79, 2006b.

ARAÚJO, J. V.; RODRIGUES, M. L. A.; SILVA, W. W.; VIEIRA, L. S. Controle biológico de nematoides gastrintestinais de caprinos em clima semi-árido pelo fungo *Monacrosporium thaumasium.* **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.42, n.8, p.1177-1181, 2007.

ARAÚJO, F. B. **Isolamento, caracterização e eficácia de fungos nematófagos autóctones do Rio Grande do Sul no controle de nematóides gastrintestinais de ovinos.** – Tese (Doutorado). Programa de Pós-Graduação em Veterinária. Pelotas, RS, 2014.

ASSIS, R. C. L.; ARAÚJO, J. V. Avaliação da viabilidade de duas espécies de fungos predadores do gênero *Monacrosporium* sobre ciatostomíneos após a passagem pelo trato gastrintestinal de equinos em formulação de alginato de sódio. **Revista brasileira de Medicina Veterinária.** v.12, n.3, p.109-113, 2003.

ATHANASIADOU, S.; KYRIAZAKIS, I.; JACKSON, F.; COOP, R. L. Direct anthelmintic effects of condensed tannins towards different gastrointestinal nematodes of sheep: in vitro and in vivo studies. **Veterinary Parasitology**, v.99, p.205-219, 2001.

BAPTISTA, C. T. **Ação de extratos fúngicos sobre ovos e larvas de tricostrongilídeos parasitos de ovinos**. 2017. 96 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas/RS, 2017.

BARRON, G. L. The nematode-destroying fungi. Canadá: **Canadian Biological Publications**, p.140, 1977.

BONANTS, P. J. M.; FITTERS, P. F. L.; THIJS, H.; DEN BELDER, E.; WAALWIJK, C.; HENFLING, J. W. D. M. A basic serine protease from *Paecilomyces lilacinus* with biological activity against *Meloidogyne hapla* eggs. **Microbiology**, v.141, p.775–784, 1995.

BOWMAN, D. D.; GEORGI, J. R.; LYNN, R. C. Georgi's parasitology for veterinarians. 8th ed. St. Louis; **Saunders Publishing Company**, 2003. 422p.

BLACKHALL W. J., POULIOT, J. F. PRICHARD, R. K., BEECH, R. N. *Haemonchus contortus*: selection at a glutamate-gated chloride channel gene in ivermectin- and moxidectin-selected strains. **Experimental Parasitology**, v.90, n.1, p.42-48, 1998.

BRAGA, F. R.; ARAÚJO, J. V.; CARVALHO, R. O.; SILVA, A. R.; ARAÚJO, J. H.; SOARES, F. E. F.; GENIÊR, H. L. A.; FERREIRA, S. R.; QUEIROZ, J. H. Ovicidal action of a crude enzymatic extract of the fungus *Pochonia chlamydosporia* against cyathostomin eggs. **Veterinary Parasitology**, v. 172, p. 264-268, 2010.

BRAGA, F. R.; ARAÚJO, J. M.; SILVA, A. R.; ARAÚJO, J. V.; CARVALHO, R. O.; SOARES, F. E. F.; QUEIROZ, J. H.; GENIÊR, H. L. A. Ação ovicida do extrato bruto enzimático do fungo *Pochonia chlamydosporia* sobre ovos de *Ancylostoma* sp. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical** v. 44(1), p.116-118, jan-fev, 2011.

BRAGA, F. R.; ARAÚJO, J. M.; TAVELA, A. O.; ARAUJO, J. V.; SOARES, F. E. F.; GENIER, H. L. A.; LIMA, W. S.; MOZZER, L. R.; QUEIROZ, J. H. Atividade larvicida do extrato bruto enzimático do fungo *Duddingtonia flagrans* sobre larvas de primeiro estádio de *Angiostrongylus vasorum*. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical,** v. 44, n. 3, p. 383-385, 2011a.

BRAGA & ARAUJO. Nematophagous fungi for biological control of gastrointestinal nematodes in domestic animals. **Applied Microbiology and Biotechnology**, n. 98, p.71‑82, 2014.

