

**UFRRJ**

**INSTITUTO DE VETERINÁRIA  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS  
VETERINÁRIAS  
PARASITOLOGIA VETERINÁRIA**

**DISSERTAÇÃO**

**Influência Sazonal na Dinâmica Migratória e  
Sobrevivência de Larvas Infectantes de  
Ciatostomíneos de Equinos em Gramínea Tifton 85  
na Baixada Fluminense, RJ**

**Simone Quinelato Bezerra**

**2008**



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE VETERINÁRIA  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

**INFLUÊNCIA SAZONAL NA DINÂMICA MIGRATÓRIA E  
SOBREVIVÊNCIA DE LARVAS INFECTANTES DE  
CIATOSTOMÍNEOS DE EQÜINOS EM GRAMÍNEA TIFTON 85 NA  
BAIXADA FLUMINENSE, RJ**

**SIMONE QUINELATO BEZERRA**

*Sob a Orientação da Professora*  
**Dra. Maria de Lurdes de Azevedo Rodrigues**

*e Co-orientação da Professora*  
**Dra. Marília de Carvalho Brasil Sato**

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências**, no Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Área de Concentração em Parasitologia Veterinária

Seropédica, RJ  
Fevereiro de 2008

636.108969

B574i

T

Bezerra, Simone Quinelato, 1980-

Influência sazonal na dinâmica migratória e sobrevivência de larvas infectantes de ciatostomíneos de eqüinos em gramínea tifton 85 na baixada fluminense, RJ/ Simone Quinelato Bezerra - 2008.

58f. : il.

Orientador: Maria de Lurdes de Azevedo Rodrigues.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Instituto de Veterinária.

Bibliografia: f. 44-51.

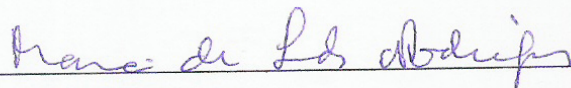
1. Eqüino - Parasito - Teses. 2. Parasitologia veterinária - Teses. 3. Strongylidae - Teses. 4. Gramínea - Teses. 4. Gramínea - Teses. I. Rodrigues, Maria de Lurdes de Azevedo, 1955- . II. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Instituto de Veterinária. III. Título.

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO**  
**INSTITUTO DE VETERINÁRIA**  
**CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

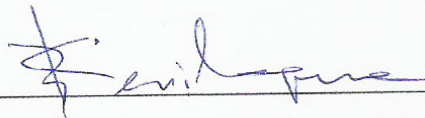
**SIMONE QUINELATO BEZERRA**

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências**, no Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, área de Concentração em Parasitologia Veterinária.

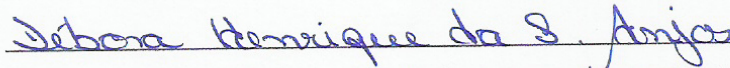
DISSERTAÇÃO APROVADA EM 29/02/2008



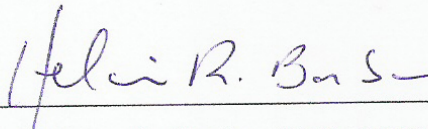
Maria de Lurdes de Azevedo Rodrigues - PhD UFRRJ  
(Orientadora)



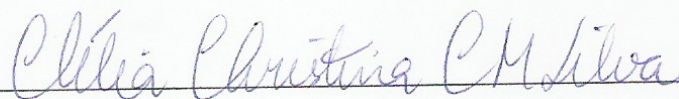
Claudia Maria Leal Bevilaqua - PhD UECE



Débora Henrique da Silva Anjos - PhD UFRJ



Hécio Resende Borba - PhD UFRRJ



Clelia Christina Corrêa de Mello Silva – Dra. FIOCRUZ

*A Deus, pois está escrito...*

*"...sem Mim, nada podeis fazer." (João 15:5)*

*Aos meus pais, Jorge (in memoriam) e Ana,  
pelo amor incondicional, apoio e preciosos ensinamentos.*

*A tia Maria José,  
por acreditar e sempre me incentivar*

*Ao meu noivo, Flavinho,  
pelo amor, companheirismo, paciência e ajuda.*

*Amo vocês!*

*Dedico...*

*“A ciência, com o propósito de estabelecer regras para a construção de um discurso objetivo, livre de ídolos e intromissões indevidas de nossas emoções, pensou que o caminho correto seria partir dos fatos e não dizer coisa alguma além daquilo que os fatos permitem. Agora, entretanto, descobrimos que os fatos não dizem coisa alguma a não ser quando são trabalhados pela imaginação.”*

*(Rubem Alves)*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por estar sempre presente em minha vida, me dando coragem, conforto e guiando meus passos para o caminho da felicidade;

À minha mãe Ana e ao meu noivo Flavinho, pelo amor, amizade, por lutarem sempre ao meu lado e acreditarem nos meus sonhos;

À Tia Maria José, pela amizade, incentivo constante e “tiatrocínio”;

À Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, pela educação de qualidade, inigualável experiência de vida e belos entardeceres;

À professora Dra. Maria de Lurdes de Azevedo Rodrigues pela orientação, apoio, ensinamentos, críticas e a valiosa experiência que me permitiu adquirir desde a graduação;

Ao Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias pela oportunidade de aperfeiçoar minha formação;

À CAPES/PROEX pelo auxílio financeiro, fundamental para o desenvolvimento deste estudo;

Ao professor Dr. Ivan Barbosa Machado Sampaio, pelas inesquecíveis aulas de estatística, orientação e apoio nas análises dos dados;

Ao professor Dr. Carlos Luiz Massard, pela disponibilização dos animais para os experimentos;

Ao funcionário Mauro (Zeca), pela amizade, dedicação e trabalho desempenhado no campo experimental. Ah! E também por sempre ceder o Castanho para as coletas;

Aos técnicos de laboratório Ivan e Maurício, pela disponibilidade e ajuda em vários momentos;

Aos funcionários da secretaria do CPGCV, sempre atenciosos e prestativos;

À todos os professores do CPGCV, pelos conhecimentos transmitidos;

À todos os funcionários, técnicos e alunos do CPGCV, por contribuírem direta ou indiretamente para este estudo;

Ao Instituto de Zootecnia, por permitir a utilização dos animais na fase inicial deste estudo;

Ao posto Agrometeorológico da Estação Ecológica Agrícola de Seropédica-INMET/PESAGRO-RJ pela disponibilização dos dados meteorológicos;

À turma do Mestrado, Mel, Grazi, Andréia, Dani, Jani, Joice, Vivian, Léo, Pardal, Guilherme, Marquinhos, Fábio Jorge e Saulo pelos bons momentos no decorrer do curso e pela amizade conquistada;

Aos bolsistas de Iniciação Científica e estagiários do Laboratório de Helmintologia, pelo auxílio e companheirismo compartilhados;

Aos meus sogros, S. Flávio e D. Lúcia e aos meus cunhados Lú, Cris, Lili e Jopa, pela amizade, apoio e por me acolherem nessa linda família;

Ao meu amigo Tarcísio de Souza, pelo auxílio, companheirismo, pelos sorrisos e “puxões de orelha” compartilhados e pela grande amizade fortalecida no dia-dia do laboratório;

À amiga e companheira Melissa Chambarelli, pela dedicação, apoio e ajuda em todos os momentos dessa jornada, pelo seu bom-humor e paciência, fundamentais para que eu chegasse até aqui;

Aos meus amigos (as), Monique, Fernanda, Thayanne, Paula, Michele, Glaucio, Léo e Lú, por compreenderem minha ausência, pelo apoio, paciência e amizade verdadeira;

E a todos aqueles que, de alguma forma, me ajudaram nessa conquista.

## **BIOGRAFIA**

Simone Quinelato Bezerra, filha de Jorge Luiz Bezerra e Ana Quinelato, nasceu no dia 31 de dezembro de 1980 na cidade de Nova Iguaçu-RJ. Em 1994 concluiu o ensino fundamental no Colégio Novo Horizonte em Nova Iguaçu-RJ e, em 1997 o ensino médio pelo Colégio EME, no mesmo município.

Ingressou no Curso de Medicina Veterinária em 2001, na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, onde obteve o grau de Bacharel em 2006. Ainda na graduação, foi contemplada com bolsa de Iniciação Científica pelo CNPq, no período de agosto de 2003 a março de 2006, participando de projetos de pesquisa no laboratório de Helminologia sob orientação da Professora Dra. Maria de Lurdes de Azevedo Rodrigues.

Em março de 2006, iniciou o Mestrado, sob orientação da Professora Dra. Maria de Lurdes de Azevedo Rodrigues, no Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias com Área de concentração em Parasitologia Veterinária, sendo bolsista pela CAPES.

Durante o período acadêmico participou de Congressos e eventos científicos, publicando artigos em periódicos indexados nacionais e internacionais. E nesta data, apresenta e defende esta dissertação como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências.



## RESUMO

Quinelato, Simone. **Influência sazonal na dinâmica migratória e sobrevivência de larvas infectantes de ciatostomíneos de eqüinos em gramínea Tifton 85 na Baixada Fluminense, RJ.** 2008. 58f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias, Parasitologia Veterinária). Instituto de Veterinária, Departamento de Parasitologia Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2008.

O conhecimento da biologia e epidemiologia das fases pré-parasíticas de ciatostomíneos de eqüinos têm contribuído para o desenvolvimento de programas de controle que limitem a utilização de anti-helmínticos. No entanto, pouco se conhece sobre a dinâmica das larvas no ambiente, principalmente nas regiões de clima tropical. Estudos sobre o grau de contaminação das pastagens por larvas infectantes de ciatostomíneos podem auxiliar na determinação do risco de infecção dos animais e fornecer dados para o estabelecimento de programas de controle integrado. O presente estudo foi dividido em três etapas complementares: na primeira etapa, avaliou-se a distribuição, recuperação e sobrevivência de larvas infectantes (L<sub>3</sub>) de ciatostomíneos de eqüinos nas fezes e na pastagem no período de 15 meses. Massas fecais foram depositadas mensalmente na gramínea Tifton 85 (*Cynodon* spp. cv. Tifton 85) no período de setembro de 2003 a setembro de 2004. Gramínea e fezes foram coletadas a cada sete dias, às 8, 12 e 17h e processadas pela técnica de Baermann. De acordo com os resultados, as condições ambientais foram favoráveis para o desenvolvimento e sobrevivência das L<sub>3</sub>. Nas fezes, a recuperação das L<sub>3</sub> foi superior durante o período chuvoso e na gramínea no período seco. A sobrevivência das larvas foi superior no período seco, tanto para as amostras de fezes quanto para as de gramínea. As L<sub>3</sub> foram recuperadas durante os três horários de coleta e não se observou diferença significativa entre os horários. A segunda etapa foi mais abrangente e aborda o estudo da distribuição, recuperação e sobrevivência de larvas infectantes de ciatostomíneos de eqüinos nas fezes e na pastagem no período de fevereiro de 2005 a março de 2007. Sete dias após cada depósito de massa fecal foram realizadas coletas de amostras de fezes e gramínea às 8, 13 e 17 h, de três pontos distintos em sentido horário. As amostras de gramínea coletadas foram divididas em base (0-20 cm) e ápice (20-40 cm), tendo sido processadas pela técnica de Baermann para recuperação das L<sub>3</sub>. No período chuvoso, as larvas infectantes foram recuperadas em maior número das fezes e do ápice da gramínea. No período seco, a recuperação foi superior na base da gramínea, assim como a sobrevivência das L<sub>3</sub> nas fezes e na gramínea. Maior número de larvas foi recuperado às 8 h, exceto na base da gramínea, onde a maior recuperação de L<sub>3</sub> ocorreu às 13 h. A terceira parte refere-se à distribuição sazonal e recuperação de larvas infectantes de ciatostomíneos nas fezes, na pastagem e no solo. Ao início de cada estação do ano foram depositadas amostras de fezes no canteiro experimental de Tifton 85. As coletas iniciaram-se uma semana após o depósito e posteriormente a cada 15 dias. As L<sub>3</sub> foram recuperadas em maior quantidade no outono e inverno e em menor quantidade na primavera e principalmente no verão. No horário da manhã as larvas foram recuperadas em maior número, embora não tenha sido observada diferença estatística entre os horários de coleta em cada estação do ano. O solo não demonstrou ser potencial reservatório de L<sub>3</sub>, visto a baixa recuperação de larvas neste estudo.

**Palavras-Chave:** Larvas infectantes, ciatostomíneos, pastagem, sazonalidade.

## ABSTRACT

Quinelato, Simone. **Seasonal influence in migratory dynamic and survival of cyathostomin infective larvae of equine in Tifton 85 pasture in Baixada Fluminense, RJ, Brazil.** 2008. 58f. Dissertation (Master Science in Veterinary Science, Veterinary Parasitology). Instituto de Veterinária, Departamento de Parasitologia Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2008.

The knowledge of biology and epidemiology of cyathostomin free living stages have been helping the development of control programs that limit anthelmintic use. However little is known about environmental larvae dynamics, mainly in tropical climate. Studies about pasture contamination can help to estimate parasitic risks for animals and to set up integrate control programs. The present study was elaborated in three complemented parts: first, it was evaluated the distribution, recovery and survival of cyathostomin infective larvae of equines in feces and pasture during 15 months. Fecal samples were monthly placed on Tifton 85 (*Cynodon* spp. cv. Tifton 85) pasture, from september of 2003 to september of 2004. Grass and feces were collected weekly, at 8 a.m., 1 and 5 p.m. and processed by Baermann technique. The results indicate that the environmental conditions were favorable for L<sub>3</sub> development and survival. In feces, more L<sub>3</sub> was recovered during the rainy period and on the grass in dry period. L<sub>3</sub> survival was higher in the dry period for feces and grass samples. L<sub>3</sub> were recovered during the three times of collection and no significant difference was observed among three times. The second part was more wide-ranging and approaches the distribution, recovery and survival of cyathostomin infective larvae in feces and pasture for february 2005 to march 2007. Seven days after the deposit, sample of feces and grass were collected weekly at 8 a.m., 1 p.m. and 5p.m., from three different field sites. Grass sample was divided into base (0-20 cm) and apex (20-40 cm). The samples were processed by the Baermann technique for L<sub>3</sub> recovery. In the rainy period, more infective larvae were recovered on the feces and grass apex. In the dry period, the recovery was higher only on the grass base, as well as the L<sub>3</sub> survival on feces and grass. More larvae were recovered at 8 a.m., except from the grass apex, where the highest recovery was at 1 p.m. The third part refers to the seasonal distribution and recovery of cyathostomin infective larvae in feces, pasture and soil. In the beginning of the seasons feces samples were placed on experimental Tifton 85 plot. The collections began one week after deposit, and later every 15 days. L<sub>3</sub> recovered were higher in the autumn and winter and smaller in the spring and mainly in the summer. More L<sub>3</sub> were recovered in the morning, although no statistic difference has been observed between the collection times in each season. The soil didn't demonstrate to be potential L<sub>3</sub> reservoir, seen the low larvae recovery in this study.

**Key words:** Infective larvae, cyathostomin, pasture, sazonality.

## LISTA DE TABELAS

### CAPÍTULO I

**Tabela 1.** Estatística Descritiva. .... **15**

**Tabela 2.** Análises de Componentes Principais – Covariâncias. .... **16**

### CAPÍTULO III

**Tabela 1.** OPG das massas fecais depositadas, ao início de cada estação do ano, no período de setembro/2006 a setembro/2007. .... **37**

**Tabela 2.** Correlação entre o número de larvas recuperadas nas fezes, gramínea e solo com as variáveis climáticas estudadas. .... **40**

## LISTA DE FIGURAS

### CAPÍTULO I

- Figura 1.** Médias mensais de temperatura do ar, do solo e índice pluviométrico total no período de setembro de 2003 a novembro de 2004..... 12
- Figura 2.** Variação do número de ovos por grama de fezes (OPG) das massas fecais depositadas no período de setembro de 2003 a setembro de 2004..... 12
- Figura 3.** Número médio de larvas infectantes de ciatostomíneos recuperadas das amostras de fezes e gramínea das massas fecais depositadas no período de setembro de 2003 a setembro de 2004..... 13
- Figura 4.** Recuperação média de larvas infectantes de ciatostomíneos nas fezes nos diferentes horários de coleta (8, 13 e 17 h). ..... 14
- Figura 5.** Sobrevivência (semanas) das larvas infectantes de ciatostomíneos nas fezes e gramínea das massas fecais depositadas entre setembro de 2003 e setembro de 2004..... 14
- Figura 6.** Recuperação média de larvas infectantes de ciatostomíneos na gramínea nos diferentes horários de coleta (8, 13 e 17 h)..... 15
- Figura 7.** Representação gráfica das variáveis estudadas no sistema tridimensional originado pelos três primeiros eixos (componentes) principais, com inércia acumulada de 71%, para gramínea Tifton 85 (direção e coordenadas do 3º eixo representadas pela direção da seta).... 16

### CAPÍTULO II

- Figura 1.** Médias mensais de temperaturas do ar, do solo e índice pluviométrico total no período de fevereiro de 2005 a março de 2007. .... 24
- Figura 2.** Variação do número de ovos por grama (OPG) no período de fevereiro de 2005 a janeiro de 2007. .... 25
- Figura 3.** Recuperação média de larvas infectantes de ciatostomíneos da massa fecal e da gramínea (ápice e base) nas massas depositadas no período de fevereiro de 2005 a janeiro de 2007. .... 25
- Figura 4.** Recuperação média de larvas infectantes de ciatostomíneos nas fezes nos diferentes horários de coleta (8, 13 e 17 h). ..... 26
- Figura 5.** Sobrevivência (semanas) das larvas infectantes de ciatostomíneos nas fezes e gramínea nas massas fecais depositadas entre fevereiro de 2005 e janeiro de 2007..... 27
- Figura 6.** Recuperação média de larvas infectantes de ciatostomíneos na base da gramínea nos diferentes horários de coleta (8, 13 e 17 h)..... 28

**Figura 7.** Recuperação média de larvas infectantes de ciatostomíneos no ápice da gramínea nos diferentes horários de coleta (8, 13 e 17 h).....29

**Figura 8.** Representação gráfica das variáveis no sistema tridimensional (inércia=72%) para o pasto de Tifton, segundo os eixos 2 e 3. A direção e sentido das coordenadas no primeiro eixo estão representados pela seta e valor. ....29

### **CAPÍTULO III**

**Figura 1.** Número médio de larvas infectantes recuperadas das amostras de fezes, em cada estação do ano, nos diferentes horários de coleta.....37

**Figura 2.** Número médio de larvas infectantes recuperadas das amostras de gramínea, em cada estação do ano, nos diferentes horários de coleta.....38

**Figura 3.** Número médio de larvas infectantes recuperadas das amostras de solo, em cada estação do ano, nos diferentes horários de coleta.....39

**Figura 4.** Médias de temperatura do ar e do solo e índice pluviométrico total observado em cada estação do ano durante o período de setembro/2006 a setembro/2007.....39

### **ANEXOS**

**Figura 1.** (A) Coleta de massa fecal; (B) Depósito no canteiro; (C) Mensuração da temperatura do solo; (D) Coleta de amostras de fezes; (E) Coleta de amostras de gramínea; (F) Técnica de Baermann; (G) Coleta de amostras dos funis; (H) Amostras de gramínea para secagem; (I) Amostras de fezes para secagem; (J) Secagem das amostras em estufa; (K) Contagem e identificação das L<sub>3</sub>; (L) Larva infectante de ciatostomíneos.....58

**Figura 2.** Modificações na metodologia.....58

**Figura 3.** Modificações na metodologia.....58

## LISTA DE ABREVIACÕES

|                    |  |
|--------------------|--|
| Dias               | dias após deposição da massa fecal;            |
| F                  | fezes;   |
| GA                 | ápice da gramínea;                             |
| GB                 | base da gramínea;                              |
| I                  | inverno;                                       |
| L <sub>3</sub>     | larvas infectantes;                            |
| ms                 | matéria seca;                                  |
| n <sup>a</sup>     | número de amostras;                            |
| OPG                | número de ovos por grama de fezes;             |
| O                  | outono;  |
| P                  | primavera;                                     |
| PPT                | índice pluviométrico;                          |
| s <sup>b</sup>     | desvio padrão;                                 |
| T ar               | temperatura do ar;                             |
| Tn (1...24)        | número de massas fecais depositadas;           |
| T solo             | temperatura do solo;                           |
| V                  | verão;   |
| $\bar{x}$          | média;   |
| % L <sub>3</sub> f | porcentagem de larvas infectantes nas fezes;   |
| % L <sub>3</sub> g | porcentagem de larvas infectantes na gramínea; |
| r                  | coeficiente de correlação de Spearman.         |

