

***Duddingtonia flagrans* no controle de nematoides gastrintestinais de equinos em fases de vida livre**

[Control of free living gastrointestinal nematodes of horses using *Duddingtonia flagrans*]

A. Buzatti¹, C.P. Santos², M.A.M. Fernandes¹, U.Y. Yoshitani¹, L.K. Sprenger¹, M.B. Molento^{1,3*}

¹Universidade Federal do Paraná – UFPR – Curitiba, PR

²Universidade Estadual do Norte Fluminense – UENF – Campos dos Goytacazes, RJ

³Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia-Pecuária – INCT-Pecuária – Belo Horizonte, MG

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar a atividade predatória do fungo *Duddingtonia flagrans* contra larvas infectantes (L₃) de nematoides gastrintestinais na pastagem e no bolo fecal de equinos, em um período de 21 dias. O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso, com três grupos tratados (G1, G2 e G3) e um controle (C), com oito animais/grupo. Os tratados receberam 1,5x10⁵; 3x10⁵ e 6x10⁵ clamidósporos de *D. flagrans*/kg⁻¹ peso vivo animal, G1, G2 e G3, respectivamente, durante 21 dias, com administração a cada três dias. Foram delimitadas 36 áreas de 1m² cada, equivalendo a repetições em triplicata para cada grupo. As fezes foram coletadas dos animais nos dias 0 (D0), 15 (D15) e 30 (D30 = sete dias após a última administração dos tratamentos) e depositadas nessas áreas de pastagem. O número de larvas presentes nos bolos fecais e na pastagem foi avaliado após 14 e 21 dias de cada etapa de deposição. A avaliação da atividade predatória de *D. flagrans* na pastagem e nos bolos fecais demonstrou que a redução do número de L₃ nos bolos fecais foi acompanhada pelo aumento da variável na pastagem. Não se constatou diferença significativa entre os grupos avaliados em decorrência da temperatura média registrada durante o período. As avaliações realizadas em um curto período podem ser insuficientes para a avaliação do efeito do fungo.

Palavras-chave: *Duddingtonia flagrans*, fungos nematófagos, *Equus caballus*, nematoides

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the predatory activity of the fungus *Duddingtonia flagrans* against infective larvae (L₃) of gastrointestinal nematodes of horses in the pasture and dung patch during a period of 21 days. The experimental design was completely randomized, with three groups treated (G1, G2 and G3) and a control (C), with eight animals/group. The treated animals received G1: 1.5x10⁵; G2: 3x10⁵ and G3: 6x10⁵ chlamydo spores of *D. flagrans*/kg body weight during 21 days. The experiment ran in the environment using 36 areas of 1 m² delimited on pasture, where stool samples were distributed for each group, in triplicates. Feces were collected from the animals at days 0 (D0), 15 (D15) and 30 (D30) and deposited on the pasture areas. After 14 and 21 days of each deposition step, the number of L₃ present in dung and pasture was evaluated. The number of L₃ in the dung was accompanied by increase of the same variable in the pasture. The evaluation recorded in a short period may be insufficient to evaluate fungus development.

Keywords: *Duddingtonia flagrans*, nematophagous fungi, *Equus caballus*, nematodes

Recebido em 29 de junho de 2016

Aceito em 7 de julho de 2016

*Autor para correspondência (corresponding author)

E-mail: molento@ufpr.br

INTRODUÇÃO

Antiparasitários comerciais são, tradicionalmente, usados como o único método de controle das parasitoses gastrintestinais em equinos. Porém, na maioria das vezes, o uso desses produtos ocorre de maneira indevida, indiscriminada e sem a associação de estratégias auxiliares de controle (Molento, 2005). Mundialmente, a situação atual é de resistência à maior parte das classes de antiparasitários disponíveis, principalmente em relação ao controle parasitário em equinos (Nielsen *et al.*, 2014) no qual muitas vezes a resistência ocorre frente a todas as classes anti-helmínticas disponíveis (Canever *et al.*, 2013). Diante desse contexto, torna-se fundamental a mudança da concepção de cura total das parasitoses.