BRUNDSON, R. V. Principles of helminth control. **Veterinary Parasitology**, v.6, p.185-215,1980.

CARNEIRO, R. M. G. Princípios e tendências do controle biológico de nematóides com fungos nematófagos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 27, p. 113-121, 1992.

CASTRO, A. A.; ALMEIDA, L. R.; GUEDES JÚNIOR, D. S.; FARIA, M. F.R.; FONSECA, A. H. Migração vertical de larvas infectantes de nematóides gastrintestinais de ruminantes em pastagens, durante a estação chuvosa, no município de Seropédica, RJ, Brasil. In: **CONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA**,12, 2002, Rio de Janeiro. Anais... Rio de Janeiro: Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 2002.

CIARMELA, M. L.; LORI, M. G.; BASUALDO, J. A. Biological interaction between soil fungi and *Toxocara canis* eggs. **Veterinary Parasitology**, v. 103, n.3, p.251-257, 2002.

CORT, W.W.; ACKERT, J. E.; AUGUSTINE, D. L.; PAYNE, F. K. Investigations on the control of hooworm disease. II.The description of an apparatus for isolating infective hookworm larvae from soil. **American Journal of Hygiene**, v.2, n.1, p.1-16, 1922.

CHARLES, T.P. FURLONG, J. A survey of dairy cattle worm control practices in Southeast Brazil. **Veterinary Parasitology** , v.65, p.65-73, 1996.

DE FREITAS, L. G. Destruição de ovos de *Toxocara canis* pelo fungo nematófago *Pochonia chlamydosporia*. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 43, n. 1, p. 102-104, 2010.

DOMINGUES, L. F.; GIGLIOTI, R.; FEITOSA, K. A.; FANTATTO, R. R.; RABELO, M. D.; OLIVEIRA, M. C. S.; BECHARA, G. H.; OLIVEIRA, G. P.; JUNIOR, W. B.; CHAGAS, A. C. *In vitro* and *in vivo* evaluation of the activity of pineapple (Ananas comosus) on *Haemonchus contortus* in Santa Inês sheep. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 193, p. 263-270, 2013.

DONALD, A. D.; MORLEY, F. H. W.; WALLER, P. J.; AXELSEN, A.; DONELLY, J. R. Availability to of gastrintestinal nematode infection arising from summer contamination of pastures. **Australian Veterinary Journal**, n.29, p.189-200, 1978.

DOS SANTOS, V. T.; GONÇALVES, P. C. Verificação de estirpe de *Haemonchus* resistente ao thiabendazole no Rio Grande do Sul. **Revista da Facudade de Agronomia e Veterinária**, Porto Alegre, v.9, p.201-209, 1967.

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

ECHEVARRIA, F. A. M.; TRINDADE, G. N. P. Anthelmintic resistance by *Haemonchus contortus* to ivermectin in Brazil*.* **Veterinary Record**, v.124, p.147-148, 1989.

ECHEVARRIA, F. Resistência anti-helmíntica. In: PADILHA, T. **Controle dos Nematódeos Gastrintestinais em Ruminantes.** Coronel Pacheco: EMBRAPA, p. 53-75. 1996a.

FAEDO M.; LARSEN, M.,S.; THAMSBORG, S. Effect different times of administration of the nematophagous fungus *Dunddingtonia flagrans* on the transmission of ovine parasitic nematodes on pasture – a plot study. **Veterinary Parasitology**, n. 94, p. 55-65, 2000.

FALBO, M.K.; SOCCOL, V.T.; SANDINI, I.E.. Atividade anti-helmíntica do fruto de *Melia azedarach* em cordeiros naturalmente infectados com nematódeos gastrintestinais. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 29, n. 4, p. 881-886, 2008.

FERNANDEZ, M. F. **Avaliação da ação do fungo predador de nematóides *Duddingtonia flagrans* sobre larvas infectantes de *Ancylostoma ceylanicum*.** 2011. 44f. Dissertação (Mestrado em Parasitologia), Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2011.

FERRAZ, S.; FREITAS, L.G.; LOPES E. A.; DIAS-ARIEIRA, C.R. **Manejo sustentável de fito nematoides.** Editora: UFV, Viçosa, MG, 2010, 306 p.