## SUMÁRIO

|  |           |
|--|-----------|
| <b>1. INTRODUÇÃO GERAL</b>   | <b>1</b>  |
| 1.1. Ciatostomíneos parasitas de eqüinos   | 1         |
| 1.2. Resistência aos anti-helmínticos  | 1         |
| 1.3. Influência dos fatores ambientais   | 2         |
| 1.4. Estudos em regiões de clima temperado   | 3         |
| 1.5. Estudos em regiões de clima subtropical e tropical  | 4         |
| 1.6. Características da gramínea Tifton 85 ( <i>Cynodon</i> spp. cv. Tifton 85)  | 4         |
| <br>   |           |
| <b>2. CAPÍTULO I</b>   |           |
| <br>   |           |
| ESTUDO DA DISTRIBUIÇÃO, RECUPERAÇÃO E SOBREVIVÊNCIA DE LARVAS INFECTANTES DE CIATOSTOMÍNEOS (NEMATODA-STRONGYLIDAE) DE EQÜINOS NAS FEZES E NA PASTAGEM NO PERÍODO DE SETEMBRO/2003 A NOVEMBRO/2004 | <b>6</b>  |
| <br>   |           |
| 2.1. Resumo  | 7         |
| 2.2. Abstract  | 8         |
| 2.3. Introdução  | 9         |
| 2.4. Material e Métodos  | 9         |
| 2.4.1. Delineamento experimental   | 9         |
| 2.4.2. Local   | 10        |
| 2.4.3. Dados Meteorológicos  | 10        |
| 2.4.4. Animais   | 10        |
| 2.4.5. Pastagem  | 10        |
| 2.4.6. Depósitos   | 10        |
| 2.4.7. Procedimentos   | 10        |
| 2.4.8. Análise estatística   | 11        |
| 2.5. Resultados  | 11        |
| 2.5.1. Dados Meteorológicos  | 11        |
| 2.5.2. OPG   | 12        |
| 2.5.3. Fezes   | 12        |
| 2.5.4. Gramínea  | 14        |
| 2.6. Discussão   | 17        |
| 2.6.1. Fezes   | 17        |
| 2.6.2. Gramínea  | 17        |
| <br>   |           |
| <b>3. CAPÍTULO II</b>  |           |
| <br>   |           |
| ESTUDO DA DISTRIBUIÇÃO, RECUPERAÇÃO E SOBREVIVÊNCIA DE LARVAS INFECTANTES DE CIATOSTOMÍNEOS (NEMATODA-STRONGYLIDAE) DE EQÜINOS NAS FEZES E NA PASTAGEM NO PERÍODO DE FEVEREIRO/2005 A MARÇO/2007   | <b>19</b> |
| <br>   |           |
| 3.1. Resumo  | 20        |
| 3.2. Abstract  | 21        |
| 3.3. Introdução  | 22        |
| 3.4. Material e Métodos  | 22        |
| 3.4.1. Delineamento experimental   | 22        |
| 3.4.2. Local e Obtenção dos Dados Meteorológicos   | 22        |
| 3.4.3. Animais e Pastagem  | 23        |
| 3.4.4. Depósitos   | 23        |
| 3.4.5. Procedimentos   | 23        |
| 3.4.6. Análise estatística   | 23        |
| 3.5. Resultados  | 24        |
| 3.5.1. Dados meteorológicos  | 24        |
| 3.5.2. OPG   | 24        |
| 3.5.3. Fezes   | 25        |
| 3.5.4. Gramínea base   | 27        |
| 3.5.5. Gramínea ápice  | 28        |
| 3.6. Discussão   | 30        |

|                 |    |
|-----------------|----|
| 3.6.1. Fezes    | 30 |
| 3.6.2. Gramínea | 30 |

#### **4. CAPÍTULO III**

#### **DISTRIBUIÇÃO SAZONAL E RECUPERAÇÃO DE LARVAS INFECTANTES DE CIATOSTOMÍNEOS (NEMATODA-STRONGYLIDAE) DE EQUÍNOS NAS FEZES, NA PASTAGEM E NO SOLO 32**

|  |    |
|--|----|
| 4.1. Resumo  | 33 |
| 4.2. Abstract  | 34 |
| 4.3. Introdução  | 35 |
| 4.4. Material e Métodos  | 35 |
| 4.4.1. Localização   | 35 |
| 4.4.2. Procedimentos   | 36 |
| 4.4.3. Análise estatística                                       | 36 |
| 4.5. Resultados  | 36 |
| 4.5.1. Distribuição das L <sub>3</sub> nas fezes                 | 36 |
| 4.5.2. Distribuição das L <sub>3</sub> na gramínea               | 37 |
| 4.5.3. Distribuição das L <sub>3</sub> no solo                   | 38 |
| 4.5.4. Dados climáticos  | 39 |
| 4.5.5. Correlação entre recuperação de larvas e dados climáticos | 40 |
| 4.6. Discussão   | 40 |

#### **5. CONCLUSÕES GERAIS 42**

#### **6. CONSIDERAÇÕES FINAIS 43**

#### **7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 44**

#### **8. ANEXOS 53**

|   |    |
|---|----|
| 8.1. Produção Científica                      | 53 |
| 8.1.1 Artigos científicos                     | 53 |
| 8.1.2. Resumos simples em anais de eventos    | 54 |
| 8.1.3. Resumos expandidos em anais de eventos | 56 |
| 8.2. Representação da Metodologia             | 57 |
| 8.2.1. Capítulo 1                             | 57 |
| 8.2.2. Capítulo 2                             | 58 |
| 8.2.3. Capítulo 3                             | 58 |



## 1. INTRODUÇÃO GERAL

### 1.1. Ciatostomíneos parasitas de eqüinos

Os ciatostomíneos (Subfamília: Cyathostominae) são conhecidos como o mais numeroso grupo de parasitos de eqüinos em termos de diversidade de espécies e em número de espécimes por hospedeiro (CHAPMAN et al., 1999), com relatos de animais parasitados com mais de 1.200.000 espécimes (OGBOURNE, 1976). São atualmente considerados os mais importantes nematóides parasitas de eqüinos, devido a marcante redução da prevalência de infecções por estrongilos, como resultado do uso difundido de modernas drogas anti-helmínticas (LOVE et al., 1999).

O ciclo biológico dos nematóides estrongilídeos compreende duas fases: uma no ambiente, onde há o desenvolvimento de ovo à larva infectante (L<sub>3</sub>), sofrendo influência de temperatura, umidade e tipo de pastagem (DUNCAN, 1974; HERD et al., 1985); e outra no hospedeiro, que ocorre após a ingestão da pastagem contaminada com L<sub>3</sub>, levando ao desenvolvimento da fase adulta no intestino grosso.

Os ovos embrionados são definidos como ovos contendo larvas viáveis. Segundo a literatura, o primeiro estágio larval (L<sub>1</sub>) e o segundo (L<sub>2</sub>) são designados como larvas pré-infectantes e são capazes de se alimentar, enquanto o terceiro estágio (L<sub>3</sub>) é denominado de larva infectante e é envolto por uma dupla camada de cutícula que a protege de condições ambientais desfavoráveis, porém impede sua alimentação (NIELSEN et al., 2007).

O ciclo evolutivo é completado no período de dois a cinco meses, dependendo da espécie, e não realizam migrações. Possuem uma fase histotrófica no organismo dos hospedeiros; causando perda de peso, diarreia, cólica, anorexia e retardamento no desenvolvimento dos animais, principalmente dos mais jovens (OGBOURNE e DUNCAN, 1985; CHURCH et al., 1986; REINEMEYER, 1986; HERD, 1990), além de causarem aumento nas concentrações de beta-globulinas, hipoalbuminemia, anemia e leucocitose (REINEMEYER, 1986; CHURCH et al., 1986, LOVE et al., 1999).

Em estudos realizados no Rio de Janeiro, Anjos e Rodrigues (2003) relataram que das 33 amostras do cólon dorsal examinadas, foram observadas 23 espécies distribuídas em 11 gêneros da família Strongylidae. A taxa de infecção por hospedeiro foi de duas espécies de Strongylinae para 14 de Cyathostominae. E das 33 amostras de cólon ventral examinadas, foram observadas 21 espécies de Cyathostominae e sete de Strongylinae (ANJOS e RODRIGUES, 2006).

A coexistência de numerosas espécies e a preferência destas por determinado compartimento do intestino grosso, tornaram estes nematóides alvo de estudos ecológicos. Bucknell et al. (1996) considerou a comunidade de nematóides estrongilídeos estável, dominada por interações positivas, com poucas interações negativas, sugerindo ausência de competição.

### 1.2. Resistência aos anti-helmínticos

Estratégias de controle supressivas através da utilização de anti-helmínticos obtiveram êxito no controle de nematóides estrongilídeos, reduzindo as taxas de morbidez e mortalidade. Infelizmente, estas estratégias conduziram a seleção de indivíduos resistentes às drogas, principalmente os ciatostomíneos, sendo atualmente considerados os principais parasitas de cavalos (HERD, 1990; UHLINGER, 1990; LOVE et al., 1999).

Kaplan (2002; 2004) relatou que desde a década de 60, numerosos estudos afirmaram os níveis crescentes de resistência de ciatostomíneos a uma grande variedade de drogas anti-helmínticas. Sendo a resistência aos benzimidazóis altamente prevalente no mundo, além da resistência ao pirantel ser cada vez mais comum. Ressaltou ainda que embora ainda não haja relatos sobre resistência de ciatostomíneos a avermectina/milbemicina (lactonas macrocíclicas) mesmo após 20 anos de uso (CHAPMAN et al., 1996; CRAVEN et al., 1998; WOODS et al., 1998; TARIGO-MARTINIE et al., 2001), grande parte dos parasitologistas concorda que o desenvolvimento de resistência será inevitável, visto a sua difundida utilização no controle de nematóides de eqüinos (LLOYD e SOULSBY, 1998; SANGSTER, 1999).

A prática comum de rotação de drogas a cada tratamento não promove redução da velocidade de desenvolvimento de resistência (UHLINGER e KRISTULA, 1992), pelo contrário, pode levar ao aumento da resistência, selecionando indivíduos resistentes a mais de uma droga simultaneamente. Coles e Roush (1992) ressaltaram que quando mais de uma classe de drogas é efetiva ao tratamento, deve-se priorizar a rotação anual de drogas, onde apenas uma droga deve ser utilizada a cada ano, sendo esta estratégia considerada a mais efetiva para redução da resistência às drogas. Embora, também se afirme que a estratégia mais efetiva para redução da seleção de resistência é o tratamento simultâneo com dois anti-helmínticos distintos (KAPLAN, 2002).

O controle de nematóides de eqüinos é tipicamente baseado na freqüência profilática de tratamentos ao longo do ano, com administrações a cada 6-8 semanas. Porém esses tratamentos muitas vezes não levam em consideração fatores como carga parasitária, espécies presentes, biologia e resistência dos parasitas às drogas utilizadas (LLOYD et al., 2000; MATTHEE et al., 2002; O'MEARA e MULCAHY, 2002).

Desta forma, a importância dos ciatostomíneos continua aumentando, principalmente devido à extensa confiança dos proprietários e veterinários na utilização de drogas anti-helmínticas, conduzindo ao desenvolvimento, cada vez maior, de resistência a maior parte de classes de drogas disponíveis e a falta de interesse por parte da indústria farmacêutica em desenvolver pesquisas para o desenvolvimento de novas substâncias que limitem o desenvolvimento de resistência (GEARY et al., 1999). Atualmente, poucos são os estudos sobre os genes envolvidos na resistência anti-helmíntica, sem tal base molecular, diagnósticos genotípicos sobre resistência a anti-helmínticos nunca serão possíveis, sendo a detecção fenotípica de resistência a única alternativa restante (KAPLAN 2002; 2004).

### **1.3. Influência dos fatores ambientais**

Segundo Reinemeyer (1999) e Chapman et al. (2003), o conhecimento adequado da biologia da infecção por ciatostomíneos ainda é relativamente incompleto e para o sucesso do controle são necessárias informações sobre a natureza sazonal da transmissão e a influência dos fatores ambientais, das diferentes regiões de estudo, no desenvolvimento e sobrevivência das fases de vida livre.

Vários estudos sobre desenvolvimento e sobrevivência das fases de vida livre de nematóides estrongilídeos têm sido realizados em várias regiões do mundo: na Austrália (ENGLISH, 1979a;b; MFILODZE e HUTCHINSON, 1987; 1988; HUTCHINSON et al., 1989), Canadá (POLLEY, 1986), EUA (BAUDENA et al., 2000a,b), Europa (OGBOURNE, 1972; LINDBERG, 1976; GRELK et al., 1977; GENCHI et al., 1978; HASSLINGER e BITTNER, 1984; MIRCK, 1981; RAMSEY et al., 2004) e Brasil (RODRIGUES, 1989; BEZERRA et al., 2007).

As condições ambientais da região exercem grande impacto nas fases de vida-livre presentes no pasto. O pasto é o local de desenvolvimento dos ovos, eclosão e

desenvolvimento das larvas e infecção do hospedeiro. Os fatores ambientais incluem temperatura, chuva, umidade, luz solar, como também a ação de pássaros, insetos, fungos e mamíferos selvagens. Estes fatores são altamente variáveis, podendo oscilar anualmente (STROMBRG, 1997; NIELSEN et al., 2007).

A temperatura é o fator determinante para a viabilidade das larvas infectantes na pastagem em regiões temperadas. Na Grã-Bretanha, as baixas temperaturas do inverno promovem a morte das larvas pré-infectantes logo após a sua eclosão (OGBOURNE, 1972), sendo o período de desenvolvimento de fase pré-infectante à fase infectante relativamente curto e restrito as estações bem definidas de pastejo presentes nos meses mais quentes do ano (OGBOURNE, 1972; 1975; DUNCAN, 1974). Já na região subtropical do sul de Queensland, a flutuação sazonal das larvas infectantes não é tão pronunciada como na Europa e o período de sobrevivência das L<sub>3</sub> na pastagem é mais fortemente influenciado pela chuva (ENGLISH, 1979a).

Estudos relataram que a temperatura entre 25-33°C, é considerada ótima para o desenvolvimento de ovos e larvas (OGBOURNE, 1972; MFITILODZE e HUTCHINSON, 1987), com desenvolvimento completo até a forma infectante no período de 3-4 dias. As temperaturas acima de 38°C e abaixo de 4°C foram consideradas limitantes para o desenvolvimento de ovos e larvas de nematóides estrongilídeos (OGBOURNE, 1972; RUPASHINGE e OGBOURNE, 1978; MFITILODZE e HUTCHINSON, 1987). Mfitilodze e Hutchinson (1987) observaram que o desenvolvimento de larvas de nematóides estrongilídeos não ocorre em níveis de umidade inferiores a 15-20%.

Langrová et al. (2003) ressaltaram a importância da chuva para a migração das larvas infectantes de ciatostomíneos, que foi demonstrada claramente pela significativa recuperação de larvas após intensa chuva. Porém, Hutchinson et al. (1989) não acharam correlação significativa entre o número de larvas recuperadas da pastagem na região tropical seca do Norte de Queensland e a quantidade de chuva. Embora haja boa correspondência entre chuva e migração larval, considera-se a chuva só é importante enquanto provê a quantidade mínima de umidade necessária para a migração das larvas.

#### **1.4. Estudos em regiões de clima temperado**

Duncan (1974) em estudos realizados na Escócia observou menor recuperação de L<sub>3</sub> da pastagem nos meses de inverno em relação ao verão e outono, sendo especulado que as baixas temperaturas do inverno europeu, muitas vezes abaixo de 0°C, tiveram efeito deletério sobre as larvas (OGBOURNE, 1972). Em contraste, estudos a campo realizados em países onde a temperatura do inverno encontra-se abaixo do ponto de congelamento por muitos meses, foi observada marcante sobrevivência de L<sub>3</sub> durante o inverno (RAFFENSBERGER, 1930; PARNELL, 1936; BAKER et al., 1939; LINDBERG, 1976; POLLEY, 1986).

Relatos de Ogbourne, 1973 evidenciaram que no inverno, com temperaturas diárias superiores a 0°C, as larvas de nematóides estrongilídeos irão persistir por muitos meses na pastagem. E quando as temperaturas começam a se elevar, as L<sub>3</sub> persistirão na pastagem, embora em grande número, por apenas algumas semanas (OGBOURNE, 1973).

Estudos a campo sugerem que em períodos secos, com claro ressecamento do bolo fecal não há redução do número de L<sub>3</sub> e sim redução da migração das larvas para a pastagem até que a umidade do bolo fecal seja restabelecida novamente (OGBOURNE, 1972; GRELCK et al., 1977).

Hasslinger e Bittner (1984) em estudos conduzidos na Alemanha observaram maior recuperação de L<sub>3</sub> das amostras de pastagem coletadas no horário da manhã em relação aquelas coletadas ao meio-dia, atribuindo o fato aos níveis discrepantes de umidade

encontrados em cada horário, concordando com os relatos de Langrová et al. (2003) que também observaram maior recuperação de larvas pela manhã devido a presença do orvalho.

Os países com clima temperado têm clara distinção entre seus verões mornos e invernos frios, com rápido desenvolvimento das fases de vida livre durante o final da primavera, verão e início do outono. Embora sejam recuperadas larvas infectantes ao longo de todo ano (OGBOURNE, 1973). Maior recuperação é observada neste período, quando as temperaturas encontram-se mais favoráveis para o desenvolvimento das larvas (DUNCAN, 1974; OGBOURNE, 1973; 1975).

### **1.5. Estudos em regiões de clima subtropical e tropical**

A distinção entre as estações do ano geralmente é menos pronunciada nestas regiões, com quantidade de chuva muito variável entre as estações do ano e verões com altas temperaturas (NIELSEN et al., 2007).

Mfitlodze e Hutchinson (1987; 1988) em estudos desenvolvidos na Austrália relataram que quando as condições do ambiente encontram-se quente e úmidas, o desenvolvimento das larvas ocorre rapidamente e as L<sub>3</sub> têm a oportunidade de escapar do bolo fecal e migrar para a pastagem, embora seu período de sobrevivência seja muito curto.

Hutchinson et al. (1989) em estudos conduzidos no norte tropical de Queensland, Austrália, observaram que o período de sobrevivência das L<sub>3</sub> nas fezes era menor que oito semanas durante o verão quente e chuvoso; de 12 semanas durante a estação quente e seca e de 32 semanas durante a estação mais fria. A migração das larvas para a pastagem foi limitada, principalmente na estação quente e chuvosa, correspondendo também ao período do ano onde as L<sub>3</sub> sobreviveram por menos tempo.

Estudos realizados no clima subtropical do sul de Queensland, Austrália, evidenciaram que no verão o desenvolvimento até L<sub>3</sub> ocorre mais rapidamente, dentro de duas semanas aproximadamente, mas apenas 1-10% das larvas sobrevivem. No inverno, o desenvolvimento é mais lento, aproximadamente cinco semanas, com 80% de sobrevivência das larvas. Observou-se que durante o período seco, não foram recuperadas larvas da pastagem, porém após as chuvas, as larvas são recuperadas novamente. Afirmando o conceito do bolo fecal atuar como reservatório de larvas infectantes (ENGLISH, 1979a).

Bezerra et al. (2007), em estudo realizado no Brasil encontraram maior período de sobrevivência das L<sub>3</sub> na pastagem durante o período seco, quando comparado ao chuvoso. A sobrevivência das larvas foi limitada durante os meses mais quentes e prolongada durante os meses mais frios. A pastagem, durante o período seco, forneceu o microclima ideal para as larvas, prolongando sua sobrevivência. A recuperação das larvas infectantes também se mostrou superior durante este período, provavelmente devido às condições ideais de temperatura e chuva, que em elevadas quantidades torna-se limitante, dispersando as larvas para longe da pastagem.