A base de um programa de manejo sanitário integrado para controle de doenças parasitárias deve ser focada em estratégias de gestão, buscando-se reduzir o uso de anti-helmínticos, a seleção de parasitas resistentes e também a liberação de produtos químicos no ambiente (Molento 2009; Kaplan e Vidyashankar, 2012). A integração de medidas para reduzir o número de larvas infectantes nas pastagens pode promover a redução da reinfecção dos animais e, conseqüentemente, o uso de anti-helmínticos (Braga *et al.*, 2009). Neste aspecto, o controle biológico empregando o fungo *Duddingtonia flagrans* destaca-se como uma alternativa promissora, podendo promover sinergismo com o controle parasitário convencional e/ou reduzir a dependência aos anti-helmínticos (Braga *et al.*, 2010).

No controle de nematoides de equinos, diversos estudos já relataram eficácia de *D. flagrans* (Bird e Herd, 1994; Larsen *et al.*, 1996; Madeira de Carvalho *et al.*, 2007; Braga *et al.*, 2009; Araujo *et al.*, 2010; Braga *et al.*, 2010; Braga *et al.*, 2011; Paz-Silva *et al.*, 2011; Tavela *et al.*, 2013; Buzatti *et al.*, 2015). A espécie se destaca pela capacidade de produzir grande quantidade de clamidósporos, estruturas reprodutivas com parede espessa e altamente resistente, que, se ingeridos, percorrem o trato gastrintestinal dos animais e permanecem viáveis quando nas fezes. Em condições ideais de temperatura e umidade, logo após sua excreção, inicia-se a colonização das fezes pelo fungo (Larsen *et al.*, 1999). No bolo fecal, o desenvolvimento do fungo é

estimulado pelo contato com um número crescente de L₃ e também por nematoides de vida livre. Com a colonização, os clamidósporos podem atingir a pastagem, sendo frequente sua ingestão juntamente com o pasto (Paz e Silva *et al.*, 2011).

A ação de *D. flagrans* é concentrada no ambiente fecal e direcionada ao combate das larvas de vida livre dos nematoides (Castro *et al.*, 2003). Dessa forma, o fungo poderá ser aplicado como forma de reduzir a presença de L₃ nas pastagens e, conseqüentemente, a reinfecção dos animais, promovendo a profilaxia das endoparasitoses (Mota *et al.*, 2003). Entretanto, as condições climáticas podem afetar diretamente o desenvolvimento e a atividade predatória do fungo, e sua eficácia pode ser prejudicada quando utilizado sob condições desfavoráveis (Larsen *et al.*, 1999). Além de testes *in vitro*, em condições ideais de temperatura e umidade, avaliações no meio ambiente também se tornam imprescindíveis.

Este estudo teve por objetivo avaliar a atividade de *D. flagrans* contra L₃ de nematoides gastrintestinais na pastagem e no bolo fecal de equinos, durante 21 dias, na cidade de Curitiba, Paraná.

MATERIAL E MÉTODOS

Foi utilizado *D. flagrans*, isolado CG 768, processado no Laboratório de Biologia Celular e Tecidual da Universidade Estadual do Norte Fluminense – Darcy Ribeiro, Campos de Goytacazes, RJ. Empregou-se milho triturado como meio para crescimento, a uma temperatura entre 23 e 27°C, na ausência de luz por 21 dias. Posteriormente, o material foi secado em estufa a 25°C. Após secagem, retiraram-se amostras de 10 gramas e adicionaram-se 100mL de água destilada. O material foi homogeneizado, filtrado e, em seguida, realizou-se contagem de clamidósporos utilizando-se câmara de Neubauer, em triplicata. Foi determinado o número de clamidósporos/mL e posteriormente associaram-se o volume e o peso utilizados para obtenção do número de clamidósporos por grama de milho triturado.