FONTENOT, M. E. ; MILLER, J. E.; PEÑA, M. T.; LARSEN, M.; GILLESPIE, A. Efficiency of feeding *Duddingtonia flagrans* chlamydospores to grazing ewes on reducing availability of parasitic nematode larvae on pasture. **Veterinary Parasitology**, n.118, p. 203–213, 2003.

FORTES, E. **Parasitologia veterinária**. 3. ed. São Paulo: Ícone..,1997. 686 p.

GAMS, W.; ZARE, R. A revisiono of *Verticillium* sect. Prostrata. III. Generic classification. **Nova Hedwigia**, v.73, n.3-4, p. 329-337, 2001.

GASBARRE, L. C.; MILLER, J. E. Genetics of helminth resistance. In: AXFORD, R.F.E.; BISHOP, S. C.; NICHOLAS, F. W.; OWEN, J. B. (Ed.). Breeding for disease resistance in farm animals. New York: CABI Publishing,. p.129-152, 1999.

GILLEARD, J. S. Haemonchus contortus as a paradigma and model to study anthelmintic drug resistance. **Parasitilogy**. v. 140, p. 1506-1522, 2013.

GRAMINHA, E. B. N.; MAIA, A. S.; SANTOS, J. M.; CÂNDIDO, R. C.; SILVA, G. F.; COSTA, A. J.; Avaliação *in vitro* da patogenicidade de fungos predadores de nematoides parasitos de animais domésticos. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 22, n. 1, p. 11-16, 2001.

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

GROONVOLD, J.; HENRIKSEN, S.A.; LARSEN, M.; NANSEN, P.; WOLSTRUP, J. Aspects of biological control with special reference to arthropods, protozoans and helminths of domesticated animals. **Veterinary Parasitology**, v. 64, n.1-2, p.47-64. 1996.

HOFSTATTER, B. D. M. ; FONSECA, A. da S.; MAIA-FILHO, F. de S.; VALENTE, J. de S. S.; PERSICI, B. M.; POTTER, L.; SILVEIRA, A.; PEREIRA, D. I. B. Effect of *Paecilomyces lilacinus*, *Trichoderma harzianum* and *Trichoderma virens* fungal extracts on the hatchability of *Ancylostoma* spp. Eggs, 2013.

HUBERT, J.; KERBOEUF, D. A microlarval development assay for the detection of anthelmintic resistance in sheep nematodes. **Veterinary Record**, v.130, p.442-446, 1992.

JACKSON, F. Antihelmintics - What’s the alternative? **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.13, s.1, p.62-8, 2004.

KAPLAN, R.; VIDYASHANKAR, A. An inconvenient truth: global worming and anthelmintic resistance. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v.186 p.70- 78, 2012.

KENYON, F.; GREER, A. W.; COLES, G. C.; CRINGOLI, G.; APADOPOULOS, E.; CABARET, J.; BERRAG, B.; VARADY, M.; VAN WYK, J. A.; THOMAS, E.; VERCRUYSSE, J.; JACKSON, F. The role of targeted selective treatments in the

development of refugia-based approaches to the control of gastrointestinal nematodes of small ruminants, **Veterinary Parasitology,** v**.**164, p.3–11, 2009.

KÖHLER, P. The biochemical basis of anthelmintic action and resistance. **International Journal for Parasitology**, v.31, p.336-345. 2001.

KNOX, D. P.; SMITH, W. D. Vaccination against gastrointestinal nematode parasites of ruminants using gut-expressed antigens. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 100, p.21-32, 2001.

LAPAGE, G. Parasitologia veterinaria. 4.ed. México: Editorial Continental , 1976. 790p.

LARSEN, M.; WOLSTRUP, J.; HENRIKSEN, S. A.; GRONVOLD, J.; NANSEN, P. *In vivo* passage through calves of nematophagous fungi selected for biocontrol of parasitic nematodes. **Journal of Helminthology**, v.66, n.2, p.137-141, 1992.