É imprescindível encontrar métodos de controle alternativo para conter a intensidade e severidade da infecção por ciatostomíneos. Atuar na fase de vida livre no pasto é uma estratégia para reduzir a intensidade da infecção. Para o aperfeiçoamento destas estratégias de controle, são de extrema importância informações sobre a biologia do parasita e a influência dos fatores ambientais no desenvolvimento e sobrevivência das formas de vida livre dos ciatostomíneos (RAMSEY et al., 2004).

### **1.6. Características da gramínea Tifton 85 (*Cynodon* spp. cv. Tifton 85)**

Nos últimos anos têm surgido algumas forrageiras promissoras do gênero *Cynodon*, resultantes de trabalhos de melhoramento genético realizados nas Universidades da Geórgia e

da Flórida, nos Estados Unidos (HILL et al., 1993), sendo o Tifton 85 uma gramínea forrageira resultante desses trabalhos. É um híbrido caracterizado por possuir crescimento prostrado, ser estolonífera e rizomatosa, apresentando colmos e folhas grossos de coloração verde bastante escura, pouca pilosidade, estolões abundantes, mas em quantidade relativamente pequena. Esta gramínea apresenta importantes características forrageiras, como capacidade para produzir elevada quantidade de forragem de boa qualidade, alta produtividade, resistência ao frio (incluindo geadas) e altas temperaturas, grande flexibilidade de uso, podendo ser empregado tanto para pastejo quanto para produção de feno, baixa susceptibilidade a doenças, adaptação a variados tipos de solos (textura) e a uma grande diversidade de climas (BURTON et al., 1993). Entre as várias gramíneas da espécie *Cynodon dactylon*, o Tifton 85 é a que proporciona forragem com digestibilidade mais elevada (HILL et al., 2001). Segundo Dittrich et al. (2005) em estudos sobre a preferência de eqüinos em pastejo, verificaram que os eqüinos apresentaram distintas preferências entre gramíneas de um mesmo gênero e que as gramíneas Tifton 85 e Coastcross foram as preferidas.

Desta forma, o objetivo deste estudo foi contribuir com informações relevantes ao comportamento migratório, ao desenvolvimento e a sobrevivência de larvas infectantes de ciatostomíneos em gramínea Tifton 85 (*Cynodon* spp. cv. Tifton 85) em diferentes horários, sob condições de clima tropical, levando em consideração as variáveis ambientais que atuam no processo, como a temperatura e o índice pluviométrico.

## **2. CAPÍTULO I**

**ESTUDO DA DISTRIBUIÇÃO, RECUPERAÇÃO E SOBREVIVÊNCIA  
DE LARVAS INFECTANTES DE CIATOSTOMÍNEOS (NEMATODA-  
STRONGYLIDAE) DE EQÜINOS NAS FEZES E NA PASTAGEM NO  
PERÍODO DE SETEMBRO/2003 A NOVEMBRO/2004**

## 2.1. RESUMO

A distribuição, migração e sobrevivência de larvas infectantes de ciatostomíneos de eqüinos vem sendo estudada em diferentes tipos de clima no mundo. Poucos trabalhos existem sobre este tema na América do Sul. O objetivo do presente estudo foi avaliar a sobrevivência e a migração em gramínea Tifton 85 (*Cynodon* spp. cv.Tifton 85) sob condições de clima tropical. Massas fecais foram depositadas mensalmente na gramínea Tifton, no período de setembro de 2003 a setembro de 2004. Gramínea e fezes foram coletadas semanalmente às 8, 13 e 17h e processadas pela técnica de Baermann para recuperação de L<sub>3</sub>. Nas fezes, a sobrevivência das L<sub>3</sub> variou de quatro a nove semanas no período chuvoso e de oito a 15 semanas no período seco, com maior recuperação durante o período chuvoso. Na gramínea, a sobrevivência das larvas variou de duas a oito semanas no período chuvoso e cinco a 13 semanas no período seco, com maior recuperação das larvas infectantes no período seco. A análise multivariada de componentes principais evidenciou a influência do tempo e das variáveis ambientais sobre o número de larvas recuperadas das fezes e da gramínea. As condições climáticas influenciaram o desenvolvimento, a sobrevivência e migração das larvas infectantes. As L<sub>3</sub> foram recuperadas durante os três horários de coleta e não se observou diferença significativa entre os horários. Os resultados do estudo demonstraram que em condições de clima tropical as L<sub>3</sub> de ciatostomíneos estão disponíveis nas fezes e na pastagem, durante todo os meses do ano.

**Palavras-chave:** Ciatostomíneos, cavalos, Tifton, ecologia, larvas infectantes.

## 2.2. ABSTRACT

Distribution, migration and longevity of cyathostomin infective larvae have been studied in different types of climate in the World. Few works exist on this subject in South America. The objective of this research was evaluating survival and migration in Tifton 85 (*Cynodon* spp. cv. Tifton 85) pasture in tropical climate. Fecal masses were monthly placed on Tifton plot, from september of 2003 to september of 2004. Sward and feces were collected weekly, at 8 a.m., 1 and 5 p.m. and processed by Baermann technique. L<sub>3</sub> survival on feces varied from four to nine weeks in rainy period and from eight to 15 weeks in dry period, with higher recovered in rainy period. In the pasture, larvae survival varied from two to eight weeks in rainy period and from five to 13 weeks in dry period, with higher L<sub>3</sub> recovery in dry period. The multivariate analysis (principal components method) evidenced the influence of time and environmental variables on the number of recovered larvae from feces and pasture. Climatic conditions influenced the development, survival and migration of infective larvae. L<sub>3</sub> were recovered during the three times of collection and no significant difference was observed among three times. The study results demonstrated that in tropical climate conditions cyathostomin L<sub>3</sub> are available on feces and pasture during whole months of the year.

**Key words:** Cyathostominae, horses, sward Tifton, ecology, infective larvae.



## 2.3. INTRODUÇÃO

O Brasil apresenta a terceira maior criação de cavalos do mundo, cerca de 36 milhões de animais (IBGE, 2002). Estes são hospedeiros naturais de um grande número de helmintos, sendo os nematóides strongilídeos (Strongylinae e Cyathostominae) o mais numeroso grupo de parasitos de eqüinos (BUCKNELL et al., 1995; ANJOS e RODRIGUES, 2006) em termos de diversidade de espécies e em número de espécimes por hospedeiro.

Ciatostomíneos são parasitas do ceco e cólon, onde passam por uma fase histotrófica (CHAPMAN et al., 1999). O parasitismo por espécimes de ciatostomíneos pode ocorrer de forma sub-clínica, mas eventualmente os sintomas podem ocorrer. As larvas alojam-se na mucosa intestinal, havendo penetração na membrana basal das células epiteliais das glândulas tubulares, promovendo fibrose. Esta reação aumenta com o desenvolvimento larvar, provocando hipertrofia e hiperplasia celular (LOVE et al., 1999). Durante a última década houve vários relatórios clínicos detalhados de diarreia e perda de peso associada a infecção (LOVE et al., 1992; MURPHY et al., 1997).

A maioria dos nematóides apresenta duas fases distintas no seu desenvolvimento, uma fase de vida parasitária que ocorre no hospedeiro e uma fase de vida livre, que ocorre na pastagem e vai de ovo até larva infectante.

A partir da década de setenta, surgiram os primeiros trabalhos sobre resistência, demonstrando que o uso intensivo de anti-helmíntico modernos estava associado à resistência adquirida pelos parasitas tornando o controle menos efetivo, com o aumento da resistência nos anos oitenta (HERD, 1990).

O crescente conhecimento da biologia e epidemiologia de ciatostomíneos de eqüinos têm contribuído para o controle destas parasitoses. No entanto, pouco se conhece sobre a dinâmica das larvas no ambiente, principalmente nas regiões de clima tropical (RODRIGUES, 1989; COURTNEY, 1999; BAUDENA et al., 2000a).

As larvas infectantes dos ciatostomíneos têm sua sobrevivência e manutenção controladas pelas condições climáticas, com maior contaminação no início dos períodos de maior precipitação pluviométrica e menor nos períodos de baixa precipitação (DUNCAN, 1974; HERD et al., 1985).

O objetivo deste estudo foi avaliar a sobrevivência e a migração de larvas infectantes de ciatostomíneos em gramínea Tifton 85 (*Cynodon* spp. cv. Tifton 85) em diferentes horários de coleta sob condições de clima tropical no período de 15 meses.

## 2.4. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.4.1. Delineamento experimental

O potencial de transmissão de larvas infectantes de ciatostomíneos foi estudado durante 15 meses, semanalmente e em três horários distintos, a fim de se estimar o potencial de sobrevivência e migração das L<sub>3</sub> para gramínea no período de setembro de 2003 a novembro de 2004. Massas fecais foram depositadas, na primeira semana de cada mês, sobre a pastagem e semanalmente foram coletadas amostras de fezes e gramínea ao redor destas, nos horários de 8, 13 e 17 horas para estimar o número de larvas infectantes presente na matéria seca. Devido ao clima da região não apresentar estações definidas, considerou-se para a análise dos dados o período chuvoso (outubro a abril) e seco (março a setembro).

#### **2.4.2. Local**

O estudo foi realizado no Laboratório de Helmintologia da Estação para Pesquisas Parasitológicas W.O.Neitz do Departamento de Parasitologia Animal do Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ). O clima é do tipo Aw (tropical úmido), segundo a classificação de Köpen.

#### **2.4.3. Dados Meteorológicos**

Foram obtidos registros de temperatura do ar e índice pluviométrico fornecidos pelo posto Agrometeorológico da Estação Ecológica Agrícola de Seropédica – INMET/PESAGRO – RJ.

#### **2.4.4. Animais**

As massas fecais foram obtidas de equinos naturalmente infectados por nematóides strongilídeos intestinais. Durante o experimento, os animais não receberam nenhum tratamento anti-helmíntico.

#### **2.4.5. Pastagem**

Foi montado um canteiro de Tifton 85 (*Cynodon* spp. cv.Tifton 85) com dimensões de 11,50 m x 1,00 m, nunca utilizada para pastejo, e cercada por arame farpado, para evitar a entrada de animais.

#### **2.4.6. Depósitos**

Foram coletadas diretamente do reto massas fecais de aproximadamente 1000-1500g e depositadas mensalmente sobre a pastagem com uma distância de  $\pm 50$  cm. De cada massa fecal retirou-se previamente uma pequena amostra para conhecimento do número de ovos por grama (OPG) (GORDON e WHITLOCK, 1939) para avaliação da carga parasitária. Para obtenção das L<sub>3</sub>, foram realizadas coproculturas (ROBERTS e O'SULLIVAN, 1950).

Nos meses de março e agosto de 2004 não foram feitos depósitos devido destruição da gramínea por queimada.

#### **2.4.7. Procedimentos**

Sete dias após cada depósito de massa fecal foram realizadas as coletas semanais de amostras de fezes e gramínea. Foram retiradas aproximadamente 1,0 g de fezes por amostra, procurando atingir todas as camadas da mesma. A cada coleta de amostra de fezes também se coletou amostra da gramínea ao redor da massa depositada, com uma distância de até 10 cm da mesma. As amostras fecais e de gramínea foram pesadas e processadas pela técnica de Baermann. Após 24 horas foram coletadas amostras de solução de cada funil, recolhidos diretamente em tubos de ensaio e levados à geladeira para posterior identificação (BEVILAQUA et al., 1993) e contagem de larvas ao microscópio óptico. Para obtenção de matéria seca (ms) as fezes e a gramínea foram mantidas em estufa por 48 horas a 75°C. As massas fecais foram descartadas ao se constatar a ausência de L<sub>3</sub> em três coletas consecutivas.

Os dados de contagem de larvas nas fezes, na gramínea, período de sobrevivência, temperatura média do ar e do solo e índice pluviométrico total foram registrados semanalmente.

#### **2.4.8. Análise estatística**

Os dados de contagem de larvas nas fezes, na gramínea, período de sobrevivência, temperaturas médias do ar e do solo e precipitação total foram registrados semanalmente.

Estatísticas descritivas destas variáveis e sua variação sequencial no tempo foram calculadas e apresentadas em tabelas para permitir a percepção da variação do número de larvas sob o efeito dos demais fatores. Para o estudo do efeito do horário de coleta sobre as amostras de gramínea semanais, os valores médios obtidos nos três horários foram comparados pelo teste de Kruskal-Wallis ( $p < 0,05$ ) (ZAR, 1999; SAMPAIO, 2007)), utilizando o programa estatístico BioEstat (AYRES et al., 2005).

Para comparação das médias de OPG, recuperação e sobrevivência das larvas infectantes, nos períodos seco e chuvoso, foi utilizado o teste t de Student ( $p < 0,05$ ) (ZAR, 1999; SAMPAIO, 2007).

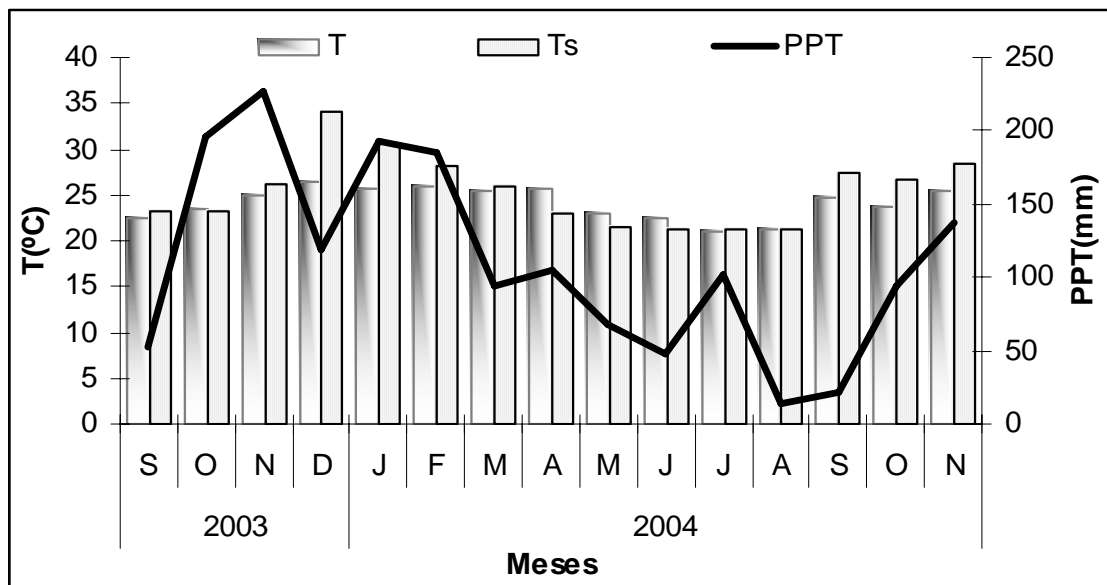
As coletas selecionadas ( $n=109$ ) foram submetidas à análise multivariada de componentes principais (JUDEZ, 1989), para o qual utilizou-se o software INFOSTAT da Universidade de Córdoba/Argentina, englobando as variáveis, dias após deposição da massa fecal, temperaturas médias do ar e do solo, percentagem de larvas nas fezes e na forrageira e o índice pluviométrico da semana alvo.

A representação gráfica dessas variáveis no sistema tridimensional permitiu verificar em um sistema de coordenadas às associações existentes entre elas.

### **2.5. RESULTADOS**

#### **2.5.1. Dados Meteorológicos**

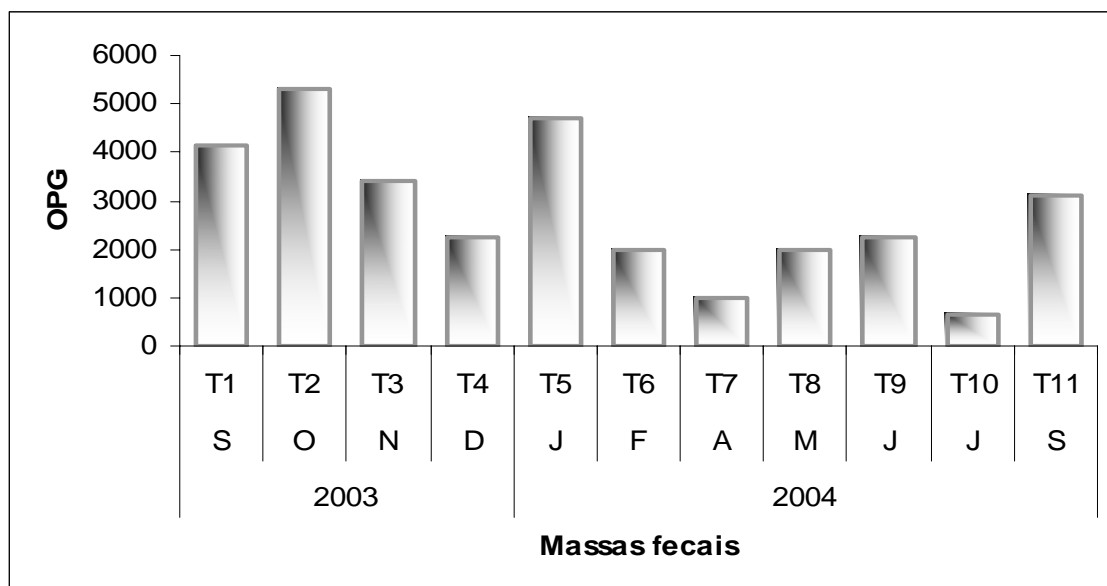
O período chuvoso apresentou temperatura média de 24,6°C, variando de 22,4°C (outubro 2003) a 25,9°C (dezembro 2003). No período seco a temperatura média foi de 21,7°C, variando de 20,5°C (julho 2004) a 23,9°C (setembro 2004). A temperatura média do solo no período chuvoso foi de 26,7°C e de 22,6°C no período seco. Valores de temperatura média do ar, do solo e índice pluviométrico total foram maiores durante o período chuvoso, com índice pluviométrico total de 1347,7 mm, sendo o maior valor registrado em (novembro 2003) 226,1 mm. No período seco o índice pluviométrico total foi de 305 mm (Figura 1).



**Figura 1.** Médias mensais de temperatura do ar, do solo e índice pluviométrico total no período de setembro de 2003 a novembro de 2004.

### 2.5.2. OPG

O OPG variou durante todo o período de estudo, com valores entre 650 e 5300, sendo maiores durante o período chuvoso ( $p > 0,05$ ). A média no período chuvoso foi de 3108,3 ( $\pm 1663,25$ ) e 2430 ( $\pm 1303,17$ ) durante o período seco (Figura 2).

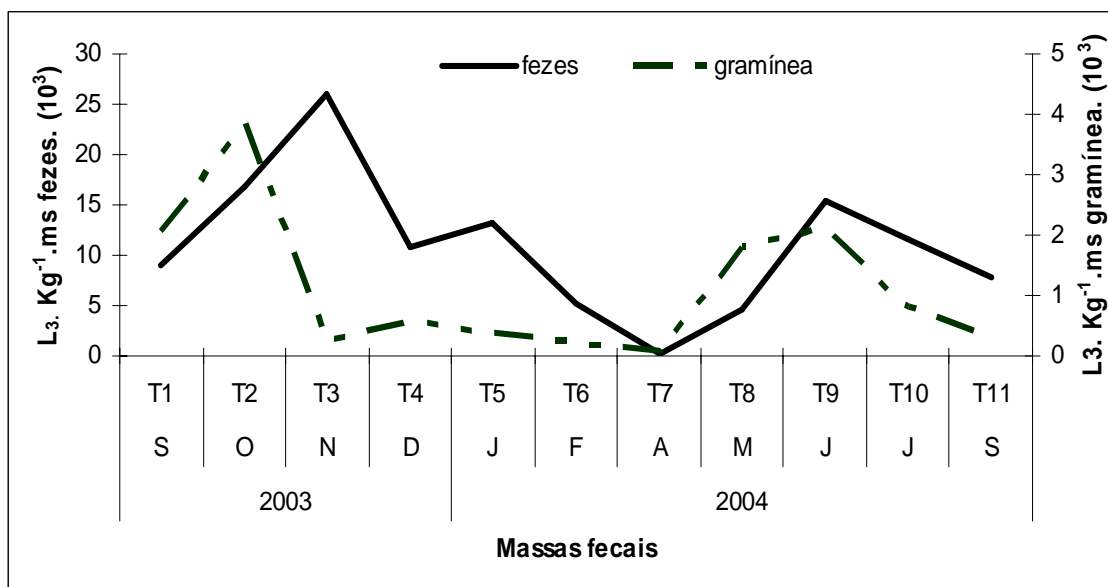


**Figura 2.** Variação do número de ovos por grama de fezes (OPG) das massas fecais depositadas no período de setembro de 2003 a setembro de 2004.