A etapa seguinte foi desenvolvida no Regimento de Polícia Montada Coronel Dulcídio do Estado do Paraná, localizado em Curitiba, PR, de

fevereiro a março de 2013. Foram utilizados 32 cavalos adultos, machos e fêmeas, mantidos em baias individuais durante todo o período experimental. A seleção dos animais, assim como a formação dos grupos, baseou-se na contagem de ovos por grama de fezes (OPG), com valores homogêneos dessa variável entre os grupos. O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso, com três grupos tratados (G1, G2 e G3) e um controle (C), com oito animais/grupo. Os tratados receberam $1,5 \times 10^5$; 3×10^5 e 6×10^5 clamidósporos de *D. flagrans*/kg⁻¹ peso vivo animal, respectivamente, G1, G2 e G3, respectivamente. Os grupos tratados receberam o fungo associado ao milho triturado, juntamente com 300g de aveia em grãos, e o grupo controle recebeu somente a aveia. Em ambos, a administração foi em cochos individuais, entre sete e oito horas da manhã.

Os tratamentos foram administrados a partir do dia 0 até o dia 21, a cada três dias (dia 0/D0; dia 3/D3; dia 6/D6; dia 9/D9; dia 12/D12; dia 15/D15; dia 18/D18; dia 21/D21). Amostras fecais foram coletadas nos dias D0, D15 e D30 (sete dias após a administração do último tratamento = D21). Após cada coleta, as fezes foram separadas por grupo e homogeneizadas, buscando-se obter 1,5kg/grupo/repetição em cada coleta. Após pesagem e identificação, as amostras foram manualmente depositadas na pastagem (em triplicata) para eclosão dos ovos (no D0, todos os grupos apresentavam OPG semelhante) e desenvolvimento das formas larvas dos nematoides. Para cada fase de coleta e deposição das fezes (D0; D15; D30), foram realizadas duas avaliações, aos 14 (D+14) e aos 21 (D+21) dias após a colocação das amostras nas áreas correspondentes. As avaliações consistiram em contagem de L₃ na pastagem e nos bolos fecais correspondentes a cada grupo, por avaliação.

Uma área de pastagem do *Campus* de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná, localizada no bairro Cabral, em Curitiba, PR, foi avaliada, mensurada e cercada. O pasto foi roçado até alcançar aproximadamente 15cm de altura. Realizou-se lavagem de pasto (Molento, 2001) prévia para se avaliar a presença de L₃. No local, foram delimitadas 36 áreas de 1m² cada, para a distribuição de repetições em triplicata para cada grupo. Os grupos foram distribuídos ao acaso entre as áreas; essa etapa durou 51 dias.

Porções de pastagem foram obtidas cerca de 80% próximas (até 20cm) e 20% distantes (20cm – 1m) dos bolos fecais, mas posteriormente foram reunidas e homogeneizadas a fim de se obter uma única amostra de cada repetição. A contagem de larvas por kg de matéria seca (MS) foi realizada conforme técnica de lavagem de pasto descrita por Molento (2001). Para determinação do número de L₃ nos bolos fecais, procedeu-se à técnica de Baermann (Cort *et al.*, 1922). Em cada avaliação, porções dos bolos fecais foram removidas e, para realização da técnica, padronizou-se a utilização de 20g de fezes de cada amostra. Uma porção de cada bolo fecal foi separada para determinação da MS. O resultado foi determinado como o número de larvas por kg/MS.

Dados climáticos correspondentes ao período experimental foram solicitados ao Sistema Meteorológico do Paraná (SIMEPAR), localizado em Curitiba, PR. Foram considerados: temperatura ambiental máxima, média e mínima; precipitação (mm) e umidade relativa do ar. Os registros foram obtidos com periodicidade diária, relativos ao período de primeiro de fevereiro a 30 de abril de 2013. Primeiramente foram analisadas as variações diárias, e após calcularam-se médias mensais para cada uma das variáveis.