LARSSON, A.; DIMANDER, S. O.; RYDZIK, A.; UGGLA, A.; WALLER, P.J.; HÖGLUND, J. A 3- year field evaluation of pasture rotation and supplementary feeding to control parasite infection in first-season grazing cattle – dynamics of pasture infectivity. **Veterinary Parasitology**, v.145, p.129–137, 2007.

LOPES, J.; SANCHES, J. M.; BRAGA, R. M.; MELO, D. R. Avaliação de diferentes princípios ativos no controle de helmintos gastrintestinais em rebanho ovino na região do Taiano – Roraima. **Revista Brasileira de Ensino de Ciências Agrárias**, v. 1, p. 85-103, 2013.

LOPEZ-LLORCA, L. V.; ROBERTSON, W. M. Ultrastructure of infection of cyst nematode eggs by the nematophagous fungus *Verticillium suchlasporium*. **Nematologica**, v.39, p.65–74, 1992.

McGAVIN, M.D.; ZACHARY, J.F. **Bases da Patologia Veterinária**, 5 ed. Elsevier, 2013.

MAIA-FILHO, F. de S.; VIEIRA, J. N.; BERNE, M. E. A.; STOLL, F. E.; NASCENTE, P. S.; POTTER, L.; PEREIRA, D. I. B. Fungal ovicidal activity on *Toxocara canis* eggs. **Revista Iberoamericana de Micología**, v. 30, I. 4, p. 226-230, 2013.

MAIA FILHO, F. S.; FONSECA, A. O. S.; PERSICI, B. M.; SILVEIRA, J. S.; BRAGA, C. Q.; POTTER, L.; BOTTON, S. A.; PEREIRA, D. I. B. *Trichoderma virens* as a biocontrol of *Toxocara canis*: *In vivo* evaluation. **Revista Iberoamericana de Micología**, 2017.

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**, v.81, p. 39-45, 1999.

MANKAU, R. Biological control of nematode pests by natural enemies. **Annual Review of Phytopathology**, v.18, p.415-440, 1980.

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

MENDOZA-DE GIVES, P., ZAVALETA-MEJIA, E., HERRERA-RODRIGUEZ, D., *et al.* Interaction between the nematode destroying fungus *Arthrobotrys robusta* (Hyphomycetales) and *Haemonchus contortus* infective larvae *in vitro*. **Veterinary Parasitology,** v. 41, p. 101-107, 1992.

MOLENTO, M. B.; LIFSCHITZ, A.; SALLOVITZ, J.; LANUSSE, C.; PRICHARD, R. Influence of verapamil on the pharmacokinetics of the antiparasitic drugs ivermectin and moxidectin in sheep. **Parasitology Research**, v.92, p.121-127, 2004.

MOLENTO, M. B. Resistência de helmintos em ovinos e caprinos. **XIII Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária & I Simpósio Latino- Americano de Ricketisioses**, Ouro Preto, MG, 2004.

MORAES, F. R. **Uso de marcadores imunológicos na avaliação da resposta imune dos ovinos à infecção natural por nematódeos e na seleção de animais resistentes às parasitoses**. 2002. 194 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2002.

MORTENSEN, L. L.; WILLIAMSON, L. H.; TERRILL, T.H. et al. Evaluation of revalence and clinical implications of anthelmintic resistance in gastrointestinal nematodes of goats. **Journal Of the American Veterinary Medical Association**, v.23, p.495–500, 2003.

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

PADILHA, T.; MENDOZA-DE-GIVES, P. Controle microbiano das formas de vida livre dos nematódeos tricostrongilídeos: uma alternativa para higienização das pastagens. In: PADILHA, T. **Controle dos nematódeos gastrintestinais em ruminantes.** Coronel Pacheco: Embrapa-CNPGL, p.215-236, 1996.

PRICHARD, R. K. Anthelmintic resistance in nematodes: Extent, recent understanding and future directions for control and research. **Internacional Journal Parasitology**, Oxon, v.20, n.4, p.515-523, 1990.

RADOSTITS, O. M.; GAY, C. C.; BLOOD, D. C.; HINCHCLIFF, K. W. **Clínica veterinária – um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos e eqüinos.** 9. ed. Guanabara Koogan, 1770p, 2002.