### 2.5.3. Fezes

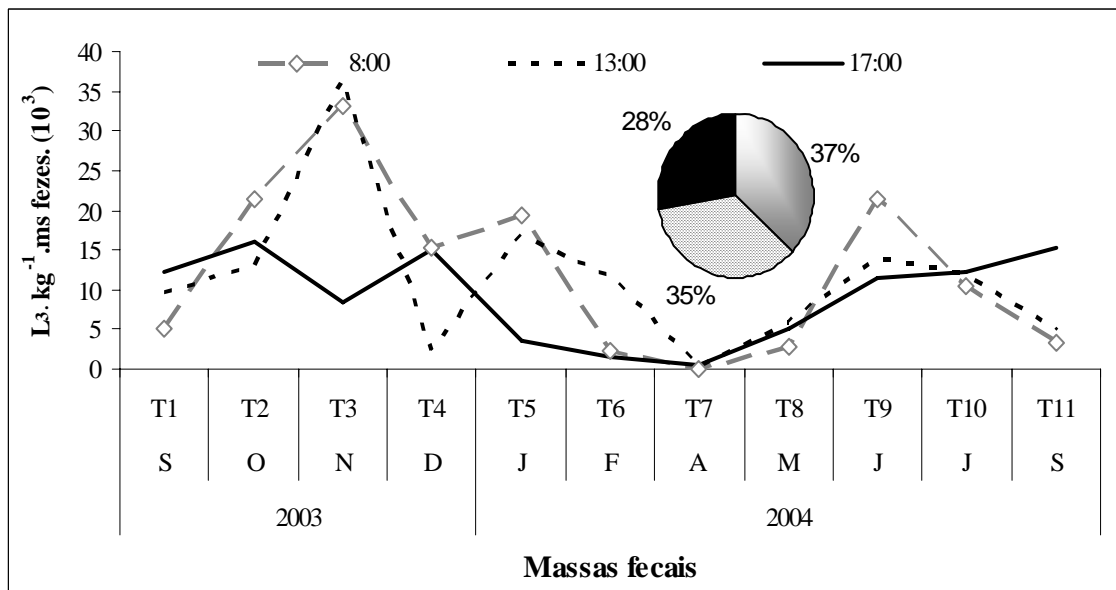
A recuperação das larvas infectantes das fezes ocorreu a partir da primeira semana na maioria dos depósitos e na segunda semana nos meses de fevereiro e abril 2004. As  $L_3$  foram recuperadas em maior número em novembro 2003 (26.000  $L_3 \text{ kg}^{-1} \text{ ms}$ ) e junho 2004 (15.500

$L_3 \text{ kg}^{-1} \text{ ms}$ ). No período chuvoso, o número médio de larvas recuperadas foi de  $12.042 L_3 \text{ kg}^{-1} \text{ ms}$  e no seco de  $9.708 L_3 \text{ kg}^{-1} \text{ ms}$  (Figura 3). Embora a recuperação das  $L_3$  tenha sido superior no período chuvoso, não foi observada diferença significativa entre os períodos seco e chuvoso.



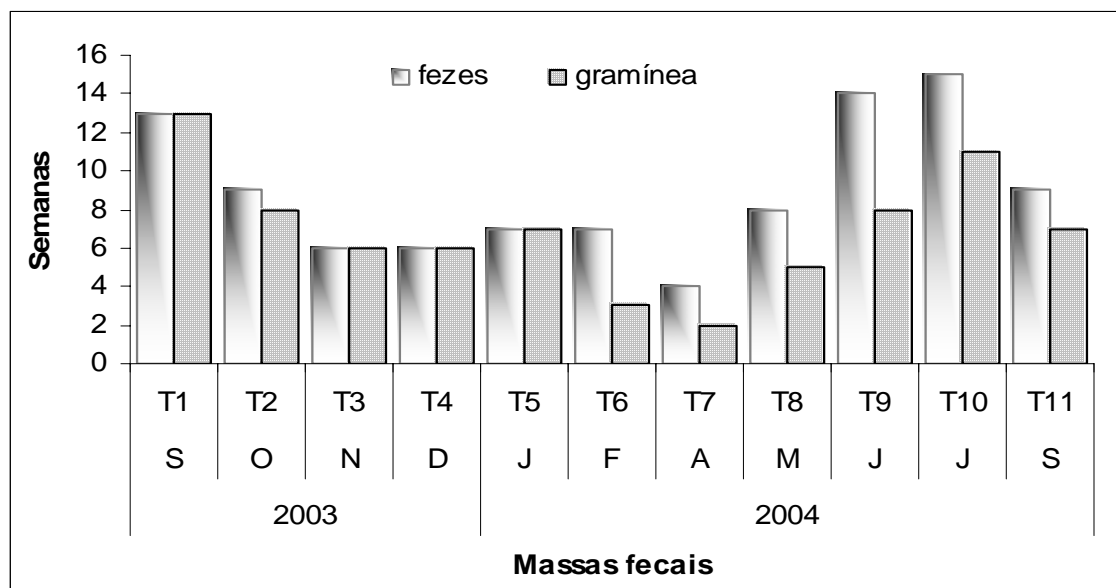
**Figura 3.** Número médio de larvas infectantes de ciatostomíneos recuperadas das amostras de fezes e gramínea das massas fecais depositadas no período de setembro de 2003 a setembro de 2004.

Larvas infectantes de ciatostomíneos foram recuperadas nos três horários de coleta (8, 13 e 17 h), sendo o horário de 8 h, o de maior recuperação das  $L_3$  ( $p > 0,05$ ) (Figura 4).



**Figura 4.** Recuperação média de larvas infectantes de ciatostomíneos nas fezes nos diferentes horários de coleta (8, 13 e 17 h).

A sobrevivência das larvas infectantes variou de quatro a 15 semanas durante o período do estudo. No período chuvoso, a sobrevivência das larvas variou de quatro a nove semanas e no período seco, de oito a 15 semanas ( $p < 0,05$ ) (Figura 5).



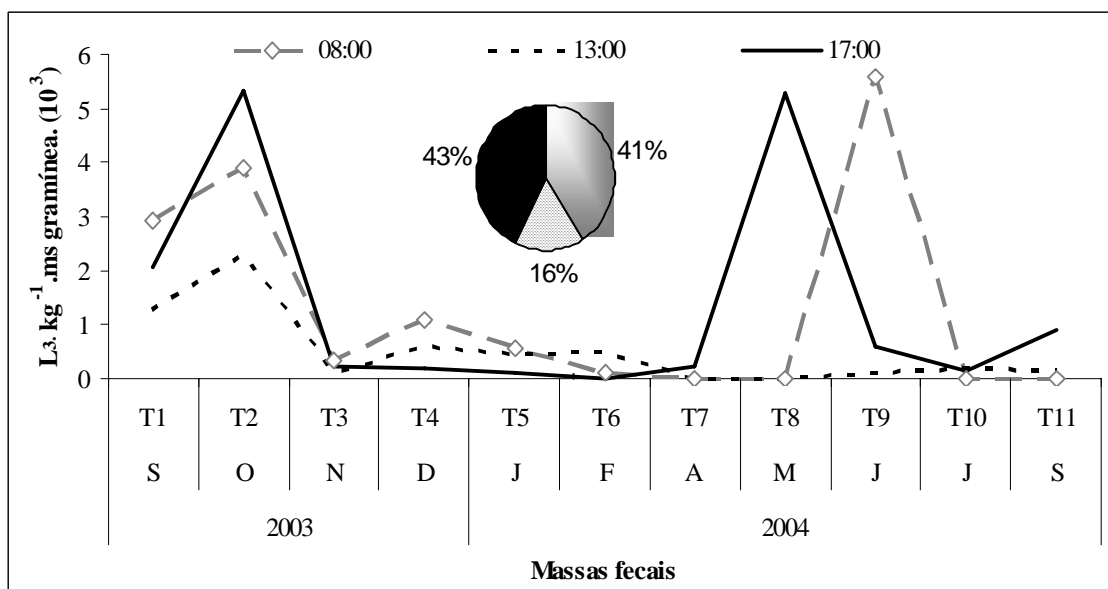
**Figura 5.** Sobrevivência (semanas) das larvas infectantes de ciatostomíneos nas fezes e gramínea das massas fecais depositadas entre setembro de 2003 e setembro de 2004.

#### 2.5.4. Gramínea

Maior recuperação de larvas foi observada em outubro 2003 ( $3.827 L_3 kg^{-1} ms$ ) e em junho 2004 ( $2.100 L_3 kg^{-1} ms$ ). A recuperação das larvas foi de  $880 L_3 kg^{-1} ms$  no período chuvoso e  $1.416 L_3 kg^{-1} ms$  no período seco ( $p > 0,05$ ) (Figura 3). A migração das  $L_3$  para a gramínea ocorreu a partir da segunda semana em média tanto para o período chuvoso quanto para o seco.

A sobrevivência das L<sub>3</sub> na gramínea variou de duas a 13 semanas no período do estudo. No período chuvoso, a sobrevivência das L<sub>3</sub> variou de duas a oito semanas e no seco, de sete a 13 semanas. Foi observada diferença significativa entre os períodos, com destaque para maior tempo de sobrevivência no período seco (Figura 5).

As L<sub>3</sub> de ciatostomíneos foram recuperadas nos três horários de coleta 8, 13 e 17 h, sendo o horário das 17 h de maior recuperação (p>0,05), com picos em outubro 2003 (5.300 L<sub>3</sub> kg<sup>-1</sup> ms) e maio 2004 (5.300 L<sub>3</sub> kg<sup>-1</sup> ms) (Figura 6).



**Figura 6.** Recuperação média de larvas infectantes de ciatostomíneos na gramínea nos diferentes horários de coleta (8, 13 e 17 h).

Com a distribuição relativa de larvas nos substratos, as coletas completas selecionadas (n=109) para a análise multivariada apresentam os seguintes resultados: (Tabela 1; 2).

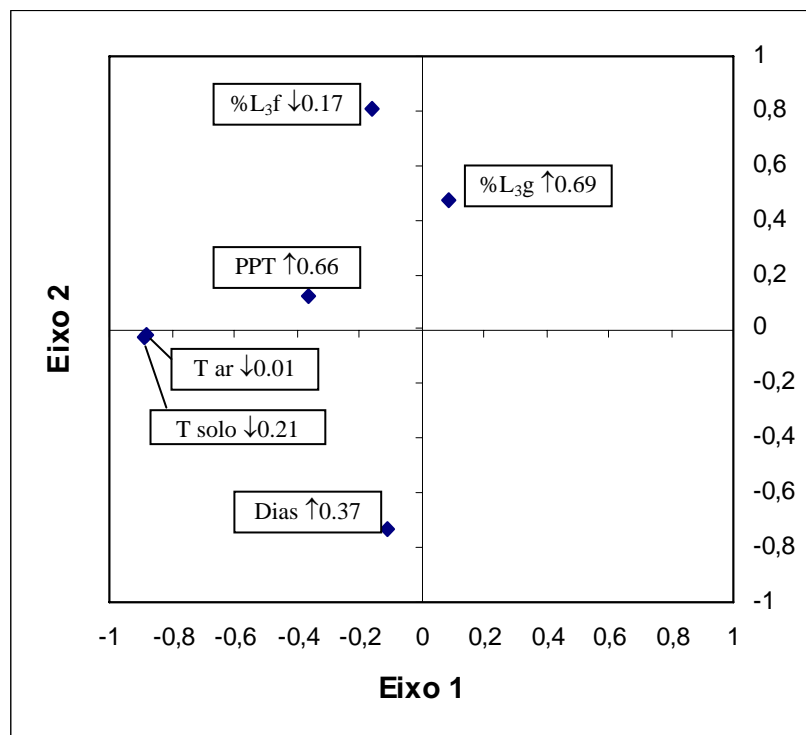
**Tabela 1.** Estatística Descritiva.

| Variável           | n <sup>a</sup> | $\bar{x}$ | s <sup>b</sup> | Máx    | Mín   |
|--------------------|----------------|-----------|----------------|--------|-------|
| % L <sub>3</sub> f | 109            | 0,11      | 0,17           | 0,86   | 0,00  |
| % L <sub>3</sub> g | 109            | 0,01      | 0,02           | 0,14   | 0,00  |
| Dias               | 109            | 39,75     | 23,19          | 98,00  | 7,00  |
| PPT                | 109            | 25,60     | 29,87          | 116,90 | 0,00  |
| T ar               | 109            | 22,82     | 2,28           | 27,10  | 17,80 |
| T solo             | 109            | 24,47     | 3,93           | 36,70  | 15,70 |

**Tabela 2.** Análises de Componentes Principais – Covariâncias.

|                    | % L <sub>3</sub> f | %L <sub>3</sub> g | Dias | PPT  | T ar | T solo |
|--------------------|--------------------|-------------------|------|------|------|--------|
| % L <sub>3</sub> f | 1,00               |                   |      |      |      |        |
| %L <sub>3</sub> g  | 0,18               | 1,00              |      |      |      |        |
| Dias               | -0,36              | -0,04             | 1,00 |      |      |        |
| PPT                | 0,02               | 0,14              | 0,03 | 1,00 |      |        |
| T ar               | 0,05               | 2,6E-04           | 0,07 | 0,18 | 1,00 |        |
| T solo             | 0,13               | -0,16             | 0,07 | 0,13 | 0,64 | 1,00   |

As temperaturas do ar e do solo mostraram-se intimamente correlacionadas, apresentando valores próximos, influenciando diretamente a recuperação de L<sub>3</sub> na pastagem. A temperatura do solo apresentou influência mais imediata no número de larvas na gramínea. Em ambas situações, elevações de temperatura acionam menor frequência de larvas. O índice pluviométrico influenciou a recuperação de L<sub>3</sub> tanto nas fezes como na pastagem, sendo sua influência mais imediata na pastagem. Observou-se intensa relação entre o tempo (dias após deposição da massa fecal) e a recuperação de L<sub>3</sub> nas fezes, fato que também ocorreu na gramínea, porém de maneira menos intensa. Provavelmente, com o decorrer dos dias as larvas abandonaram a massa fecal e migraram para a gramínea até se esgotarem. (Figura 7).



**Figura 7.** Representação gráfica das variáveis estudadas no sistema tridimensional originado pelos três primeiros eixos (componentes) principais, com inércia acumulada de 71%, para gramínea Tifton 85 (direção e coordenadas do 3º eixo representadas pela direção da seta).



## 2.6. DISCUSSÃO

### 2.6.1. Fezes

No presente estudo o OPG manteve-se elevado durante o período chuvoso, provavelmente pela maior eliminação de ovos pelas fêmeas, favorecendo a contaminação do ambiente pelas L<sub>3</sub> logo após as chuvas, sendo estes fatores ambientais mais adequados ao desenvolvimento larvar. Nestas condições, ocorre maior disponibilidade de matéria verde mais palatável para o equino e isto favorece a ingestão de gramínea, de L<sub>3</sub> e a infecção dos animais (CRAIG, 1999).

No período chuvoso, a variação média da temperatura foi de 22,4°C a 25,9°C e no seco foi de 20,5°C a 23,9°C, dentro da faixa de 25 a 33 °C, considerada excelente para o desenvolvimento de ovos e larvas de ciatostomíneos já relatado em outros estudos (OGBOURNE, 1972; MFILODZE e HUTCHINSON, 1987). Na temperatura de 28°C foi observado maior percentual de desenvolvimento e a temperatura de 38°C foi limitante (RUPASINGHE e OGBOURNE, 1978).

A maior recuperação das L<sub>3</sub>, neste estudo, ocorreu no período chuvoso, demonstrando a influência da temperatura e da chuva sobre o desenvolvimento e a transmissão das L<sub>3</sub>, contrastando com a maior longevidade das L<sub>3</sub> no período seco (RODRIGUES, 1989). Estudos sobre a transmissão sazonal de ciatostomíneos em climas quentes demonstraram que as larvas, apesar de apresentarem desenvolvimento rápido sobreviveram por menos tempo na época chuvosa. No período seco o desenvolvimento é mais lento, porém as L<sub>3</sub> sobrevivem por mais tempo (COURTNEY, 1999). As massas fecais permanecem intactas no período seco, protegendo os ovos e larvas (NIELSEN et al., 2007), aumentando assim o período de sobrevivência, em contraste com o período chuvoso, onde ocorre rápida destruição das massas e redução do período de sobrevivência das larvas (NIEZEN et al., 2003). No período seco a umidade é menor influenciando diretamente a transmissão das L<sub>3</sub> para a gramínea, esta transmissão só será restabelecida com o aumento da umidade (OGBOURNE, 1972; GRELCK et al., 1977), confirmando que as fezes atuam como reservatório de larvas e que após este período ocorre maior contaminação da pastagem, com maior risco para os animais (MFILODZE e HUTCHINSON, 1987; UHLINGER, 1991; ROSSANIGO e GRUNER, 1996; RAMSEY et al., 2004).

No presente estudo a recuperação de L<sub>3</sub> das fezes em diferentes horários não revelou diferença significativa, embora maior recuperação tenha ocorrido no horário das 8 h, devido a este fato é importante fazer pelo menos uma coleta de fezes, juntamente com a coleta de gramínea, para avaliar a disponibilidade de L<sub>3</sub> no bolo fecal.

### 2.6.2. Gramínea

Durante todo o período do estudo foram recuperadas larvas infectantes. A recuperação das larvas foi maior no período seco (1.416 L<sub>3</sub> kg<sup>-1</sup> ms), provavelmente devido à temperatura (21,7°C) e ao índice pluviométrico ideais do período que propiciaram o desenvolvimento das L<sub>3</sub> e a migração para pastagem (LANGROVÁ et al., 2003). O índice pluviométrico total foi de 1347,7 mm no período chuvoso e de 305 mm no período seco, onde a quantidade de chuva do período seco representou apenas 16,78% do período chuvoso. Embora em outubro 2003 (chuvoso) tenha apresentado elevada recuperação de L<sub>3</sub>, estes resultados, provavelmente, se devem às elevadas taxas de OPG nos em setembro e outubro de 2003.

A chuva mostra-se como um elemento essencial no comportamento migratório das larvas, fornecendo umidade e filme de água. Porém, em elevada quantidade, ela dispersa as L<sub>3</sub> para longe, além de 10 cm de distância da massa fecal, sendo importante apenas enquanto

fornece a quantidade mínima de umidade necessária para a migração (HUTCHINSON et al., 1989).

No presente estudo, o período de sobrevivência foi superior no período seco, quando comparado com o chuvoso (COURTNEY, 1999; HUTCHINSON et al., 1989; OGBOURNE, 1973; ENGLISH, 1979a,b; MIRCK, 1981; MFITILODZE e HUTCHINSON, 1988). A sobrevivência das larvas foi limitada durante os meses mais quentes e prolongada durante os meses mais frios (HUTCHINSON et al, 1989), pois temperaturas elevadas aumentam o metabolismo larval, resultando numa rápida depleção de suas reservas energéticas (CHEAH e RAJAMANICKAM, 1997), restringindo a motilidade, capacidade migratória e reduzindo sua infectividade. A pastagem, durante o período seco, encontra-se mais fibrosa e acamada, protegendo as L<sub>3</sub> contra a variação de temperatura e evaporação (BRADY e WEIL, 1999), fornecendo um microclima ideal, prolongando a sobrevivência.

A maior recuperação de larvas ocorreu às 17 h, diferindo dos resultados de estudos na Europa Central, com maior número de L<sub>3</sub> recuperadas em horários com orvalho da manhã (LANGROVÁ et al, 2003).

Estes dados podem auxiliar a estabelecer programas de controle integrado, com o intento de minimizar a utilização de anti-helmínticos.