Os resultados de contagem de larvas obtidas da pastagem e dos bolos fecais foram submetidos ao teste de normalidade de Lilliefors. Como a normalidade não foi comprovada, aplicou-se o teste estatístico não paramétrico de Kruskal-Wallis, para comparação dos quatro grupos (C, G1, G2, G3) em cada avaliação. O teste de Friedman foi utilizado para avaliar diferenças entre as avaliações. A correlação entre a contagem de L₃ por kg/MS nos bolos fecais e na pastagem foi verificada pelo teste de Spearman. Todas as análises utilizaram o *software* R (R Core Team, 2013).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Conforme Mota *et al.* (2003), algumas características são fundamentais para que um fungo seja selecionado como candidato para uso no controle biológico de nematoides. Primeiramente, deve sobreviver à passagem pelo trato gastrointestinal dos animais e, quando eliminado nas fezes, deve ser capaz de

desenvolver-se e capturar as formas imaturas de parasitas presentes no bolo fecal. Assim, além de avaliar a atividade predatória de um fungo em condições ambientais controladas, como ocorre na coprocultura, deve-se também testá-lo frente a condições ambientais naturais, como na pastagem e no bolo fecal.

Na avaliação da atividade de *D. flagrans* frente a L_3 na pastagem (Fig.1), os grupos tratados demonstraram-se semelhantes ($P>0,05$) entre si e também em relação ao grupo controle, considerando 21 dias de permanência das fezes na pastagem. Enquanto ao avaliar-se cada dia de amostragem o D30+21 revelou diferença ($P<0,05$) entre os grupos C e G1, apresentando este menor número de L_3 .

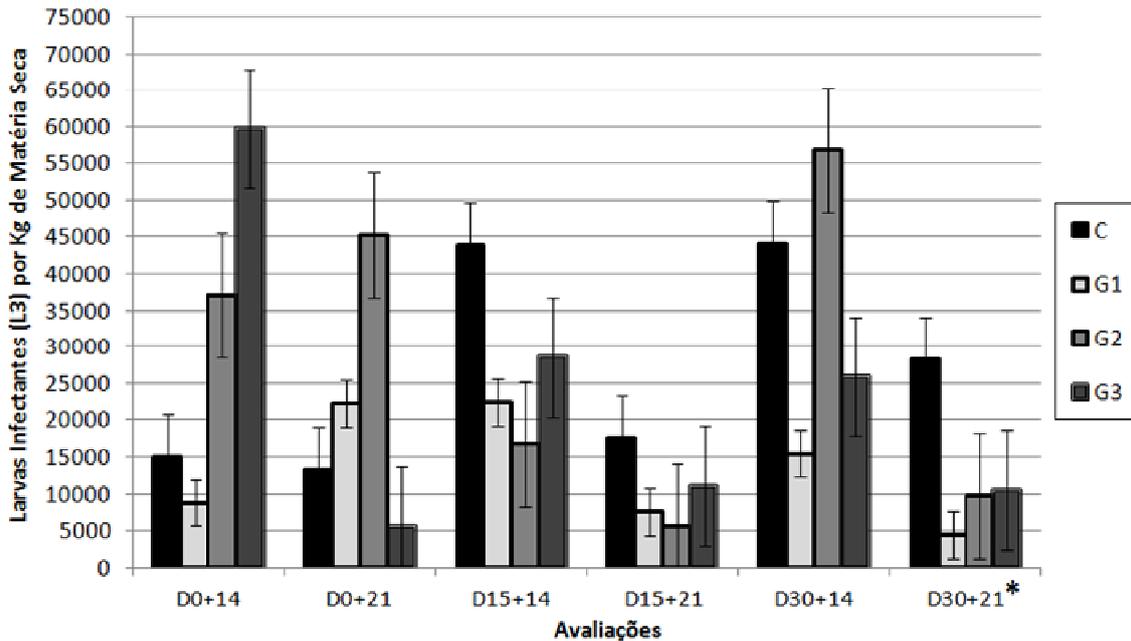


Figura 1. Número médio de L_3 /kg recuperadas da pastagem após deposição artificial de bolos fecais de equinos tratados com diferentes doses de clamidósporos de *Duddingtonia flagrans*. G1: $1,5 \times 10^5$, G2: 3×10^5 e G3: 6×10^5 clamidósporos por kg^{-1} de peso vivo. Asterisco (*) indica avaliação com diferença ($P<0,05$) entre os grupos pelo teste de Kruskal-Wallis.