RAMOS, C. I.; BELLATO, V.; SOUZA, A. P.; ÁVILA, V. S.; COUTINHO, G. C.; DALAGNOLL, C. A. Epidemiologia das helmintoses gastrintestinais de ovinos no Planalto Catarinense. **Ciência Rural**, v.34, n.6, p.1889-1895. 2004.

RIBEIRO, R. R. **Atividade predatória sobre larvas de tricostrongilídeos de isolados fúngicos do gênero *Monacrosporium* após a passagem pelo trato gastrointestinal de bovinos.** Viçosa: UFV, 2003. 46p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Universidade Federal de Viçosa, 2003.

ROBERTS, F.H.S.; O'SULLIVAN, P.J. Methods for egg counts and larval cultures for strongyles infecting the gastro-intestinal tract of cattle. **Australian Journal Agriculture Research**, v.1, p.99-102, 1950.

RUAS, J. L. & BERNE, M. E. A. **Parasitoses por nematódeos gastrintestinais em bovinos e ovinos**, p.584-604. In: Riet-Correa F., Schild A.L., Lemos R.A.A. & Borges J.R.J. (Eds), Doenças de Ruminantes e Eqüídeos. Vol.1. Equali, Campo Grande, MS. 722p, 2007.

SANGSTER, N. C. Managing parasiticide resistance. **Veterinary Parasitology,** v.98, p.89-109. 2001.

SAUMELL, C. A.; PADILHA, T. Influence of weather and time of deposition on sheep faeces colonization by nematophagous fungi in the Mata region of Minas Gerais state, Brazil. **Applied Soil Ecology**, v.14, p.63-70, 2000.
SILVA, B. F.; CARRIJO-MAUAD, J. R.; BRAGA, F. R.; CAMPOS, A. K.; ARAÚJO, J. V.; Amarante, A. F. T. Efficacy of *Duddingtonia flagrans* and *Arthrobotrys robusta* in controlling sheep parasitic gastroenteritis. **Parasitology Research**, v.106, p.1343-1350, 2010.

SILVA, A. S.; SCHAFE, A. S.; AIRES, A. R.; TONIN, A. A.; PIMENTEL, V. C.; OLIVEIRA, C. B.; ZANINI, D.; SCHETINGER, M. R. C.; LOPES, S. T. A.; LEAL, M. L. R. E-ADA activity in erythrocytes of lambs experimentally infected with *Haemonchus contortus* and its possible functional correlations with anemia. **Research in Veterinary Science**, v.1, p.1026-1030, 2013.

SOARES, F. E. F.; BRAGA, F. R.; ARAUJO, J. V.; LIMA, W. S.; LANUSE, R. M.; QUEIROZ, J. H. Q. *In vitro* from of a serine protease *Monacrosporium thaumasium* fungus against first-stage larvae of *Angiostrongylus vasorum*. **Parasitology Research**, v.110, p. 2423-2427, 2012.

SOTOMAIOR, C. S.; MORAES, F. P. S.; SOUZA, F. P.; MILCZEWSKI, V.; PASQUALIN, C. A. Parasitoses gastrintestinais dos ovinos e caprinos: alternativas de controle. Curitiba: Instituto Emater, 2009. 36p.

SOUTHCOTT, W. H.; MAJOR, G. W.; BARGER, I. A. Seasonal pasture contamination and availability of nematodes for grazing sheep. **Australian Journal of Agriculture Research**, v.27, n.2, p.277-286, 1976.

SOUZA, M. F. **Recuperação de larvas infectantes, carga parasitária e desempenho de cordeiros terminados em pastagens com distintos hábitos de crescimento**. 2013. 107 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2013.

SUTHERLAND, I. A., LEATHWICK, D. M. Anthelmintic resistance in nematode parasites of cattle: a global issue? **Trends Parasitology**, n. 27, p.176–181, 2011.

SCHNYDER, M.; TORGERSON, P.R.; SCHÖNMANN, M.; KOHLER, L.; HERTZBERG, H. Multiple anthelmintic resistance in *Haemonchus contortus* isolated from South African Boer goats in Switzerland. **Veterinary Parasitology**, v.128, p.285 290, 2005.