### **3. CAPÍTULO II**

**ESTUDO DA DISTRIBUIÇÃO, RECUPERAÇÃO E SOBREVIVÊNCIA  
DE LARVAS INFECTANTES DE CIATOSTOMÍNEOS (NEMATODA-  
STRONGYLIDAE) DE EQÜINOS NAS FEZES E NA PASTAGEM NO  
PERÍODO DE FEVEREIRO/2005 A MARÇO/2007**

### 3.1. RESUMO

Estudos experimentais foram conduzidos no período de fevereiro de 2005 a março de 2007 no município de Seropédica, RJ para avaliar a recuperação, sobrevivência e a migração das larvas infectantes (L<sub>3</sub>) de ciatostomíneos em gramínea Tifton 85 (*Cynodon* spp. cv. Tifton 85) e o horário de maior disponibilidade de larvas em condições de clima tropical. Massas fecais de eqüinos naturalmente infectados foram depositadas mensalmente na pastagem. Amostras de fezes e de gramínea, dividida em ápice e base, foram coletadas semanalmente às 8, 13 e 17 h e processadas pela técnica de Baermann para recuperação de L<sub>3</sub>. Análises multivariadas de componentes principais demonstraram a influência do tempo e das variáveis ambientais na recuperação de larvas infectantes das fezes e da pastagem. No período chuvoso (outubro-março), as larvas infectantes foram recuperadas em maior número das fezes e do ápice da gramínea. Em contraste, no período seco (abril-setembro), a recuperação foi superior na base da gramínea, assim como a sobrevivência das L<sub>3</sub> nas fezes e na gramínea. Maior número de larvas foi recuperado às 8 h, exceto na base da gramínea, onde a maior recuperação de L<sub>3</sub> ocorreu às 13 h. Estes resultados demonstram que em condições tropicais, as L<sub>3</sub> estão disponíveis nas fezes e na pastagem o ano todo. E, que o conhecimento das influências climáticas no desenvolvimento e sobrevivência das L<sub>3</sub> é crucial para o desenvolvimento de programas de controle integrado que ofereçam proteção efetiva e reduzam o desenvolvimento de resistência aos antihelmínticos.

**Palavras-chave:** Cyathostominae, eqüinos, Tifton 85, larvas infectantes.

### 3.2. ABSTRACT

Experimental studies were conducted from february 2005 to march 2007 in Seropédica, RJ, Brazil to evaluate the recovery, survival and the migration of cyathostomin infective larvae (L<sub>3</sub>) in Tifton 85 (*Cynodon spp. cv. Tifton 85*) pasture and the collection time of larger larvae readiness in tropical climate. Fecal masses were deposited monthly in the pasture. Grass and feces samples were collected weekly at 8 a.m., 1 and 5 p.m. and processed by the Baermann technique for L<sub>3</sub> recovery. Multivariate analysis (principal components method) showed the influence of time and environmental variables on the number of infective larvae recovered from the feces and pasture. In the rainy period (october to march), more infective larvae were recovered on the feces and grass apex. In contrast, in the dry period (april to september), the recovery was higher only on the grass base, as well as the L<sub>3</sub> survival on feces and grass. More larvae were recovered at 8 a.m., except from the grass apex, where the highest recovery was at 1 p.m. These results demonstrate that in tropical conditions L<sub>3</sub> are available on feces and pasture throughout the year. Knowledge of climatic influences on the development and survival of L<sub>3</sub> is crucial to designing integrated parasite control programs that provide effective protection while slowing the development of anthelmintic resistance.

**Key words:** Cyathostominae, horses, Tifton 85, infective larvae.

### 3.3. INTRODUÇÃO

O uso intensivo de drogas sobre nematóides de eqüinos tem causado dramáticas mudanças na prevalência e biologia dos parasitos. Nas últimas décadas, medidas que reduzam o desenvolvimento de resistência vêm sendo recomendadas (GOMEZ e GEORGI, 1991; DUNCAN e LOVE, 1991; KRECEK et al., 1994; KAPLAN, 2002; MATTHEE e McGEOCH, 2004).

Dentre os fatores que influenciam o desenvolvimento de resistência dos nematóides à maioria dos anti-helmínticos, o mais importante é o tamanho do “refugium” parasitário (VAN WYK, 2001; KAPLAN, 2004). Os estágios de vida livre presentes na pastagem constituem a maior parte do “refugium”, mas também estão incluídos os animais não tratados e alguns estágios parasitários, como a fase histotrófica dos ciatostomíneos (NIELSEN et al., 2007).

O desenvolvimento, a sobrevivência e a migração das larvas infectantes sofrem forte influência das variáveis climática, como a temperatura e o índice pluviométrico. Sendo a migração das larvas regulada principalmente pela umidade disponível e a sobrevivência pela temperatura (OGBOURNE, 1973; CRAIG et al., 1983; EYSKER et al., 1986; BEZERRA et al., 2007).

Alguns tipos de gramínea podem favorecer a sobrevivência e a migração das L<sub>3</sub>. Estudos sobre o desenvolvimento e sobrevivência de ovos e larvas de ciatostomíneos em pastagens vêm sendo desenvolvidos em regiões de clima temperado (OGBOURNE, 1972; DUNCAN, 1974), porém poucos são os estudos em regiões de clima tropical (MFITILODZE e HUTCHINSON, 1988; HUTCHINSON, et al., 1989; BEZERRA, et al., 2007) e subtropical (ENGLISH, 1979a,b; CRAIG et al., 1983; COURTNEY e ASQUITH, 1985; BAUDENA et al., 2000a,b).

Este estudo mostra-se de grande importância para a América do Sul, tendo em vista poucos estudos relatados em condições de clima tropical e teve como objetivo avaliar a sobrevivência e a migração de larvas infectantes de ciatostomíneos em gramínea Tifton 85 (*Cynodon* spp. cv. Tifton 85) em diferentes horários de coleta por 26 meses.

### 3.4. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.4.1. Delineamento experimental

No período de fevereiro de 2005 a março de 2007 estudou-se o potencial de transmissão de larvas infectantes (L<sub>3</sub>) de ciatostomíneos de eqüinos e a metodologia foi utilizada de acordo com Bezerra et al (2007), com coleta das amostras de fezes e gramínea, divididas em base (0-20 cm) e ápice (20-40 cm), de três pontos em sentido horário. Para análise dos dados foram considerados dois períodos distintos: chuvoso (outubro a março) e seco (abril a setembro).

#### 3.4.2. Local e Obtenção dos Dados Meteorológicos

O estudo foi realizado no Laboratório de Helminologia da Estação para Pesquisas Parasitológicas W. O. Neitz do Departamento de Parasitologia Animal do Instituto de

Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ). O clima é do tipo Aw (tropical úmido), segundo a classificação de Köpen.

Os dados meteorológicos do período de estudo foram fornecidos pelo posto Agrometeorológico da Estação Ecológica Agrícola de Seropédica – INMET/PESAGRO – RJ.

### **3.4.3. Animais e Pastagem**

As massas fecais foram obtidas de equínos naturalmente infectados por nematóides strongilídeos intestinais. Os animais utilizados não receberam nenhum tipo de tratamento anti-helmíntico durante o período do experimento.

Foi montado um canteiro de Tifton 85 (*Cynodon* spp. cv. Tifton 85) com dimensões de 11,50 m x 1,00 m, sendo a área cercada por arame farpado, evitando a entrada de animais e o pastejo.

### **3.4.4. Depósitos**

Massas fecais de aproximadamente 1000-1500g foram coletadas diretamente do reto do animal doador e depositadas na primeira semana de cada mês sobre a pastagem com uma distância de  $\pm 50$  cm. De cada massa fecal retirou-se previamente uma pequena amostra para conhecimento do número de ovos por grama (OPG) através da técnica de Gordon e Whitlock (1939) para avaliação da carga parasitária. Para identificação das L<sub>3</sub>, foram realizadas coproculturas, pela técnica preconizada por Roberts e O'Sullivan (1950).

### **3.4.5. Procedimentos**

Sete dias após cada depósito de massa fecal foram realizadas coletas de amostras de fezes e gramínea de três pontos distintos em sentido horário. Foram retiradas aproximadamente 2,0 g de fezes por amostra, procurando atingir todas as camadas da mesma. A cada coleta de amostra de fezes também se coletou amostra da gramínea ao redor da massa depositada, com uma distância de até 10 cm da mesma, estas foram divididas em base (0-20 cm) e ápice (20-40 cm). As amostras fecais e de gramínea foram pesadas e processadas pela técnica de Baermann e após 24 h as L<sub>3</sub> recuperadas foram observadas ao microscópio óptico, contadas e identificadas com base na chave de Bevilaqua et al. (1993). Para obtenção da matéria seca (ms), as amostras de fezes e gramínea foram mantidas em estufa a temperatura de 75°C por 48 h. As massas fecais foram descartadas ao se constatar ausência de L<sub>3</sub> na amostra de fezes coletada.

Os dados de contagem de larvas nas fezes, na gramínea, período de sobrevivência, temperatura média do ar e do solo e índice pluviométrico total foram registrados semanalmente.

### **3.4.6. Análise estatística**

Para avaliar o efeito do horário de coleta, na recuperação das L<sub>3</sub>, os valores médios dos três horários foram comparados pelo teste de Kruskal-Wallis (ZAR, 1999; SAMPAIO, 2007) pelo BioEstat (AYRES et al., 2005).

Foi utilizado o teste de Main-Whitney ( $p < 0,05$ ) (ZAR, 1999; SAMPAIO, 2007) para análise das médias de OPG, recuperação e sobrevivência das larvas infectantes nos períodos chuvoso e seco, também pelo BioEstat (AYRES et al., 2005).

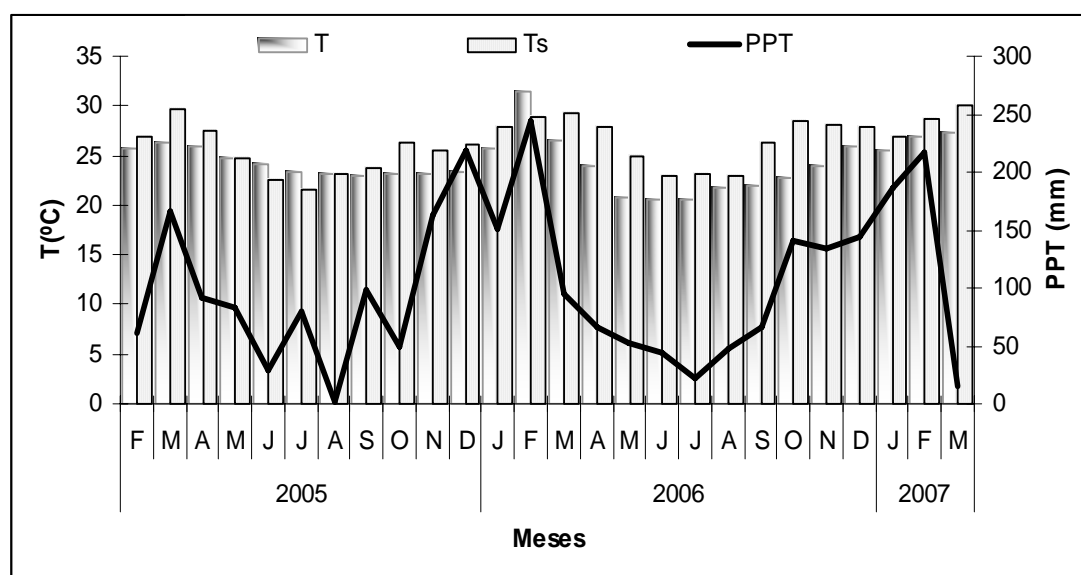
As coletas selecionadas ( $n=139$ ) foram submetidas à análise multivariada de componentes principais (JUDEZ, 1989), para o qual se utilizou o software INFOSTAT. A contagem das larvas, nos períodos de observação, foi fixada em porcentagens em relação ao número total em cada período, para a correta observação da dinâmica de migração.

A representação gráfica dessas variáveis no sistema tridimensional permitiu verificar, em um sistema de coordenadas, as associações existentes entre elas.

### 3.5. RESULTADOS

#### 3.5.1. Dados meteorológicos

Os valores de temperatura média do ar, do solo e índice pluviométrico total apresentaram-se superiores no período chuvoso (Figura 1). Neste período as temperaturas médias do ar e do solo foram de  $25,5^{\circ}\text{C}$  e  $27,9^{\circ}\text{C}$ , respectivamente e no período seco de  $22,8^{\circ}\text{C}$  e  $24,3^{\circ}\text{C}$ , respectivamente. O índice pluviométrico total foi de  $1987,06\text{mm}$  no período chuvoso e  $678,70\text{mm}$  no seco.

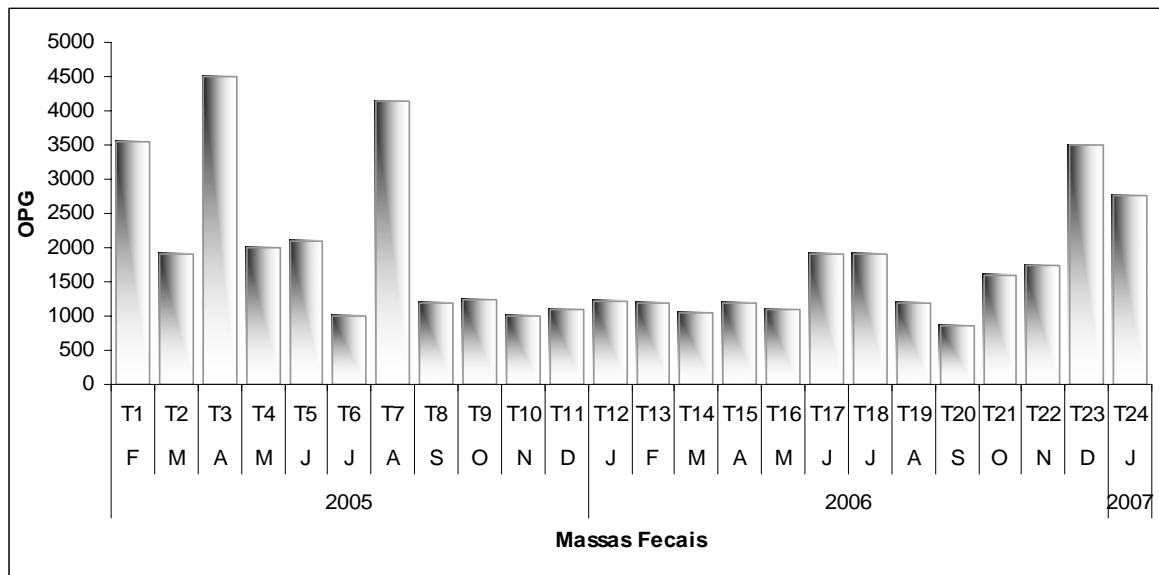


**Figura 1.** Médias mensais de temperaturas do ar, do solo e índice pluviométrico total no período de fevereiro de 2005 a março de 2007.

#### 3.5.2. OPG

Os níveis de OPG apresentaram-se superiores durante o período chuvoso, porém houve variação durante todo o período de experimento, com valores entre 850 e 4500 (Figura 2). Picos no OPG foram observados em dezembro/2006 (chuvoso) e abril e agosto/2005 (seco). A média no período chuvoso foi de  $1822,91 (\pm 269,49)$  e  $1925 (\pm 346,92)$  durante o período seco ( $p > 0,05$ ).

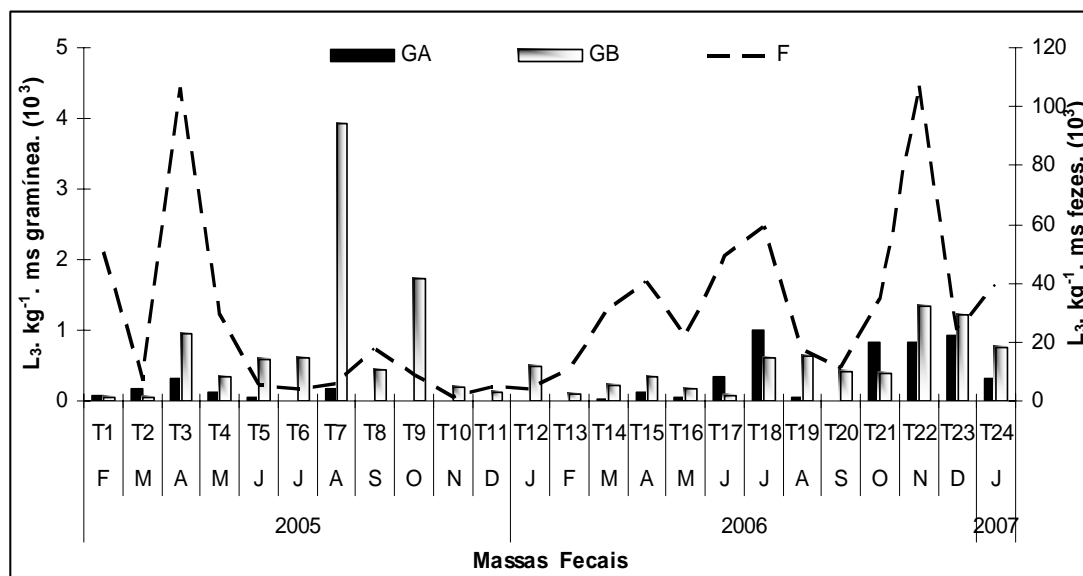




**Figura 2.** Variação do número de ovos por grama (OPG) no período de fevereiro de 2005 a janeiro de 2007.

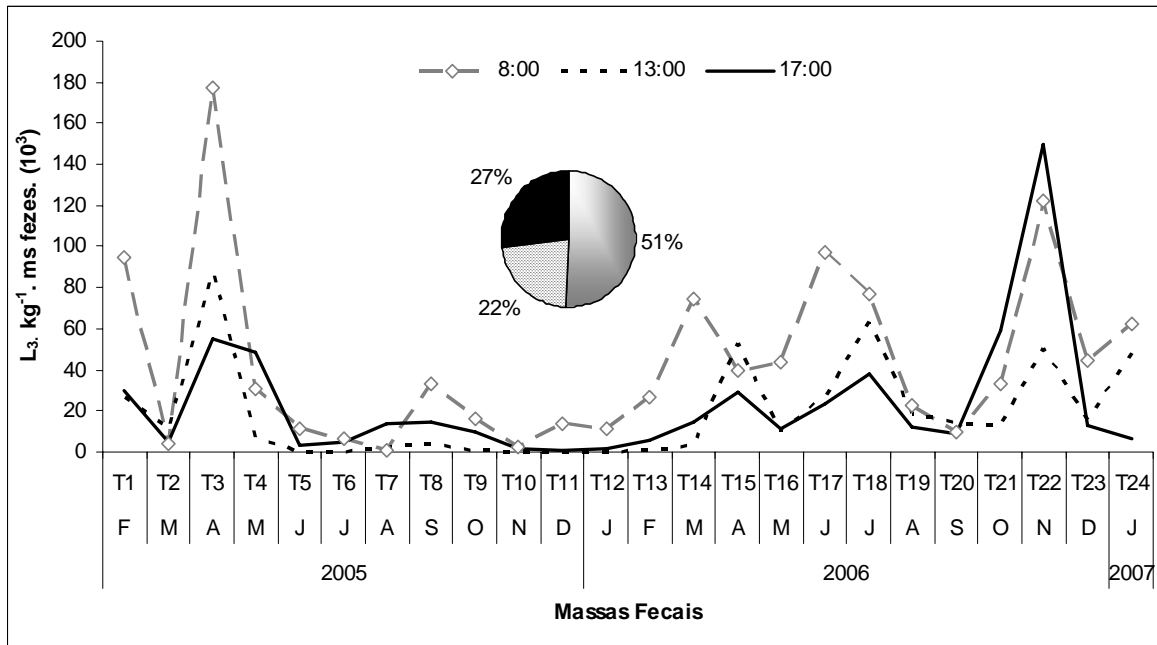
### 3.5.3. Fezes

A partir da primeira semana já se observou recuperação de  $L_3$ , com maior número em abril 2005 ( $106.695 L_3 kg^{-1} ms$ ) e novembro 2006 ( $107.482 L_3 kg^{-1} ms$ ). No período chuvoso, o número médio de larvas recuperadas foi de  $26.961 L_3 kg^{-1} ms$  e no seco de  $30.566 L_3 kg^{-1} ms$  (Figura 3) ( $p > 0,05$ ).