A contagem de L_3 nos bolos fecais de todos os grupos foi semelhante ($P>0,05$) em cada avaliação e também no decorrer de todas as mensurações realizadas (Fig. 2). Os dados de L_3 no bolo fecal e na pastagem demonstraram correlação negativa ($P<0,05$) ao longo do período experimental, indicando que o aumento do número de L_3 na pastagem foi acompanhado pela diminuição dessa mesma variável nas fezes. Foi interessante observar que existe grande presença de larvas no bolo fecal mesmo após duas a três semanas após sua deposição. Isto pode implicar a contaminação constante da área de pastagem para os animais e o possível benefício do fungo, uma vez que ele tenha condições de crescer e apreender as larvas, reduzindo a taxa de desafio larvar.

Estudos de maior duração já foram desenvolvidos a fim de testar a atividade de *D. flagrans* frente a fatores ambientais e às variáveis climáticas. Para tal, fezes dos animais que receberam o fungo na dieta foram artificialmente depositadas na pastagem, semelhante ao realizado no presente estudo. Em experimentos transcorridos durante cerca de quatro meses, Fernández *et al.* (1997, 1999) avaliaram a atividade de *D. flagrans* na redução de formas larvares de nematoides de equinos na pastagem, obtendo percentuais de redução larval de até 95% e 99,4%, respectivamente. Baudena *et al.* (2000), em 12 meses de avaliações, observaram que *D. flagrans* promoveu redução significativa no número de L_3 a partir do segundo mês de uso.

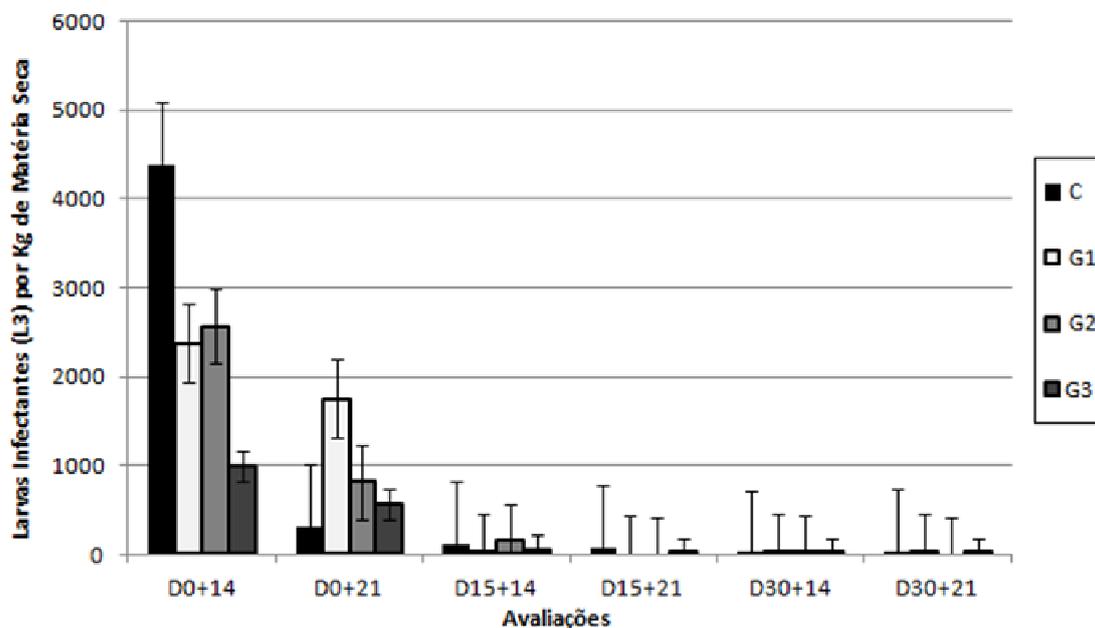


Figura 2. Número médio de L₃/kg recuperadas de bolos fecais de equinos artificialmente depositados no pasto após tratamento com clamidósporos de *Duddingtonia flagrans*. G1: 1,5x10⁵, G2: 3x10⁵ e G3: 6x10⁵ clamidósporos por kg⁻¹ de peso vivo.

