

**Efeito da aplicação de conídios de *Drechmeria coniospora* em cultivos de fezes contendo ovos de *Haemonchus contortus***

(Effect of an endoparasitic fungus, *Drechmeria coniospora*, in fecal cultures containing eggs of *Haemonchus contortus*.)

C. P. Santos<sup>1</sup>, T. P. Charles<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Biólogo - Bolsista do CNPq, Centro Nacional de Pesquisa de Gado de Leite (EMBRAPA-CNPGL),

Rod. MG 133, km 42, CEP 36 155-000. Coronel Pacheco MG,

<sup>2</sup>Médica Veterinária, Pesquisadora da EMBRAPA/CNPGL.

RESUMO

O efeito da adição de conídios de *Drechmeria coniospora*, na redução do número de larvas infectantes de *Haemonchus contortus* foi observado em um teste onde concentrações crescentes de conídios foram adicionadas às fezes de ovinos contendo 750 ovos do nematódeo em cada grama de fezes. Para o teste, pesaram-se individualmente 40 amostras de 4g de fezes. Dez amostras foram deixadas sem tratamento (controle), dez foram tratadas com  $10^5$ , dez com  $10^6$  e dez com  $10^8$  conídios por grama de fezes. Em seguida, as fezes foram incubadas à temperatura ambiente durante sete dias. Após este período, as larvas foram extraídas, fixadas e posteriormente quantificadas. A concentração de  $10^8$  conídios por grama de fezes reduziu significativamente o número de larvas extraídas dos cultivos.

**PALAVRAS-CHAVES:** Controle biológico, fungos, nematódeos gastrintestinais, ruminantes.

SUMMARY

The effect of *Drechmeria coniospora* on free living stages of *Haemonchus contortus* was studied in an experiment in which crescent concentrations of conidia of this fungus were added to ovine fecal samples containing 750 eggs per gram. After the fungus addition the fecal samples were cultured for seven days at room temperature after which surviving larvae were recovered through baermanization. Significant reduction on the number of

---

Recebido para publicação em 05 de abril de 1994.

larvae recovered on the cultures were found when conidia were applied at the concentration of  $10^8$  conidia per gram of feces.

KEY-WORDS: Biological control, endoparasitic fungi, gastrointestinal nematodes, ruminants.

## INTRODUÇÃO

O controle dos nematódeos parasitas de ruminantes tem sido direcionado principalmente à redução das formas adultas nos hospedeiros, por meio da aplicação de anti-helmínticos. Como os nematódeos se desenvolvem através de uma série de estádios de vida livre na pastagem, a identificação de microrganismos que possam infectar estas formas, causando-lhes patologias irreversíveis, podem auxiliar no estabelecimento de medidas de controle biológico, constituindo-se em alternativa para o controle integrado das verminoses.

Entre os microrganismos, os fungos nematófagos são os mais estudados. A espécie *Drechmeria coniospora* é endoparasita obrigatória de nematódeos e sua estratégia principal é produzir conídios às expensas do hospedeiro, na taxa mais rápida possível (Dijksterhuis et al. 1991). Em testes preliminares conduzidos por Jansson et al. (1985), *D. coniospora* não infectou larvas infectantes de várias espécies de zoonematódeos. Entretanto, após extração da cutícula da larva, a infecção se estabeleceu.

Este trabalho relata o efeito da aplicação de conídios de *D. coniospora* em fezes de ovinos contendo ovos de *Haemonchus contortus*.

## MATERIAL E MÉTODOS

As fezes foram colhidas de ovinos infectados com uma cepa de *H. contortus* isolada e mantida no Centro Nacional de Pesquisa de Gado de Leite (EMBRAPA-CNPGL), por meio de bolsa coletora

fixada no hospedeiro por um período de quatro horas. As cibalas foram trituradas e o número de ovos por grama de fezes, determinado pela técnica de McMaster (Ueno & Gutierrez, 1983), foi de 750.

Para produção de conídios, *D. coniospora* foi cultivado à temperatura ambiente em placas de Petri contendo ágar-água. Durante o cultivo foram feitas adições freqüentes de uma espécie de nematódeo de vida livre, para estimular o parasitismo e a produção de conídios. Os conídios produzidos foram retirados das placas com pincel, pela lavagem com água destilada. A suspensão dos conídios foi colocada em um béquer do qual foram retiradas alíquotas para contagem, usando-se câmara de Neubauer. Diluições em água destilada foram efetuadas para obtenção das concentrações a serem usadas posteriormente ( $10^5$ ,  $10^6$  e  $10^8$  conídios/g de fezes).