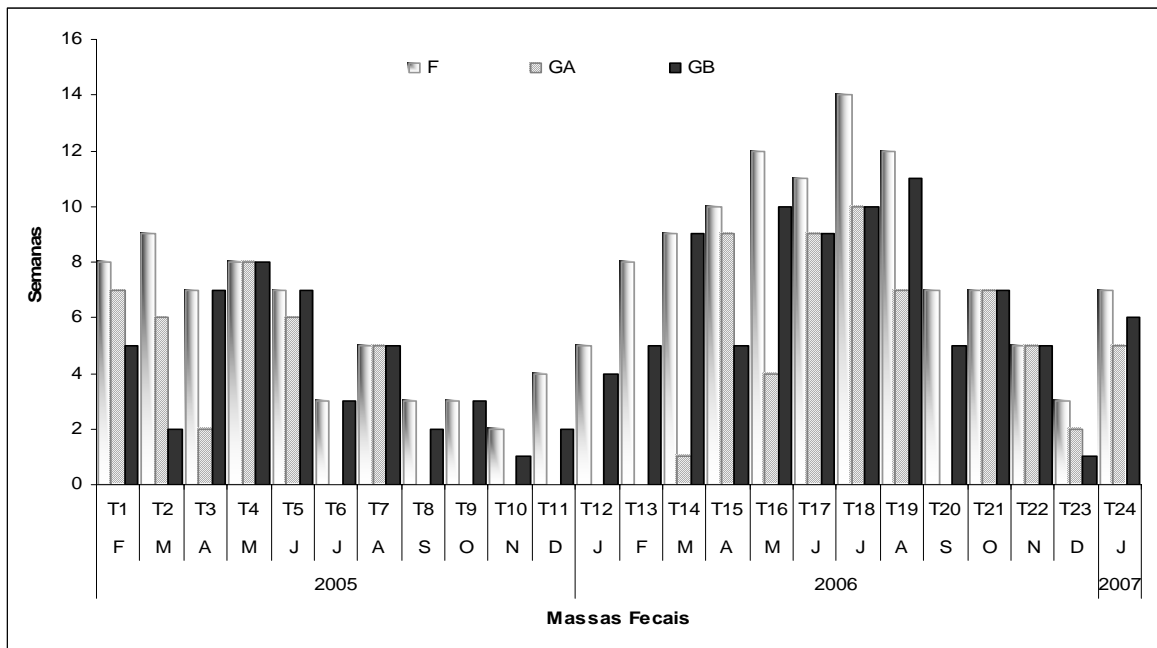
**Figura 3.** Recuperação média de larvas infectantes de ciatostomíneos da massa fecal e da gramínea (ápice e base) nas massas depositadas no período de fevereiro de 2005 a janeiro de 2007.

Foram recuperadas larvas infectantes nos três horários de coleta (8, 13 e 17 h), com maior número de  $L_3$  recuperadas às 8 h ( $p < 0,05$ ) e picos nos meses de abril 2005 (177.080  $L_3 \text{ kg}^{-1} \text{ ms}$ ) e novembro 2006 (122.290  $L_3 \text{ kg}^{-1} \text{ ms}$ ) (Figura 4).



**Figura 4.** Recuperação média de larvas infectantes de ciatostomíneos nas fezes nos diferentes horários de coleta (8, 13 e 17 h).

A sobrevivência das larvas variou de duas a nove semanas no período chuvoso e de três a 14 semanas no seco durante o período de estudo (Figura 5), com destaque para a sobrevivência das  $L_3$  durante o período seco ( $p < 0,05$ ).



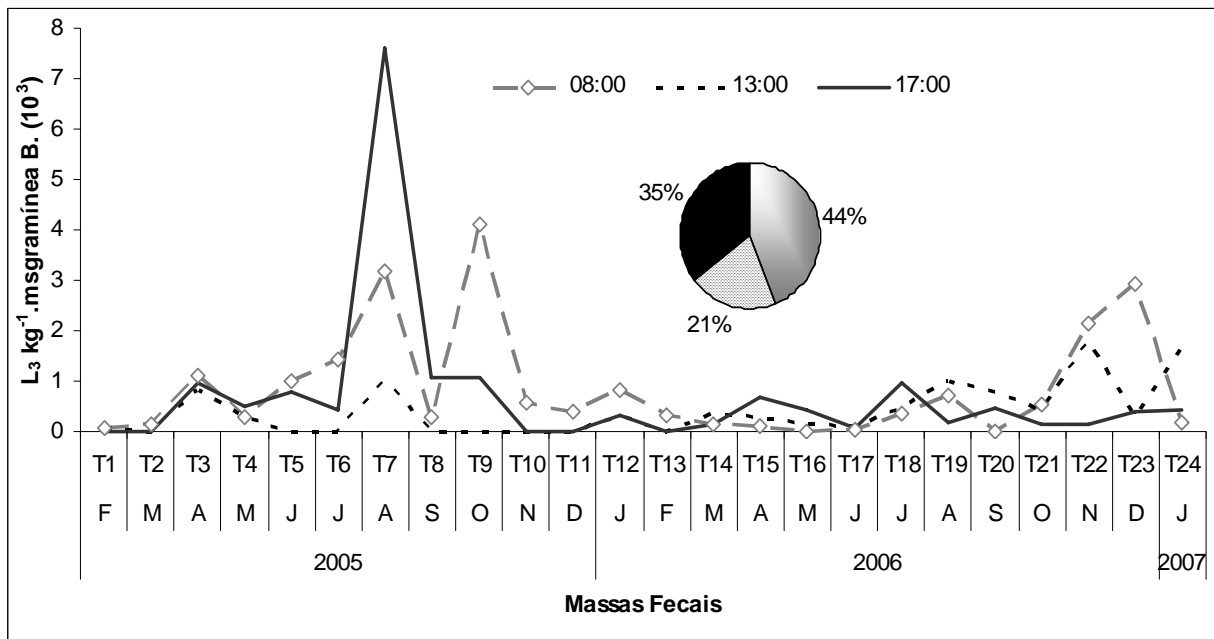
**Figura 5.** Sobrevivência (semanas) das larvas infectantes de ciatostomíneos nas fezes e gramínea nas massas fecais depositadas entre fevereiro de 2005 e janeiro de 2007.

### 3.5.4. Gramínea base

A migração das  $L_3$ , no período chuvoso e seco ocorreu a partir da segunda semana na maioria das massas. Maior recuperação de larvas ocorreu em agosto 2005 ( $3.933 L_3 kg^{-1} ms$ ) e outubro 2005 ( $1.728 L_3 kg^{-1} ms$ ). O número medio de larvas recuperadas no período chuvoso foi de  $555 L_3 kg^{-1} ms$  e  $762 L_3 kg^{-1} ms$  no seco ( $p < 0,05$ ) (Figura 3).

A sobrevivência das  $L_3$  variou de uma a nove semanas no período chuvoso e de duas a 11 semanas no seco (Figura 5). Foi observada diferença significativa na sobrevivência das  $L_3$  entre os períodos ( $p < 0,05$ ), com maior sobrevivência no período seco.

As  $L_3$  foram recuperadas nos três horários de coleta ( $p > 0,05$ ). Com maior recuperação às 8 h e picos em agosto ( $3.180 L_3 kg^{-1} ms$ ) e outubro ( $4.130 L_3 kg^{-1} ms$ ) de 2005 (Figura 6).



**Figura 6.** Recuperação média de larvas infectantes de ciatostomíneos na base da gramínea nos diferentes horários de coleta (8, 13 e 17 h).

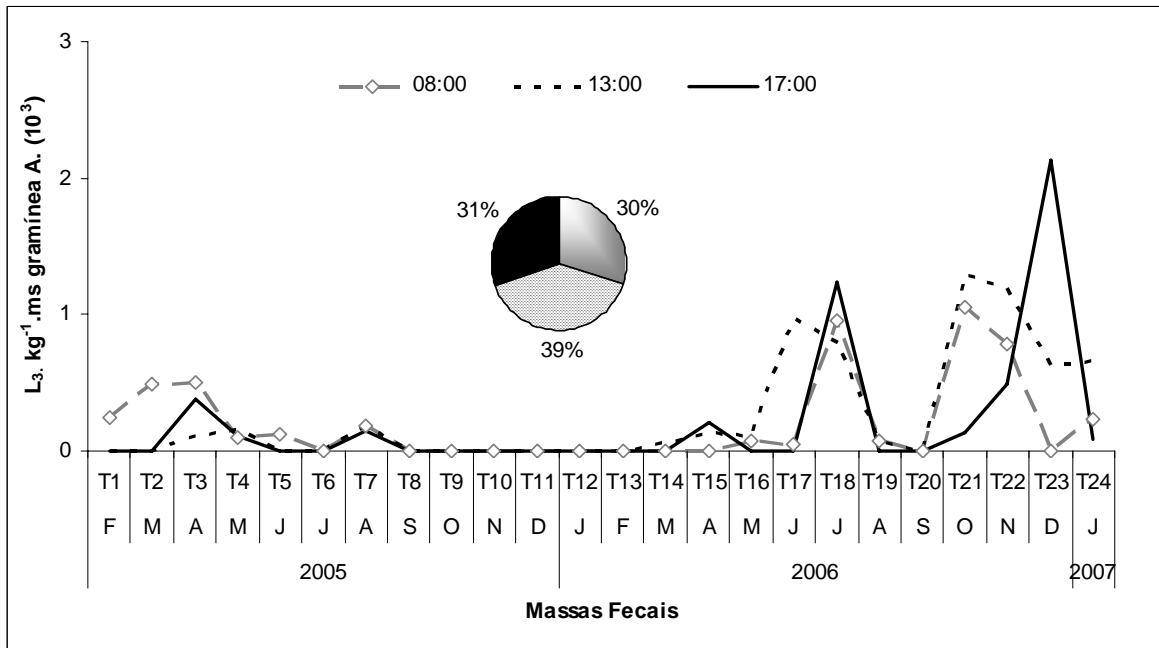
### 3.5.5. Gramínea ápicie

A migração das L<sub>3</sub> para a gramínea ocorreu a partir da primeira semana no período chuvoso e da segunda semana para o seco. A média de L<sub>3</sub> recuperadas foi superior em julho (1000 L<sub>3</sub> kg<sup>-1</sup> ms) e dezembro (919 L<sub>3</sub> kg<sup>-1</sup>ms) de 2006. O número médio de larvas recuperadas foi de 263 L<sub>3</sub> kg<sup>-1</sup> ms no período chuvoso e 185 L<sub>3</sub> kg<sup>-1</sup> ms no seco (p>0,05) (Figura 3).

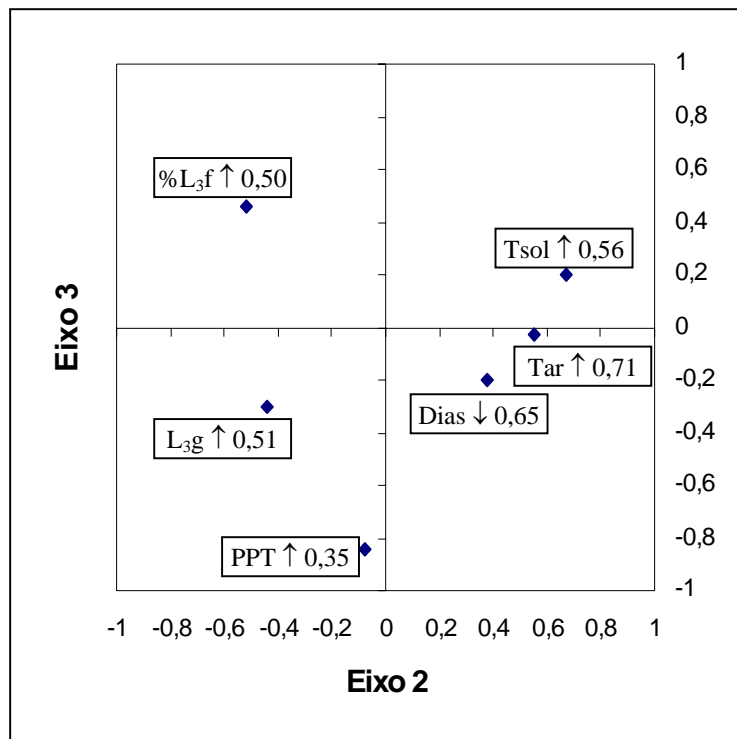
As larvas sobreviveram até sete semanas no período chuvoso e até 10 semanas no seco (p<0,05). (Figura 5).

As L<sub>3</sub> de ciatostomíneos foram recuperadas nos três horários de coleta, com maior recuperação às 13 h (p>0,05) e pico no mês de outubro 2006 (1.300 L<sub>3</sub> kg<sup>-1</sup> ms) (Figura 7).

Os fatores identificados na análise multivariada como associados ao número de L<sub>3</sub> recuperadas das amostras de gramínea foram o tempo (dias após deposição da massa fecal), a temperatura do ar e do solo e a chuva da semana prévia as coletas. Ocorreu diminuição da percentagem de L<sub>3</sub> nas fezes e na gramínea em função do tempo, sendo a maior correlação negativa observada nas fezes. Com o aumento da chuva, houve aumento da percentagem de larvas na gramínea. A temperatura do ar teve efeito negativo sobre a percentagem de L<sub>3</sub> recuperadas das fezes, enquanto a temperatura do solo influenciou negativamente a percentagem de recuperação de L<sub>3</sub> na gramínea (Figura 8).



**Figura 7.** Recuperação média de larvas infectantes de ciatostomíneos no ápice da gramínea nos diferentes horários de coleta (8, 13 e 17 h).



**Figura 8.** Representação gráfica das variáveis no sistema tridimensional (inércia=72%) para o pasto de Tifton, segundo os eixos 2 e 3. A direção e sentido das coordenadas no primeiro eixo estão representados pela seta e valor.

## 3.6. DISCUSSÃO

### 3.6.1. Fezes

A elevação do OPG na primavera e no verão (período chuvoso) contribui para a contaminação da pastagem, estando relacionado ao número de L<sub>3</sub> encistado na mucosa, que rapidamente evolui para forma adulta, devido às condições climáticas favoráveis aos estágios de vida livre, aumentando o número de larvas disponíveis na pastagem (CHIEGINA e MASON, 1977; EYSKER e JANSEN, 1984; EYSKER e MIRK, 1986; REINEMEYER e HERD, 1986; REINEMEYER et al., 1986). Com umidade e temperatura adequadas, os cavalos podem se infectar imediatamente após as chuvas. Porém, Bezerra et al. 2007 em estudos em Seropédica, região de clima tropical do Brasil, evidenciaram que os animais estão mais expostos à infecção em períodos secos do que em períodos com intensas chuvas, características do período chuvoso dessa região. Se a quantidade de forragem não for suficiente, os animais podem procurar por gramíneas mais palatáveis e em crescimento, próximo à massa fecal, com elevação do risco de infecção (CRAIG, 1999).

No presente estudo, a maior recuperação de L<sub>3</sub> no período seco, ocorreu devido às condições ambientais ideais para o desenvolvimento larval e a migração das L<sub>3</sub> para a pastagem (NIELSEN et al., 2007; BEZERRA et al., 2007), destacando a importância do bolo fecal como microclima ideal para o desenvolvimento dos ovos e larvas e seu papel como reservatório das larvas conforme observado por Mfutilodze e Hutchinson (1987); Uhlinger, (1991); Bezerra, et al. (2007). A maior recuperação de L<sub>3</sub> no horário de 8h, provavelmente está associado a temperatura ambiente amena e umidade do bolo fecal presente no horário da manhã (HASLINGER e BITTNER, 1984).

Os fatores que favorecem o desenvolvimento larval, não favorecem a sua sobrevivência. Elevadas temperatura e umidade, típicas do período chuvoso, conduzem ao rápido desenvolvimento das larvas, porém limitam sua sobrevivência. Em contrapartida, no período seco, estas variações climáticas são mais amenas, as larvas apresentam desenvolvimento mais lento, mas sobrevivem por mais tempo (COURTNEY, 1999; NIELSEN et al., 2007).

A maior sobrevivência das L<sub>3</sub> relatada neste estudo durante o período seco também pode ser explicada pelo fato das massas fecais permanecerem intactas durante este período, protegendo desta maneira os ovos e as larvas (RUPASINGHE e OGBOURNE, 1978). Ao contrário do período chuvoso, onde intensas chuvas promoveram destruição das massas fecais, com redução de seu período de sobrevivência (NIELSEN et al., 2007).

Estes resultados estão de acordo com os relatos de English (1979a) que em estudos na região subtropical da Austrália, constatou que o desenvolvimento dos ovos a L<sub>3</sub> completou-se em duas semanas durante o verão (período chuvoso), mas apenas 1-10% das larvas sobreviveram. Durante o inverno (período seco), o desenvolvimento das L<sub>3</sub> se completou em cinco semanas, com 80% de sobrevivência das larvas.

### 3.6.2. Gramínea

Maior recuperação das L<sub>3</sub> na base da gramínea, no período seco, em contraste com o número de larvas no ápice da gramínea no período chuvoso, pode ser justificada pelo índice pluviométrico do período seco (56,55mm) quando comparado com o período chuvoso

(141,93mm), pois a chuva atua como fator limitante para a migração das larvas na pastagem (ENGLISH, 1979a,b; OGBOURNE, 1972; 1973; HUTCHINSON et al., 1989; LANGROVÁ et al., 2003). Hutchinson et al. (1989) não correlacionaram o número de L<sub>3</sub> recuperadas da pastagem e a quantidade de chuva, pois consideraram que a maioria dos estudos analisou somente a migração horizontal das L<sub>3</sub>, o que dificulta a discussão com os nossos resultados.

A umidade exerce maior influência na migração das larvas e a temperatura na sobrevivência, tanto em clima temperado quanto no tropical (OGBOURNE, 1973; CRAIG et al., 1983; EYSKER et al., 1986). A maior sobrevivência das L<sub>3</sub> no período seco pode ser explicada devido à temperatura mais amena e pouca chuva, fazendo a massa fecal funcionar como reservatório de L<sub>3</sub>. Em contraste, durante o período chuvoso, as altas temperaturas elevam o metabolismo larval, resultando numa rápida depleção de suas reservas energéticas (CHEAH e RAJAMANICKAM, 1997), reduzindo a sobrevivência e a infectividade das larvas (MEDICA e SUKHDEO, 1997).

O tipo de gramínea pode influenciar a recuperação e a sobrevivência das L<sub>3</sub>. As plantas têm diferentes padrões de crescimento e amplos contrastes morfológicos, e estas características alteram o microclima da vegetação, afetando diretamente o desenvolvimento e a sobrevivência das larvas (NIEZEN et al., 2003). Neste estudo avaliou-se a utilização do Tifton 85 (*Cynodon* spp. cv. Tifton 85), muito utilizado para pastejo de eqüinos, um híbrido que apresenta como características colmos grandes, folhas largas e com pouca pilosidade, talos finos, hastes grandes e rizomas bem desenvolvidos (BURTON et al., 1993). Apresenta vegetação baixa e pouco densa, permitindo maior incidência de luz solar, o que provavelmente contribuiu para a menor recuperação de L<sub>3</sub> nos meses mais quentes (período chuvoso), além de promover o ressecamento do bolo fecal, dificultando a liberação das L<sub>3</sub>. No período seco, este tipo de pastagem encontra-se mais fibrosa, protegendo as larvas de condições ambientais desfavoráveis (BRADY e WEIL, 1999).