Almeida *et al.* (2012) testaram o mesmo fungo, mas na redução de larvas infectantes de endoparasitas de cavalos mantidos em pastagem de campo nativo na região Sul do Brasil. A pesquisa transcorreu durante seis meses (primavera-verão), e somente no último mês o grupo tratado apresentou redução significativa na contagem de L₃. Resultados superiores foram obtidos por Madeira de Carvalho *et al.* (2007), com equinos mantidos em sistema extensivo, com percentuais de redução larval na pastagem entre 50-70% durante o período corresponde à primavera-verão em Portugal.

Na Fig. 3, estão expressas as médias dos dados meteorológicos (SIMEPAR - Sistema Meteorológico do Paraná – Disponível em <http://www.simepar.br/site>), correspondentes ao período experimental. A temperatura média foi de 20,9; 19,3 e 17,7°C, para fevereiro, março e abril, respectivamente. A precipitação média foi a variável que apresentou maior redução: em fevereiro foi de 6,7mm; em março, de 4,0 mm; enquanto em abril foi de apenas 1,7mm. A

umidade relativa do ar registrada foi de 83,6; 85,9 e 80,7% para fevereiro, março e abril, respectivamente.

Conforme Stromberg (1997), temperatura e umidade são fatores essenciais para o desenvolvimento de L₃ de nematoides. Alguns pesquisadores observaram que a taxa de migração de larvas para a pastagem foi reduzida na presença de baixos índices de precipitação e/ou umidade relativa do ar e, como consequência, não foi possível avaliar a atividade predatória de *D. flagrans* (Larsen *et al.*, 1996; Fernández *et al.*, 1997; Baudena *et al.*, 2000). Já Madeira de Carvalho *et al.* (2007) observaram em seu estudo que a elevação de temperatura associada com aumento da precipitação promoveu maior migração das larvas para a pastagem, elevando o crescimento fúngico e, consequentemente, aumentando a sua atividade predatória. Segundo Mota *et al.* (2003), o desenvolvimento do fungo pode ser estimulado pelo contato com um número crescente de L₃ e também por nematoides de vida livre.

Duddingtonia flagrans no controle...

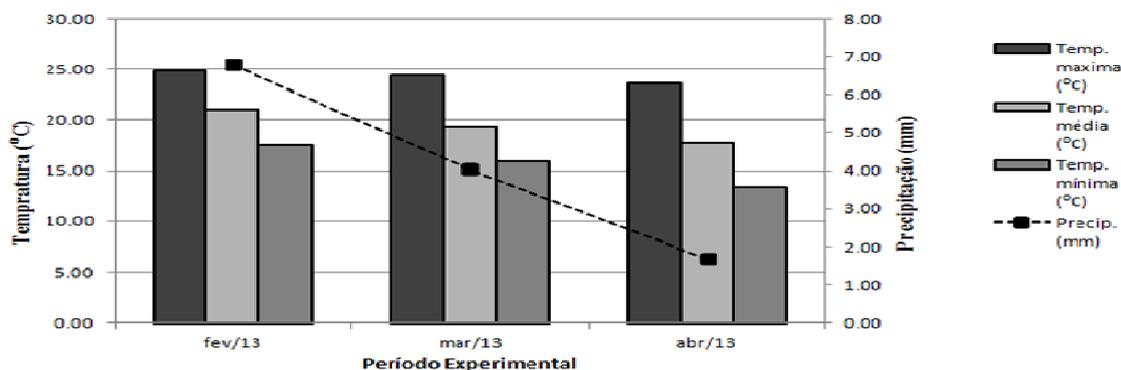


Figura 3. Médias mensais de temperatura (°C) máxima, média e mínima e precipitação (mm) correspondentes ao período de fevereiro – abril de 2013 para Curitiba, PR, Brasil.