O delineamento experimental foi o de experimento inteiramente ao acaso com quatro tratamentos e dez repetições por tratamento. Para o teste, pesaram-se 40 amostras de 4g de fezes. Dez amostras foram deixadas sem tratamento (grupo controle), dez foram tratadas com  $10^8$  conídios/g de fezes, dez com  $10^6$  conídios/g de fezes e dez com  $10^5$  conídios/g de fezes. Após a adição dos conídios, as fezes foram homogeneizadas e incubadas à temperatura ambiente durante sete dias. Após este período, as larvas infectantes foram extraídas pela técnica de Baerman (Ueno & Gutierrez, 1983) durante quatro horas. As larvas recuperadas foram fixadas, preservadas em formalina a 10% e posteriormente quantificadas.

As médias do número de larvas em cada tratamento foram comparadas pelo teste de Tukey. Para a comparação, o número de larvas recolhido em cada tratamento foi transformado em  $\sqrt{x+0,5}$ , onde x era o número de larvas recolhidas em cada cultivo.

Para verificar o processo de infecção dos estádios larvares, fezes contendo ovos de *H. contortus* foram aplicadas na superfície de

placas de ágar-água contendo esporos de *D. coniospora*. As placas foram observadas em microscópio óptico 12 horas após a adição das fezes.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A infecção das larvas de primeiro estágio de *H. contortus* ocorreu pela adesão de conídios na região cefálica, na proximidade da cápsula bucal, observada na fotografia obtida ao se aplicar fezes contendo ovos na superfície de placas de ágar-água contendo cultivo de *D. coniospora* (Fig. 1). Observações em outras espécies de nematódeos evidenciaram que este fungo, em geral, prefere infectar o hospedeiro por meio da aderência de conídios na região cefálica, devido, provavelmente, à movimentação do nematódeo durante a alimentação, resultando em um maior contato na região frontal (Barron, 1977).

Os resultados dos testes mostraram que a concentração de conídios parece ser importante para redução do número de larvas de *H. contortus*. Apenas quando a concentração do fungo atingiu  $10^8$  conídios/g de fezes ocorreu redução significativa no número de larvas (Tab. 1). A necessidade de tal concentração, provavelmente, está relacionada com o mecanismo de ação do fungo. Os fungos endoparasitas existem no meio ambiente sob a forma de conídios (Barron, 1977). Na espécie *D. coniospora*, a infecção ocorreu pela fixação da extremidade aderente do conídio à cutícula do nematódeo. Logo, é necessário o contato físico entre nematódeo e fungo.

Dessa forma, maior número de conídios aumenta a chance desse contato e conseqüentemente de ocorrer a infecção.

Os resultados mostraram que *D. coniospora* é uma espécie de fungo endoparasita com potencial para redução dos estádios de vida livre dos nematódeos gastrintestinais de ruminantes. Estudos adicionais que permitam a melhor caracterização da ação desse fungo e de

outros fungos endoparasitas sobre os tricostrongilídeos devem ser incentivados.



Figura 1 - Infecção de larva de primeiro estágio de *Haemonchus contortus* pelo fungo *Drechmeria coniospora* (100 X).

Tabela 1 - Número médio de larvas infectantes de *Haemonchus contortus* recolhidos em cultivos de fezes tratadas com diferentes concentrações de conídios de *Drechmeria coniospora*

Número de conídios por grama de fezes	Número médio de larvas por grama de fezes
0	95 <sup>a</sup>
10 <sup>5</sup>	75 <sup>a</sup>
10 <sup>6</sup>	85 <sup>a</sup>
10 <sup>8</sup>	11 <sup>b</sup>

\*Letras diferentes na mesma coluna indicam diferenças significativas (P<0,05).

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BARRON, G. L. *The nematode-destroying fungi*. Ontário: Canadian Biological Publications, 1977. 140p.
- DIJKSTERHUIS, J., HARDER, N., WYSS, U., et al. Colonization and digestion of nematodes by the endoparasitic nematophagous fungus *Drechmeria coniospora*. *Mycol. Res.*, v. 95, p. 873-878, 1991.
- JANSSON, H., JEYPRAKASH, A., ZUCKERMAN, B. M. Differential adhesion and infection of nematodes by the endoparasitic fungus *Meria coniospora* (Deuteromycetes). *Appli. Environm. Microbiol.*, v. 49, p. 552-555, 1985.
- UENO, H., GUTIERREZ, V.C. *Manual para diagnóstico das helmintoses de ruminantes*. Tóquio: Japan International Cooperation Agency, 1983. 176 p.