No presente estudo, maior número de larvas infectantes foi recuperado na base da gramínea, provavelmente devido às condições favoráveis encontradas pelas larvas para sua sobrevivência nesta parte da gramínea e também a presença de talos finos que forneceram menor área para a migração larval. Outro importante fator a ser destacado foi a presença de poucos tricomas, impedindo a formação de uma película de umidade que permite acesso das larvas as porções superiores da gramínea

As condições ambientais da área estudada são favoráveis ao desenvolvimento de larvas infectantes de ciatostomíneos. As L<sub>3</sub> estão presentes na pastagem durante todos os meses do ano, desta forma métodos de prevenção e controle são necessários para auxiliar a redução do número de larvas presentes na pastagem. Alguns métodos de prevenção são simples e baratos, como por exemplo, o monitoramento da carga parasitária dos animais (OPG) e a rotação de pastagens. Outro ponto importante é a frequência de tratamento com anti-helmínticos. Esta frequência dependerá da porcentagem de contaminação das fezes e do desenvolvimento de resistência aos anti-helmínticos. Um intervalo ótimo de tratamentos deve levar em consideração fatores como, tipo de pastagem, histórico de pastejo, época do ano, densidade de animais e condições ambientais (JACOBS et al., 1995).

#### **4. CAPÍTULO III**

### **DISTRIBUIÇÃO SAZONAL E RECUPERAÇÃO DE LARVAS INFECTANTES DE CIATOSTOMÍNEOS (NEMATODA- STRONGYLIDAE) DE EQUINOS NAS FEZES, NA PASTAGEM E NO SOLO**



#### 4.1. RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar a distribuição das larvas infectantes (L<sub>3</sub>) de ciatostomíneos nas fezes, gramínea e solo nas diferentes estações do ano, no período de setembro/2006 a setembro/2007, verificando o horário de maior recuperação de larvas em condições de clima tropical da Baixada Fluminense do Rio de Janeiro. Ao início de cada estação do ano foram depositadas, no canteiro experimental de Tifton 85 (*Cynodon* spp. cv. Tifton 85), quatro massas fecais de eqüinos naturalmente infectados, pesando 500g cada. As coletas iniciaram-se uma semana após o depósito e posteriormente a cada 15 dias durante as estações. As amostras foram processadas pela técnica de Baermann. As L<sub>3</sub> foram recuperadas em maiores quantidades no outono e inverno, estações secas, e em menores quantidades na primavera e principalmente no verão, estação chuvosa. No horário da manhã as larvas foram recuperadas em maior número, embora não tenha sido observada diferença estatística entre os horários de coleta em cada estação do ano. O solo não demonstrou ser potencial reservatório de L<sub>3</sub>, visto a baixa recuperação de larvas neste estudo. As condições ambientais da região estudada possibilitaram o desenvolvimento de L<sub>3</sub> de ciatostomíneos no interior da massa fecal, assim como a migração das mesmas para a pastagem, possibilitando a infecção de possíveis hospedeiros na pastagem.

**Palavras-Chave:** Larvas infectantes, nematóides, pastagem, eqüinos.

## 4.2. ABSTRACT

The aim of this study was evaluate the distribution of ciathostomin infective larvae (L<sub>3</sub>) in the feces, grass and soil in the different seasons, from september 2006 to september 2007, at two collection times, in tropical climate of the Baixada Fluminense of Rio de Janeiro, Brazil. At the beginning of the seasons four fecal masses of naturally infected horses with 500g each were placed on experimental Tifton 85 (*Cynodon* spp. cv. Tifton 85) plot. The collections began one week after deposit, and later every 15 days. The samples were processed by the Baermann technique. L<sub>3</sub> recovered were higher in the autumn and winter, dry period and smaller in the spring and mainly in the summer, rainy period. More L<sub>3</sub> were recovered in the morning, although no statistic difference has been observed between the collection times in each season. The soil didn't demonstrate to be potential L<sub>3</sub> reservoir, seen the low larvae recovery in this study. The environmental conditions of the studied area made possible the L<sub>3</sub> development inside the fecal mass, as well as the migration of the same ones for the pasture, making possible the infection of possible hosts in the pasture.

**Key words:** Infective larvae, nematodes, pasture, equine.

### 4.3. INTRODUÇÃO

O conhecimento da dinâmica das larvas infectantes de nematóides parasitos de eqüinos na pastagem constitui importante fator para a epidemiologia, uma vez que com estes dados pode-se determinar o período de maior disponibilidade de larvas para infectar o animal. Assim é possível estabelecer medidas efetivas de controle (RODRIGUES, 1989), que limitem o uso de anti-helmínticos (KLEI, 1997). Alguns fatores do microambiente, tais como tipo de solo e densidade da vegetação podem ter importante papel na migração das larvas (LANGROVÁ et al., 2003; BEZERRA et al., 2007; QUINELATO, et al., 2008)

Desde as últimas décadas, vêm sendo recomendadas medidas como redução na intensidade dos tratamentos, tratamentos seletivos e aumento na vigilância parasitária (GOMEZ e GEORGI, 1991; DUNCAN e LOVE, 1991; KRECEK et al., 1994; KAPLAN, 2002; MATTHEE e McGEOCH, 2004) a fim de reduzir o desenvolvimento de resistência às drogas.

A dinâmica populacional dos helmintos gastrintestinais e a interferência dos efeitos relacionados ao ambiente, tais como a estação do ano, temperatura e chuva têm sido um importante objeto de estudo. Alguns trabalhos vêm sendo realizados em regiões de clima tropical (MFITILODZE e HUTCHINSON, 1988; HUTCHINSON, et al., 1989; BEZERRA, et al., 2007, QUINELATO, et al., 2008) e subtropical (ENGLISH, 1979a,b; CRAIG et al., 1983; COURTNEY e ASQUITH, 1985; BAUDENA et al., 2000 a, b), no entanto, ainda pouco se conhece sobre a dinâmica populacional destes parasitos no ambiente (BUCKNELL et al., 1995; BAUDENA et al., 2000a; LAGROVÁ et al., 2003).

Desta forma, para o desenvolvimento de eficientes programas de controle, informações sobre a distribuição dos estágios pré-parasíticos são essenciais, visto que possibilitam a determinação do risco de infecção dos animais. O objetivo deste estudo foi avaliar a distribuição das larvas infectantes de ciatostomíneos nas fezes, gramínea e solo nas diferentes estações do ano, verificando o horário de maior recuperação de larvas em condições de clima tropical da Baixada Fluminense do Rio de Janeiro.

### 4.4. MATERIAL E MÉTODOS

#### 4.4.1. Localização

Para a realização do estudo foi montado um canteiro experimental com a gramínea Tifton 85 (*Cynodon* spp. cv. Tifton 85), de dimensões 11,5 x 1,0 m, localizado na Estação para Pesquisas Parasitológicas W. O. Neitz, do Departamento de Parasitologia Animal do Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ). A área está localizada a 22°41' de latitude Sul e 43°41' de longitude Oeste, à altitude de 33 m. O clima é do tipo Aw (tropical úmido), de acordo com a classificação de Köpen. O solo da região estudada é classificado como Planossolo Háplico (EMBRAPA, 2006).

#### **4.4.2. Procedimentos**

O estudo foi desenvolvido no período de setembro/2006 a setembro/2007. Amostras de fezes foram obtidas de dois eqüinos naturalmente infectados mantidos na área experimental de Parasitologia. No início de cada estação do ano, foram coletados 1kg de fezes de cada animal doador. Posteriormente o material coletado foi dividido em duas amostras de 500g por animal, totalizando quatro repetições, que foram depositadas no canteiro experimental. Uma semana após cada depósito, foram coletadas amostras de fezes, gramínea e solo, rotina que posteriormente ocorreu a cada 15 dias até o final das estações. As coletas de fezes ( $\pm 2g$ ), gramínea (0-20cm de altura) e solo (10cm de profundidade) foram realizadas em dois horários diferentes (8 e 17h) e em três pontos distintos ao redor da massa fecal, a fim de se homogeneizar as amostras. O processamento das amostras seguiu a metodologia de Quinelato et al. (2008).

Os dados climáticos foram fornecidos pelo posto Agrometeorológico da Estação Ecológica Agrícola de Seropédica – INMET/PESAGRO – RJ e a temperatura do solo foi mensurada a cada coleta do canteiro experimental.

As estações do ano foram definidas por Primavera (23/09-21/12), Verão (22/12-19/03), Outono (20/03-20/06) e Inverno (21/06-22/09). O período de chuvas é, normalmente, compreendido entre outubro e março e o período caracterizado como seco, entre abril e setembro.

#### **4.4.3. Análise estatística**

Para avaliar o número médio de  $L_3$  (larvas infectantes) recuperadas das fezes, da gramínea e do solo nos diferentes horários de coleta, em cada estação do ano, foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis ( $p < 0,05$ ) (ZAR, 1999; SAMPAIO, 2007), pelo programa BioEstat (AYRES et al., 2005), assim como para a análise dos valores médios de OPG (número de ovos por grama de fezes) em cada estação do ano. A correlação entre o número médio de larvas recuperadas das fezes, da gramínea e do solo e as variáveis ambientais temperatura média do ar, do solo e índice pluviométrico total foi analisada pelo teste de coeficiente de correlação de Spearman ( $p < 0,05$ ) (ZAR, 1999; SAMPAIO, 2007), BioEstat (AYRES et al., 2005).

### **4.5. RESULTADOS**

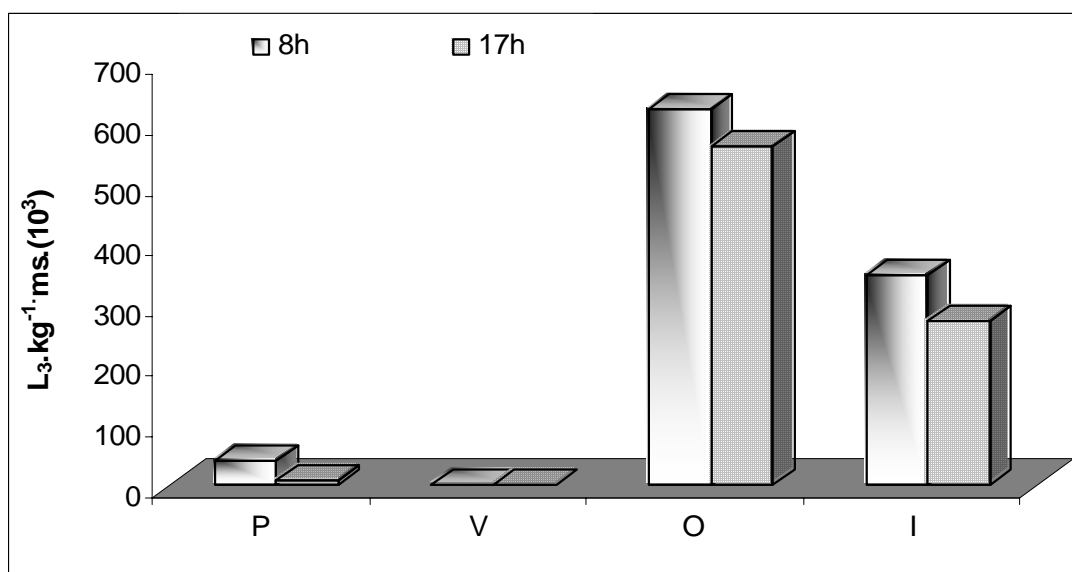
#### **4.5.1. Distribuição das $L_3$ nas fezes**

Embora o OPG dos animais doadores tenha variado durante o experimento (Tabela 1), não foi observada diferença estatística entre as estações do ano.

**Tabela 1.** OPG das massas fecais depositadas, ao início de cada estação do ano, no período de setembro/2006 a setembro/2007.

|                 | PRIMAVERA | VERÃO | OUTONO | INVERNO |
|-----------------|-----------|-------|--------|---------|
| <b>cavalo 1</b> | 1250      | 1000  | 2900   | 1300    |
| <b>cavalo 2</b> | 2250      | 1050  | 1700   | 2500    |

A dinâmica de recuperação de larvas infectantes nas diferentes estações do ano, em cada horário de coleta, pode ser observado na Figura 1. Maior número de larvas foi recuperado no outono ( $593.469 L_3 \text{ kg}^{-1} \text{ ms}$ ) e inverno ( $311.045 L_3 \text{ kg}^{-1} \text{ ms}$ ), quando comparado à primavera ( $24.049 L_3 \text{ kg}^{-1} \text{ ms}$ ) e o verão ( $1.094 L_3 \text{ kg}^{-1} \text{ ms}$ ), sendo estas diferenças significativas. Em relação aos horários de coleta, para cada estação do ano, não foi observada diferença significativa na quantidade de  $L_3$  recuperadas. Ao comparar cada horário de coleta entre as diferentes estações do ano evidenciou-se que nas coletas realizadas às 8h, foram recuperadas maior número de  $L_3$  nas estações do outono e inverno em relação ao verão. Nas coletas realizadas às 17h, também foram recuperadas mais larvas no outono e no inverno e menores quantidades na primavera e verão ( $p < 0,05$ ).

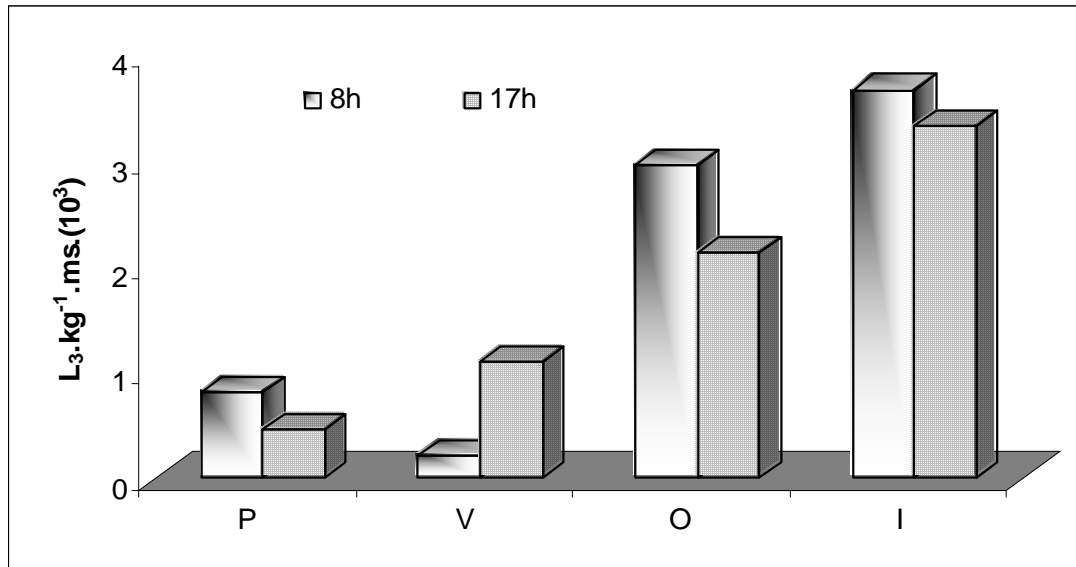


**Figura 1.** Número médio de larvas infectantes recuperadas das amostras de fezes, em cada estação do ano, nos diferentes horários de coleta.

#### 4.5.2. Distribuição das $L_3$ na gramínea

Na gramínea Tifton 85, as  $L_3$  foram recuperadas em maiores quantidades no outono ( $2.550 L_3 \text{ kg}^{-1} \text{ ms}$ ) e inverno ( $3.502 L_3 \text{ kg}^{-1} \text{ ms}$ ) em relação aos valores recuperados na primavera ( $634 L_3 \text{ kg}^{-1} \text{ ms}$ ) e no verão ( $655 L_3 \text{ kg}^{-1} \text{ ms}$ ) (Figura 2) ( $p < 0,05$ ). De forma semelhante à recuperação de larvas nas fezes, não foi observada diferença estatística em relação aos horários de coleta da gramínea em cada estação do ano. A comparação dos

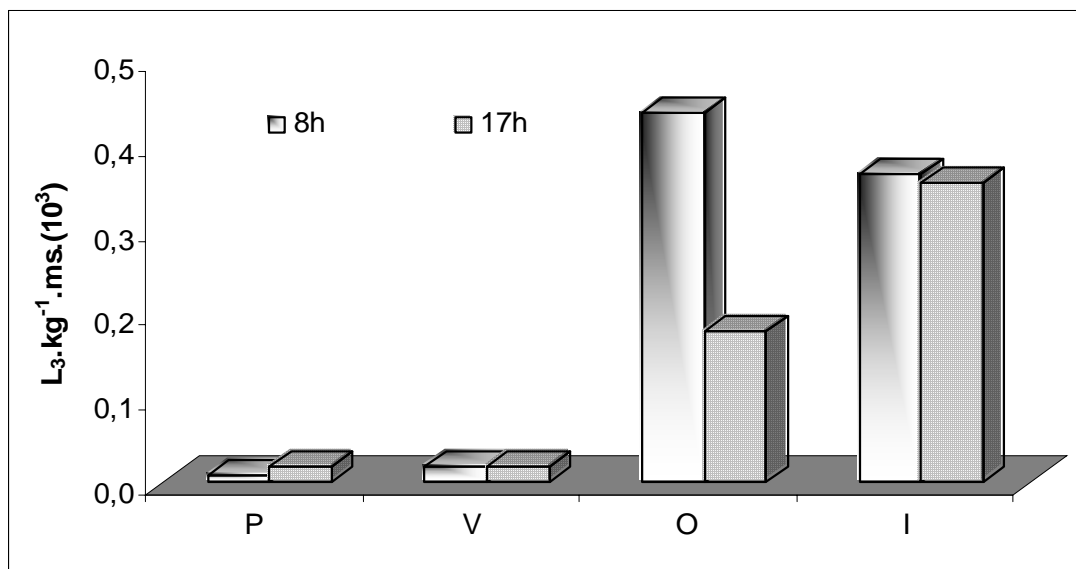
valores de  $L_3$  recuperados em cada horário de coleta entre as estações do ano, evidenciou diferença significativa nas coletas realizadas às 8h, sendo os maiores valores encontrados no outono e no inverno, em relação à primavera e o verão. Embora este fato também tenha sido observado nas coletas das 17h, não foi observada diferença estatística na recuperação de  $L_3$  nas diferentes estações do ano.



**Figura 2.** Número médio de larvas infectantes recuperadas das amostras de gramínea, em cada estação do ano, nos diferentes horários de coleta.

#### 4.5.3. Distribuição das $L_3$ no solo

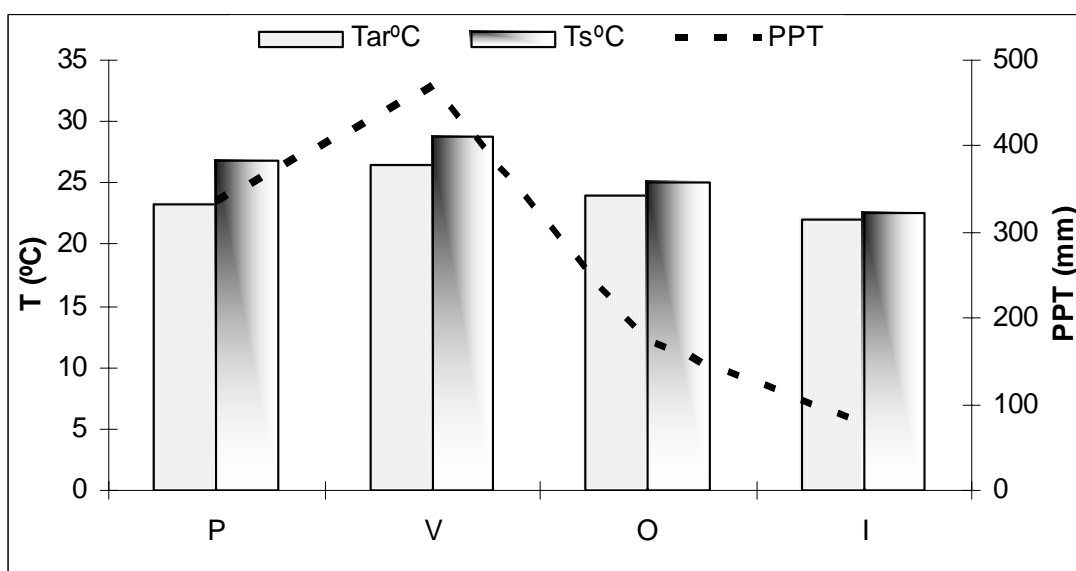
Embora tenha sido observado maior recuperação de  $L_3$  nas estações do outono (308  $L_3$  kg<sup>-1</sup> ms) e inverno (369  $L_3$  kg<sup>-1</sup> ms) em relação à primavera (13  $L_3$  kg<sup>-1</sup> ms) e verão (19  $L_3$  kg<sup>-1</sup> ms) (Figura 3), não foi evidenciada diferença significativa entre as estações, assim como para análise dos diferentes horários de coleta entre as estações.