As variáveis ambientais também podem afetar diretamente o desenvolvimento do fungo e dos estádios pré-parasíticos dos nematoides gastrintestinais de equinos. *Duddingtonia flagrans* cresce melhor à temperatura entre 25 e 30°C, sendo 30°C a temperatura ótima de desenvolvimento. Em temperaturas inferiores, a taxa de crescimento é mais lenta, ao passo que, em temperaturas superiores, o fungo não cresce (Santos, 2000). Em estudo realizado por Santos *et al.* (2001), foi observado que entre 25 e 30°C *D. flagrans* reduziu acima de 90% de L₃ de ciatostomíneos. Os mesmos autores constataram que 25°C foi a temperatura que proporcionou o maior índice de desenvolvimento de ovos até L₃ desses parasitos. Dessa forma, a temperatura máxima registrada neste estudo (Fig. 3) foi ideal para o desenvolvimento dos estágios pré-parasitários, porém abaixo da indicada para o ótimo crescimento do fungo. As temperaturas médias e mínimas também se mantiveram durante todo o período experimental abaixo do intervalo adequado para o desenvolvimento do fungo. Como *D. flagrans* tem uma taxa de crescimento maior em temperaturas mais elevadas, infere-se que o seu desenvolvimento não foi suficiente para causar uma redução significativa na população de larvas infectantes no meio ambiente.

CONCLUSÕES

As médias de temperatura (máxima, média e mínima) referentes ao período experimental foram desfavoráveis ao ótimo desenvolvimento

de *D. flagrans*, prejudicando sua atividade predatória no meio ambiente. As avaliações realizadas em um curto período podem ser insuficientes para a avaliação do efeito do fungo.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, G.L.; SANTURIO, J.M.; FILHO, J.O.J. *et al.* Predatory activity of the fungus *Duddingtonia flagrans* in equine strongyle infective larvae on natural pasture in the Southern Region of Brazil. *Parasitol. Res.*, v.110, p.657-62, 2012.
- ARAÚJO, J.M.; ARAÚJO, J.V.; BRAGA, F.R. *et al.* In vitro predatory activity of nematophagous fungi and after passing through gastrointestinal tract of equine on infective larvae of *Strongyloides westeri*. *Parasitol. Res.*, v.107, p.103-108, 2010.
- BAUDENA, M.A.; CHAPMAN, M.R.; LARSEN, M. *et al.* Efficacy of the nematophagous fungus *Duddingtonia flagrans* in reducing equine cyathostome larvae on pasture in south Louisiana. *Vet. Parasitol.*, v.89, p.219-230, 2000.
- BIRD, J.; HERD, R.P. Nematophagous fungi for the control of equine cyathostomes. *Compend. Cont. Educ. Pract. Vet.*, v.16, p.658-665, 1994.
- BRAGA, F.R.; ARAÚJO, J.V.; ARAÚJO, J.M. *et al.* 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). *Exp. Parasitol.*, v.128, p.460-463, 2011.
- BRAGA, F.R.; ARAÚJO, J.V.; SILVA, A.R. *et al.* Biological control of horse cyathostomins (Nematoda: Cyathostominae) using the nematophagous fungus *Duddingtonia flagrans* in tropical southeastern Brazil. *Vet. Parasitol.*, v.163, p.335-340, 2009.

