

EFEITO DO FUNGO *Metarhizium anisopliae* SOBRE ESTÁDIOS PRÉ-PARASÍTICOS DE CYATHOSTOMINAE (NEMATODA: STRONGYLIDAE)

THE EFFECT OF THE FUNGUS *Metarhizium anisopliae* AT FREE LIVING STAGES OF CYATHOSTOMINAE (NEMATODA: STRONGYLIDAE).

Maria de Lurdes de Azevedo Rodrigues¹ Vânia Rita Elias Pinheiro Bittencourt¹
Débora Henrique da Silva Anjos² Abisair Andrade de Castro²

- N O T A -

RESUMO

O efeito do fungo *Metarhizium anisopliae* sobre estádios de vida livre de nematóides ciatostomíneos (*Strongylidae: Cyathostominae*) foi avaliado, visto que sua patogenicidade para insetos e carrapatos já é comprovada. Para isto, foi utilizada uma cultura deste fungo em meio de arroz, contendo $1,3 \times 10^8$ conídios de *M. anisopliae* por grama, que foi adicionada a coproculturas com ovos de nematóides intestinais de eqüinos, compondo dois grupos tratados com diferentes concentrações ($1,3 \times 10^8$ e $1,3 \times 10^6$ conídios/grama de fezes). As coproculturas foram mantidas em câmara climatizada a $\pm 30^\circ\text{C}$ e 90% de umidade relativa. Após quinze dias, todas as culturas foram retiradas da câmara, as larvas foram recuperadas, contadas e identificadas. Nos dois grupos tratados observou-se redução no número de larvas encontradas nas coproculturas quando comparadas com as do grupo controle. A redução do número de larvas variou de 55,4 a 85,1%, demonstrando o provável potencial deste fungo, para utilização no controle alternativo destes nematóides.

Palavras-chave: controle biológico, *Cyathostominae*, eqüinos, *Metarhizium anisopliae*.

SUMMARY

The effects of fungus *Metarhizium anisopliae* in free-living stages of nematodes (*Strongylidae: Cyathostominae*) were evaluate as a potencial aid to reduce the number of larvae in culture of horse feces. *Metarhizium anisopliae* cultured in rice, contained $1,3 \times 10^8$ conidia per gram, were added to culture of

feces containing nematode eggs, in two treatment groups with different concentrations ($1,3 \times 10^8$ e $1,3 \times 10^6$ conidia per gram of feces). The cultures were maintained at temperature of $\pm 30^\circ\text{C}$ and 90% of relative umidity. After fifteen days the cultured larvae were recovered, counted and identified. In the treated groups it was observed a reduction of the larval number, when compared with the control group. The reduction of 55.4 to 85.1% demonstrated a possibility of the use of this fungus as an alternative control method for nematodes.

Key Words: biological control, *Cyathostominae*, equines, *Metarhizium anisopliae*.

A possibilidade do controle alternativo de estádios pré-parasíticos de nematóides vem sendo estudado recentemente. Diversos tipos de fungos são encontrados na natureza, provavelmente agindo como controle de diversos organismos. Em ruminantes, o fungo *Arthrobotrys oligospora* vem sendo estudado com esta finalidade (HASHMI & CONNAN, 1989, GRONVOLD *et al.*, 1993). Tendo como objetivo o biocontrole das formas larvares de nematóides de eqüinos, o fungo *A. oligospora* foi testado por CHARLES *et al.*, 1995 que observou a redução no número de larvas de 90%, quando a concentração foi igual ou maior do que 1000 conídios/grama de fezes.

¹ Biólogo, PhD, Departamento de Parasitologia Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 23851-970 -Seropédica,RJ. Autor para correspondência.

² Bolsistas de Iniciação Científica - PIBIC-UFRRJ/CNPq.

Os primeiros estudos sobre a ação de fungos deuteromicetos foram realizados por JANSSON & NORDBRING-HERTZ (1983), que estudaram a adesão dos conídios à cutícula e às aberturas naturais das larvas de *Ostertagia* spp., *Haemonchus contortus* e *Trichostrongylus colubriformis*.

O objetivo deste trabalho foi o de contribuir para a avaliação de fungos deuteromicetos que tenham efeito prejudicial às formas pré-parasíticas de nematóides, para no futuro estudar estratégias de sua utilização a nível de campo, baseado no fato de que o *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff, 1879) Sorokin, 1883, vem sendo largamente utilizado e pulverizado no campo para o controle de pragas de pastagens como cigarrinhas e formigas (ALVES, 1986), sendo portanto encontrado no mesmo ambiente que os estádios pré-parasíticos de nematóides intestinais.