SCOTT, I.; POMROY, W.E.; KENYON, P.R.; SMITH, G.; ADLINGTON, B.; MOSS, A. Lack of efficacy of monepantel against Teladorsagia circumcincta and *Trichostrongylus colubriformis*. **Veterinary Parasitology**, v.198, p.166-171, 2013. https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2013.07.037

TAYLOR, M.A.; COOP, R.L.; WALL, R.L. **Veterinary parasitology**. 3.ed. Oxford: Blackwell Publishing, 2007, 874p.

TAYLOR, M.A.; LEARMOUNT, J.; LUNN, E.; MORGAN, C.; CRAIG, B.H. Multiple resistance to anthelmintics in sheep nematodes and comparison of methods used for their detection. **Small Ruminant Research**, v.86, p.67-70, 2009.

URQUHART, G. M.; ARMOUR, J.; DUNCAN, J. L.; DUNN, A. M.; JENNINGS, F. W. **Parasitologia Veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, p. 292, 1998.

VIANA, J. G. A. Panorama geral da ovinocultura no mundo. **Revista Ovinos**, ano 4, n.12, 2008.

VIEIRA, T. M.; FRANÇA, D. E. G.; CÂNDIDO, R. C. S.; BASTOS, G. A.; FERREIRA, A. V. P.; REIS, I. M. F.; VASCONCELOS, V. O.; DUARTE, E. R. Filtrado de *Pecilomyces* sp: na inibição da eclodibilidade de *Haemonchus contortus* provenientes de borregos. **XXI Congresso Brasileiro de Zootecnia**. Vitória, ES, 2014.

VIVEIROS, C. T. **Parasitoses gastrintestinais em bovinos na ilha de S. Miguel, Açores – Inquéritos de exploração, resultados laboratoriais e métodos de controlo**. 2009. 104 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Técnica de Lisboa - Faculdade de Medicina Veterinária. 2009.

VLASSOFF, A.; LEATHWICK, D. M.; HEATH, A. C. G. The epidemiology of nematode infections of sheep. **New Zealand Veterinary Journal**, v. 49, n.6, p. 213-221, 2001.

WALLER, J.; CHANDRAWATHANI, P. *Haemonchus contortus*: Parasite problem Nº1 from Tropics – Polar Circle. Problems and prospects for control based on epidemiology. **Tropical Biomedicine**, Kuala Lumpur, v.22, n.2, p.131-137, 2005.

WANG, M.; YANG, J.K.; ZHANG, K.Q. Characterization of an extracellular protease and its cDNA from the nematode-trapping fungus *Monacrosporium microscaphoides*. **Canadian Journal of Microbiology**. v.52, p.130–139, 2006.

YANG, J.K.; HUANG, X.W.; TIAN, B.Y.; WANG, M.; NIU, Q.H.; ZHANG, K.Q. Isolation and characterization of a serine protease from the nematophagous fungus, *Lecanicillium psalliotae*, displaying nematicidal activity. **Biotechnology Lett**. v27, p.1123–1128, 2005.

YANG, J.K.; YE, F.P.; MI, Q.L.; TANG, S.Q.; LI, J.; ZHANG, K.Q. Purification and cloning of an extracellular serine protease from the nematodetrapping fungus *Monacrosporium cystosporium*. **Journal Microbiology Biotechnology** 18:852–858, 2008.

YEATES, G. W; KING, K. L. Soil nematodes as indicators of the effect of management on grasslands in the New England Tablelands (NSW); Comparison of native and improved grasslands. **Pedobiologia**, v.41, p.526-536, 1997.

ZHANG, K.Q.; HYDE, K.D. 2014. **Nematode trapping fungi**. Fungal Diversity Research Series, v. 23, 392p.

ZHAO, M.L.; MO, M.H.; ZHANG, K.Q. Characterization of a neutral serine prote and its full-length cDNA from the nematodetrapping fungus *Arthrobotrys oligospora*. **Mycologia**. v.96, p.16–22, 2004.