- BRAGA, F.R.; ARAÚJO, J.V.; SILVA, A.R. *et al.* Predatory activity of the nematophagous fungus *Duddingtonia flagrans* on horse cyathostomin infective larvae. *Tropical animal health and production*, v.42, p.1161-1165, 2010.
- BUZATTI, A.; PAULA SANTOS, C.; FERNANDES, M.A.M. *et al.* *Duddingtonia flagrans* in the control of gastrointestinal nematodes of horses. *Exp. Parasitol.*, v.159, p.1-4, 2015.
- CANEVER, R.J.; BRAGA, P.R.; BOECKH, A. *et al.* Lack of Cyathostomin sp. reduction after anthelmintic treatment in horses in Brazil. *Vet. Parasitol.*, v.194, p.35-39, 2013.
- CASTRO, A.A.; OLIVEIRA, C.R.C.; ANJOS, D.H.S. *et al.* Potencial dos fungos nematófagos *Arthrobotrys* sp. e *Monacrosporium thaumasium* para o controle de larvas de ciatostomíneos de equinos (Nematoda: Cyathostominae). *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, v.12, p.53-57, 2003.
- CORT, W.W.; JAMES, E.A.; DONALD, L.A. *et al.* Investigation on the control of hookworm disease. II. The description of an apparatus for isolating infective hookworm larvae from soil. *Am. J. Epidemiol.*, v.2, p.1-16, 1992.
- FERNÁNDEZ, A.S.; HENNINGSEN, E.; LARSEN, M. *et al.* A new isolate of the nematophagous fungus *Duddingtonia flagrans* a biological control agent against free-living larvae of horse strongyles. *Equine Vet. J.*, v.31, p.488-491, 1999.
- FERNÁNDEZ, A.S.; LARSEN, M.; NANSEN, P. *et al.* Effect of the nematode-trapping fungus *Duddingtonia flagrans* on the free-living stages of horse parasitic nematodes: a plot study. *Vet. Parasitol.*, v.73, p.257-266, 1997.
- KAPLAN, R. M.; VIDYASHANKAR, A. N. An inconvenient truth: global worming and anthelmintic resistance. *Vet. Parasitol.*, v.186, p.70-78, 2012.
- LARSEN, M.; NANSEN, P.; GRØNDAHL, C. *et al.* The capacity of the fungus *Duddingtonia flagrans* to prevent strongyle infections in foals on pasture. *Parasitology*, v.113, p.1-6, 1996.
- LARSEN, M. Biological control of helminths. *Int. J. Parasitol.*, v.29, p.139-146, 1999.
- MADEIRA DE CARVALHO, L.M.; GILLESPIE, A.T.; SERRA, P.M. *et al.* Eficácia do fungo nematófago *Duddingtonia flagrans* no controle biológico da estrogilidose equina no Ribatejo. *Rev. Port. Ciênc. Vet.*, v.102, p.233-247, 2007.
- MOLENTO, M.B. Parasite control in the age of drug resistance and changing agricultural practices. *Vet. Parasitol.*, v.163, p.229-234, 2009.
- MOLENTO, M.B. Parasite resistance of helminths of equids and management proposal's. *Cienc. Rural*, v.35, p.1469-1477, 2005.
- MOLENTO, M.B. Técnica de contagem de larvas no pasto como ferramenta para diagnóstico parasitológico. In: SIMPÓSIO DA REDE DE HELMINTOLOGIA PARA AMÉRICA LATINA E CARIBE, 2., 2001, Buenos Aires. *Anais...* Buenos Aires: [s.n.], 2001. p.2.
- MOTA, M.A.; CAMPOS, A.K.; ARAÚJO J.V. Controle biológico de helmintos parasitos de animais: estágio atual e perspectivas futuras. *Pesqui. Vet. Bras.*, v.23, p.93-100, 2003.
- NIELSEN, M.K.; REINEMEYER, C.R.; DONECKER, J.M. *et al.* Anthelmintic resistance in equine parasites—Current evidence and knowledge gaps. *Vet. Parasitol.*, v.204, p.55-63, 2014.
- PAZ-SILVA, A.; FRANCISCO, I.; VALERO-COSS, R.O. *et al.* Ability of the fungus *Duddingtonia flagrans* to adapt to the cyathostomin egg-output by spreading chlamydospores. *Vet. Parasitol.*, v.179, p.277-282, 2011.
- R core team (2013). R: a language and environment for statistical computing, version 2.15.3. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.r-project.org/>
- SANTOS, C.P.; PADILHA, T.; RODRIGUES, M.L.A. Predatory activity of *Arthrobotrys oligospora* and *Duddingtonia flagrans* on pre-parasitic larval stages of cyathostominae under different constant temperatures. *Ciênc. Rural.*, v.31, p.839-842, 2001.
- SANTOS, C.P. *Isolamento, identificação, produção de fungos nematófagos e avaliação de algumas características biológicas do fungo Duddingtonia flagrans*. 2000. 90f. Dissertação (Doutorado em Medicina Veterinária). – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ.
- STROMBERG, B.E. Environmental factors influencing transmission. *Vet. Parasitol.*, v.72, p.247-264, 1997.
- TAVELA, A.E.O.; ARAÚJO, J.V.; BRAGA, F.R. *et al.* Coadministration of sodium alginate pellets containing the fungi *Duddingtonia flagrans* and *Monacrosporium thaumasium* on cyathostomin infective larvae after passing through the gastrointestinal tract of horses. *Res. Vet. Sci.*, v.94, p.568-72, 2013.