Fezes de eqüinos, portadores de infecção natural por nematóides estrogilídeos, foram colhidas diretamente do reto. Estes animais foram mantidos na Estação para Pesquisas Parasitológicas W.O. Neitz, do Departamento de Parasitologia Animal da UFRRJ. O isolado do fungo *M. anisopliae* utilizado foi obtido junto ao Centro Integrado de Manejo de Pragas/UFRRJ, onde é denominado como isolado 959, originário de carrapatos infectados artificialmente. Este fungo foi inoculado em meio de arroz conforme técnica de ALVES (1986). Coproculturas prévias seguindo a metodologia de ROBERTS & O'SULIVAN (1950), foram realizadas objetivando avaliar a obtenção de larvas para identificação específica. Para avaliar a ação deste fungo sobre as formas larvares utilizou-se o seguinte delineamento: três grupos foram formados, cada um composto por 10 repetições e para cada repetição utilizou-se 10g de fezes frescas. Dois grupos receberam tratamento com meio de arroz nas concentrações de $1,3 \times 10^8$ conídios/g (10g do meio de cultura) e $1,3 \times 10^6$ conídios/grama (0,1g do meio de cultura), respectivamente; o terceiro grupo não foi tratado, sendo usado como controle. Todos os grupos foram mantidos à temperatura de $\pm 30^\circ\text{C}$ com 90% de umidade relativa em câmara climatizada tipo BOD por 15 dias. Após este período, todos os grupos foram retirados da câmara climatizada e as larvas foram recuperadas através da técnica de Baermann, de acordo com o descrito por UENO & GUTIERREZ (1983), o volume total de líquido recuperado nas 10 repetições de cada tratamento foi utilizado para contagem e identificação de larvas infectantes (BEVILAQUA *et al.*, 1993), obtendo-se o valor médio. O percentual de redução de larvas infectantes foi calculado de acordo com a seguinte equação:

$$\% \text{redução} = \frac{n^\circ \text{larvas controle} - n^\circ \text{larvas tratadas}}{n^\circ \text{larvas controle}} \times 100$$

Com os dados obtidos, foram realizados análise de variância, mediante a utilização do teste F de Fisher-Snedecor, considerando-se um nível de significância de 5%. Em seguida foi aplicado o teste de Tukey para comparação entre as médias (ZAR, 1974).

O número de larvas presentes nos três grupos foi contado, identificado e comparado. Os dados referentes às larvas quantificadas podem ser observados na Tabela 1, o que evidencia a potencialidade do uso desse fungo para o controle das formas pré-parasíticas de nematóides ciatostomíneos. O número de larvas recolhido nos cultivos tratados foi significativamente menor do que o número dos não tratados ($P < 0,05$) e através do teste de Tukey observou-se que ocorre diferença significativa entre os três tratamentos. Não se avaliou a forma pela qual o fungo destrói as larvas, provavelmente foi através da penetração pela cutícula, como acontece em *Boophilus microplus* (BITTENCOURT *et al.*, 1994a,b). Mais estudos precisam ser realizados visando avaliar o potencial desse fungo no controle das formas larvares dos nematóides intestinais de eqüinos.

Tabela 1. Número de repetições, média do número de larvas recuperadas por tratamento e percentagem de redução de larvas infectantes de Cyathostominae coletadas nas coproculturas tratadas com duas concentrações do fungo *Metarhizium anisopliae* e grupo controle.

Concentrações	Número de repetições	Número de larvas (x)*	Redução (%)
$1,3 \times 10^8$	10	8,6a	85,1
$1,3 \times 10^6$	10	25,8 b	55,4
Controle	10	57,9 c	-

* As médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si a 5% de probabilidade.

LITERATURA CITADA

ALVES, S.B. editor. *Controle Microbiano de Insetos*. 1 ed. São Paulo, Editora Manole Ltda., SP, 1986. 407 p.

- BEVILAQUA, C.M.L., RODRIGUES, M.L.A., CONCORDET, D. Identification of infective larvae of some common nematode strongylid of horses. *Revue Médecine Vétérinaire*, v. 44, n.12, p. 989-995, 1993.
- BITTENCOURT, V.R.E.P., MASSARD, C.L., LIMA, A.F. Ação do fungo *Metarhizium anisopliae* em ovos e larvas do carrapato *Boophilus microplus*. *Revista Universidade Rural, Série Ciências da Vida*, v. 16, n. 1-2, p. 41-48, 1994a.
- BITTENCOURT, V.R.E.P., MASSARD, C.L., LIMA, A.F. Ação do fungo *Metarhizium anisopliae* sobre a fase não parasitária do ciclo biológico de *Boophilus microplus*. *Revista Universidade Rural, Série Ciências da Vida*, v. 16, n. 1-2, p. 49-56, 1994b.
- CHARLES, T.P., RODRIGUES, M.L.A., SANTOS, C.P. Redução do número de larvas de Cyathostominae em fezes de equinos tratadas com conídios de *Arthrobotrys oligospora*. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 47, n. 1, p. 87-89, 1995.
- GRONVOLD, J; WOLSTTRUP, J.; NANSEN, P.; et al. Biological control of nematodes parasites in cattle with nematode-trapping fungi: a survey of Danish studies. *Parasitolog Veterinary*, v. 48, p. 314-325, 1993.
- HASHMI, H.A., CONNAN, R.M. Biological control for ruminant trichostrongylid by *Arthrobotrys oligospora*, a predacious fungus. *Parasitology Today*, v. 5, p. 28-30, 1989.
- JANSSON, A.B., NORDBRING-HERTZ, B. The endoparasitic nematophagous fungus *Meria coniospora* infects nematodes specifically at the chemosensory organs. *Journal of General Microbiology*, v. 129, p. 1121 - 1126, 1983.
- ROBERT'S, I.H., O'SULIVAN, P.J. Methods for egg-counts and larval cultures for strongyles infesting the gastrointestinal tract of cattle. *Australian Journal of Agricultural Research*, v. 1, p. 99-102, 1950.
- UENO, H., GUTIERREZ, V.C. *Manual para diagnóstico das helmintoses de ruminantes*. Tóquio, Japan International Coop. Agency. 1983. 176 p.
- ZAR, J.H. *Biostatistical Analysis*. New Jersey. Prentice-Hall Inc., 1974. 620 p.