**Figura 3.** Número médio de larvas infectantes recuperadas das amostras de solo, em cada estação do ano, nos diferentes horários de coleta.

#### 4.5.4. Dados climáticos

A temperatura, do ar e do solo, e índice pluviométrico total para cada estação do ano podem ser observados na Figura 4. O verão foi a estação que apresentou valores mais elevados de temperatura, tanto do ar quanto do solo, médias de 26,42°C e 28,75°C, respectivamente e maior índice pluviométrico total, 468,60mm. As médias mais baixas de temperatura e menor índice pluviométrico total foram observadas no inverno, médias de temperatura do ar de 21,98°C e do solo de 22,50°C e índice pluviométrico total de 77,40mm.



**Figura 4.** Médias de temperatura do ar e do solo e índice pluviométrico total observado em cada estação do ano durante o período de setembro/2006 a setembro/2007.

#### 4.5.5. Correlação entre recuperação de larvas e dados climáticos

A análise estatística evidenciou elevada correlação negativa entre a recuperação de L<sub>3</sub> nas fezes, gramínea e no solo com o índice pluviométrico, revelando a redução da recuperação de larvas em detrimento do aumento das chuvas. Fato também observado na correlação entre temperatura do solo com o número de larvas recuperadas, pois o aumento da temperatura do solo, principalmente no verão, demonstrou menor recuperação de L<sub>3</sub>. Não foi demonstrada correlação significativa entre a temperatura do ar e o número de L<sub>3</sub> recuperadas, entretanto observou-se maior influência deste parâmetro sobre a recuperação de L<sub>3</sub> na gramínea ( $|r| = -0,586$ ) (Tabela 2).

**Tabela 2.** Avaliação entre o número de larvas recuperadas nas fezes, gramínea e solo com as variáveis climáticas estudadas.

|                 | <b>PPT (mm)</b> | <b>Tar (°C)</b>          | <b>Tsolo (°C)</b> |
|-----------------|-----------------|--------------------------|-------------------|
| <b>Fezes</b>    | -0,732 *        | -0,293 ns                | -0,732 *          |
| <b>Gramínea</b> | -0,878 *        | -0,586 ns                | -0,878 *          |
| <b>Solo</b>     | -0,732 *        | -0,293 ns                | -0,732 *          |
|                 | (* = p<0,05)    | (ns = não significativo) |                   |

#### 4.6. DISCUSSÃO

As variáveis climáticas da região influenciaram de forma marcante a recuperação das L<sub>3</sub>. O inverno e o outono foram as estações onde maior número de larvas infectantes foi recuperado. Estas estações apresentaram valores de temperatura, do ar e solo, e chuva mais amenos quando comparados ao verão, estação onde as L<sub>3</sub> foram recuperadas em menor quantidade.

Estudos revelam que o desenvolvimento das larvas infectantes de ciatostomíneos é considerado ótimo em temperaturas entre 10-33°C, e que a chuva afeta de forma negativa a sobrevivência das L<sub>3</sub>, embora seja necessária para fornecer a quantidade mínima de umidade para migração das larvas (HUTCHINSON, et al., 1989) e para o desenvolvimento das formas pré-infectantes (OGBOURNE, 1972; RUPASHING e OGBOURNE, 1978; MFILODZE e HUTCHINSON, 1987).

O bolo fecal atuou como reservatório de larvas, principalmente nas estações mais secas, como o outono e inverno, demonstrando que nestas estações o ressecamento não promove redução intensa do número de larvas, ocorrendo apenas uma diminuição na transmissão das L<sub>3</sub> das fezes para a pastagem até que a umidade seja restabelecida novamente, desta forma salientando a importância não somente do comportamento das L<sub>3</sub> na pastagem, mas também de sua dinâmica nas fezes. Resultados semelhantes foram relatados anteriormente por Ogbourne, (1972); English, (1979a); Baudena, et al. (2000) Ramsey, et al. (2004); Kuzmina, et al. (2006) e Bezerra, et al. (2007), Quinelato, et al., 2008.

Outro possível reservatório de larvas infectantes é o solo das pastagens. Alguns estudos relataram a capacidade que as L<sub>3</sub> têm de migrar para o solo e também a importância



de aspectos como tipo de solo e condições climáticas, que podem afetar a viabilidade da larva no solo (HOUSTON et al., 1984). Existem poucas informações e estudos sobre a recuperação de larvas infectantes de strongilídeos de eqüinos no solo. Sendo estas informações maiores em estudos sobre larvas infectantes de nematóides de bovinos, onde ainda aparecem de forma controversa, com alguns autores afirmando que em condições desfavoráveis as L<sub>3</sub> migram a determinadas profundidades do solo, buscando neste um refúgio (LYAKU et al., 1988). Outros autores discordam, afirmando terem recuperado poucas larvas do solo (ROSE e SMALL, 1985, CASTRO, 2004), estes resultados são equivalentes aos encontrados neste estudo, onde foram recuperadas poucas L<sub>3</sub> do solo, em todas estações do ano, em relação aos valores recuperados nas fezes e na gramínea.

No horário da manhã as larvas foram recuperadas em maior número, demonstrando a importância da umidade e de temperaturas amenas, embora não tenha sido observada diferença estatística entre os horários de coleta em cada estação do ano, concordando com os relatos de Langrová et al. (2003) em estudos realizados na República Tcheca, que afirmaram a importância do orvalho da manhã para a migração das larvas. A comparação do número de larvas recuperadas, em cada horário de coleta, entre as estações do ano evidenciou menor recuperação de larvas no verão, demonstrando que as condições climáticas da estação são desfavoráveis para a sobrevivência e recuperação das L<sub>3</sub>.

O verão mostrou ser a estação crítica para a recuperação das larvas, onde as fortes chuvas promoveram destruição das massas fecais e lixiviação das larvas para longe da pastagem. Já o ressecamento, associado às elevadas temperaturas, principalmente do solo, embora não tenha tido efeito deletério, prejudicou as L<sub>3</sub> que não conseguiram escapar das fezes e migrar para a pastagem.

Larvas infectantes de ciatostomíneos foram recuperadas da pastagem durante todas as estações do ano, demonstrando a importância do estudo deste “refúgio” parasitário para o desenvolvimento de programas de controle adequados. Levando em consideração a combinação entre fatores climáticos e práticas de pastejo dos animais para a avaliação dos níveis adequados de “refúgio”, evitando tratamentos desnecessários, como por exemplo, quando o “refúgio” parasitário for pequeno (NIELSEN, et al., 2007).

## 5. CONCLUSÕES GERAIS

Os resultados obtidos neste estudo permitiram elaborar as seguintes conclusões:

- 1- Este estudo mostrou-se de grande importância para a América do Sul, tendo em vista poucos relatos sobre a dinâmica migratória de larvas infectantes de estrombilídeos, não só na pastagem como também nas fezes e no solo, em condições de clima tropical;
- 2- As condições ambientais do município de Seropédica foram favoráveis ao desenvolvimento e sobrevivência de larvas infectantes de ciatostomíneos em todos os meses de experimento, demonstrando a importância do estudo para o desenvolvimento de programas de controle adequados;
- 3- O horário da manhã (8h) demonstrou ser o de maior recuperação de larvas infectantes, provavelmente devido a temperatura amena e a presença do orvalho da manhã que fornece umidade e filme de água para a migração das larvas;
- 4- Poucas L<sub>3</sub> foram recuperadas do ápice da gramínea (20-40 cm), indicando que as larvas se concentram principalmente na base (0-20 cm), principalmente devido as características morfológicas da gramínea que propiciaram a formação de um microclima ideal para sobrevivência das larvas nesta região, limitando a migração das larvas as porções superiores da gramínea;
- 5- O bolo fecal atuou como reservatório de larvas, principalmente nas estações mais secas, como o outono e inverno, quando as massas fecais permaneceram intactas, protegendo desta maneira os ovos e as larvas;
- 6- Maior número de L<sub>3</sub> de ciatostomíneos foi recuperado da pastagem no outono e inverno (período seco), devido à temperatura e ao índice pluviométrico ideais do período que propiciaram o desenvolvimento das L<sub>3</sub> e a migração para pastagem, pois elevadas quantidades de chuva promovem a dispersão das larvas, limitando sua migração;
- 7- No período seco, com temperaturas amenas, as larvas tiveram sua sobrevivência aumentada, pois temperaturas elevadas aumentam o metabolismo larval, resultando numa rápida depleção de suas reservas energéticas, limitando assim a sobrevivência;
- 8- As larvas infectantes de ciatostomíneos apresentaram geotropismo positivo até 10 cm, embora o solo não tenha demonstrado ser potencial reservatório de L<sub>3</sub>, visto a baixa recuperação de larvas neste estudo;
- 9- A análise multivariada de componentes principais evidenciou a importância da chuva e da temperatura para migração das L<sub>3</sub>. A chuva exerce maior influência na migração das L<sub>3</sub> para a pastagem, porém em índices elevados promove a dispersão das larvas. Elevações na temperatura, principalmente do solo, determinaram redução na migração das larvas infectantes para a pastagem.

## 6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Larvas infectantes de ciatostomíneos foram recuperadas da pastagem durante todos os meses do ano, demonstrando a importância deste estudo para o desenvolvimento de programas de controle integrado. Levando em consideração a combinação entre fatores climáticos e práticas de pastejo dos animais para a avaliação dos níveis adequados de “refúgio” parasitário, evitando tratamentos desnecessários e o desenvolvimento de resistência a anti-helmínticos.

Estudos sobre comportamento migratório de larvas infectantes devem levar em consideração não somente o comportamento das L<sub>3</sub> na pastagem, mas também sua dinâmica nas fezes, tendo em vista a importância do bolo fecal como reservatório de larvas.

Embora maior número de larvas tenha sido recuperado no horário da manhã, foram recuperadas L<sub>3</sub> em todos os horários de coleta, salientando a importância do monitoramento do horário de pastejo a fim de se minimizar o risco de infecção dos animais.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANJOS, D.H.S.; RODRIGUES, M.L.A. Structure of the community of the Strongylidae nematodes in the dorsal colon of *Equus caballus* from Rio de Janeiro state – Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 112, n. 1-2, p. 109-116, 2003.

ANJOS, D.H.S.; RODRIGUES, M.L.A. Diversity of the infracommunities of strongylid nematodes in the ventral colon of *Equus caballus* from Rio de Janeiro state, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v.136, n.3-4, p.251-257, 2006.

AYRES, M.; JR AYRES, M.; AYRES, D.L.; SANTOS, A.S.DOS. **BioEstat 4.0- aplicações estatísticas nas áreas das ciências biológicas e médicas**. Belém: IOEPA, 2005. 324p.

BAKER, D.W.; SALISBURY, G.W.; BRITTON, J.W. Control of equine strongylosis. Part 1. The effect of natural factors on the development of strongylosis in foals. **The Cornell Veterinarian**, v.29, p.297-308, 1939.

BAUDENA, M.A.; CHAPMAN, M.R.; FRENCH, D.D.; KLEI, T.R. Seasonal development of equine cyathostome larvae on pasture in south Louisiana. **Veterinary Parasitology**, v.88, n.1-2, p.51-60, 2000a.

BAUDENA, M.A.; CHAPMAN, M.R.; LARSEN, M.; KLEI, T.R. Efficacy of the nematophagous fungus *Duddingtonia flagrans* in reducing equine cyathostome larvae on pasture in south Louisiana. **Veterinary Parasitology**, v.89, n.4, p.219 – 230, 2000b.

BEVILAQUA, C.M.L.; RODRIGUES, M.L.A.; CONCORDET, D. Identification of infective larvae of some common nematode strongyles of horses. **Revue de Médecine Veterinaire**, v.144, n.12, p.989-995, 1993.

BRADY, N.C.; WEIL, R.R. **The nature and properties of soils**. New Jersey: Prentice Hall, 1999. 881p.

BEZERRA, S. QUINELATO; MACHADO DO COUTO, M.; MOURA DE SOUZA, T.; BEVILAQUA, C.M.L.; ANJOS, D. H.S.; SAMPAIO, I.B.M.; RODRIGUES, M.L.A. Ciatostomíneos (Strongylidae – Cyathostominae) parasitas de cavalos: ecologia experimental dos estágios pré-parasíticos em gramínea tifton 85 (*Cynodon spp. cv. tifton 85*) na Baixada Fluminense, RJ, Brasil. **Parasitologia Latinoamericana**, v.62, n,1-2, p.27-34, 2007.

BUCKNELL, D.G.; GASSER, R.B.; BEVERIDGE, I. The prevalence and epidemiology of gastrointestinal parasites of horses in Victoria, Australia. **International Journal for Parasitology**, v.25, n.6, p.711–724, 1995.

BUCKNELL, D.; HOSTE, H.; GASSER, R. B.; BEVERIDGE, I. The structure of the community of strongyloid nematodes of domestic equids. **Journal of Helminthology**, v. 70, n.3, p.185-192, 1996.

BURTON, G.W.; GATES, R.N.; HILL, G.M. Registration of Tifton 85 bermudagrass. **Crop Science**, v.33, n.3, p.644-645, 1993 .

CASTRO, A.A. **Distribuição e longevidade de larvas infectantes de nematóides gastrintestinais de caprinos (*Capra hircus*) em solo e pastagem irrigados e não irrigados no município de Seropédica, RJ, Brasil.** 2004. 71f. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias), Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2004.

CHAPMAN M.R.; FRENCH D.D.; MONAHAN C.M.; KLEI T.R. Identification and characterization of a pyrantel pamoate resistant cyathostome population. **Veterinary Parasitology**, v.66, n.3-4, p.205-212, 1996.

CHAPMAN, M.R.; KEERNEY, M.T.; KLEI, T.R. An experimental evaluation of methods used to enumerate mucosal cyathostome larvae in ponies. **Veterinary Parasitology**, v.88, n.3, p.191-202, 1999.

CHAPMAN, M.R.; FRENCH, D.D.; KLEI, T.R. Prevalence of strongyle nematodes in naturally infected ponies of different ages and during different seasons of the year in Louisiana. **Journal of Parasitology**, v.89, n.2, p.309-314, 2003.

CHEAH, T.S.; RAJAMANICKAM, C. Epidemiology of gastro-intestinal nematodes of sheep in wet tropical conditions in Malaysia. **Tropical Animal Health and Production**, v.29, n.3, p.165-173, 1997.

CHIEJINA, S.N.; MASON, J.A. Immature stages of *Trichonema* spp. as a cause of diarrhoea in adult horses in spring. **Veterinary Record**, v.100, n.17, p.360-361, 1977.

CHURCH, S.; KELLY, D.F.; OBWOLD, M. Diagnosis and successful treatment of diarrhoea in horses caused by immature small strongyles apparently unsusceptible to anthelmintics. **Equine Veterinary Journal**, v.18, n. 5, p.401-403,1986.

COLES G.C.; ROUSH R.T. Slowing the spread of anthelmintic resistant nematodes of sheep and goats in the United Kingdom. **Veterinary Record**, v.130, n.23, p.505-510, 1992.

COURTNEY, C.H.; ASQUITH, R.L. Seasonal changes in pasture infectivity by equine cyathostomins in central north Florida, **Equine Veterinary Journal**, v. 17, n.3, p. 240-242, 1985.

COURTNEY, C.H. Seasonal transmission of equine cyathostomes in warm climates. **Veterinary Parasitology**, v.85, n.2-3, p.173-180, 1999.

CRAIG, T.M.; BOWEN, J.M.; LUDWIG, K.G. Transmission of equine cyathostomes (Strongylidae) in central Texas. **American Journal of Veterinary Research**, v.44, n.10, p.1897-1896, 1983.

CRAIG, T.M. Considerations for the control of equine cyathostomes in arid areas. **Veterinary Parasitology**, v.85, n.2-3, p.181-188, 1999.

CRAVEN J.; BJORN H.; HENRIKSEN S.A.; NANSEN P.; LARSEN M.; LENDAL S. Survey of anthelmintic resistance on Danish horse farms, using 5 different methods of calculating faecal egg count reduction. **Equine Veterinary Journal**, v.30, n. 4, p.289-293, 1998.

DITTRICH, J.R.; CARVALHO, P.C.F.; MORAES, A.; LUSTOSA, S.B.C.; SILVEIRA, E.O.; OLIVEIRA, E.B. Preferência de equínos em pastejo: efeito da altura de dosséis de gramíneas do gênero *Cynodon*. **Archives of Veterinary Science**, v. 10, n. 2, p. 61-67, 2005.

DUNCAN, J.L. Field studies on the epidemiology of mixed strongyle infection in the horse. **Veterinary Research**, v.94, n.15, p.337-345, 1974.

DUNCAN, J.L.; LOVE, S. Preliminary observations on an alternative strategy for the control of horse strongyles. **Equine Veterinary Journal**, v.23, n.15, p.226-228, 1991.

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. Brasília: EMBRAPA, 2006. 412p.

ENGLISH, A.W. The epidemiology of equine strongylosis in southern Queensland. Part 1: the bionomics of the free-living stages in faeces and on pasture. **Australian Veterinary Journal**, v.55, n. 7, p.299-305, 1979a.

ENGLISH, A.W. The epidemiology of equine strongylosis in southern Queensland. Part 2: the survival and migration of infective larvae on herbage. **Australian Veterinary Journal**; v.55, n.7, p.306-309, 1979b .

EYSKER, M.; JANSEN, J. Inhibited development of cyathostominae in the horse in the early third stage. **Research in Veterinary Science**, v.34, n.7, p.355-356, 1984.

EYSKER, M.; JANSEN, J.; KOOMAN, F.N.J.; MIRCK M.H. Comparison of two control systems for cyathostome infections in the horse and further aspects of the epidemiology of these infections. **Veterinary Parasitology**, v.22, n.1-2, p.105-112, 1986.

EYSKER, M.; MIRCK, M.H. The distribution of inhibited early third stage cyathostominae larvae in the large intestine of the horse. **Zeitschrift Parasitenkunde**, v.72, n.6, p.815-820, 1986.

Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Anuário Estatístico**. Brasília: IBGE, 2002. Disponível em :<<http://www.ibge.gov.br>>

GEARY T.G.; SANGSTER N.C.; THOMPSON D.P. Frontiers in anthelmintic pharmacology. **Veterinary Parasitology**, v.84, n.3, p.275-295, 1999.

GENCHI, C.; MALNATI, G.; CARRARA, L. Aspetti epidemiologici dinematodi gastrointestinali degli animali al pascolo. **Clinica Veterinaria**, v.101, p.175-184, 1978.

GOMEZ, H.H.; GEORGI, J.R. Equine helminth infections: control by selective chemotherapy. **Equine Veterinary Journal**, v.23, n.3, p.198-200, 1991.

GORDON, H.McI.; WHITLOCK, H.V. A new technique for counting nematode eggs in sheep faeces. **Journal of Council for Scientific and Industrial Research in Australia**, v.12, n.1, p.50-52, 1939.

GRELCK, H.von.; HÖRCHNER, F.; WÖHRL, H.E. Entwicklungsfähigkeit und Lebensdauer von Larven der Pferdestrongyliden im Freiland. **Der Praktische Tierarzt**, v.4, p.265-268, 1977.

HASSLINGER, M.A.; BITTNER, G. Zur Saisondynamik der Larven von Pferdestrongyliden und deren Beziehung zum Infektionsrisiko auf der Weide. **Zentralblatt für Veterinärmedizin**, v.31, p.25-31, 1984.

HERD, R.P.; WILLARDSON, K.L.; GABEL, A.A. Epidemiological approach to the control of horse strongyles. **Equine Veterinary Journal**, v.17, n.3, p.202-207, 1985.

HERD, R.P. Equine parasite control - Additions to anthelmintic associated problems. **Equine Veterinary Education**, v.2, n.1, p. 86-91, 1990.

HILL, G.M.; GATES, R.N.; BURTON, G.W. Forage quality and grazing steer performance from Tifton 85 and Tifton 78 bermudagrass pastures. **Journal of Animal Science**, v. 71, n.12, p.3219-25, 1993.

HILL, G.M.; GATES, R.N.; WEST, J.W. Advances in bermudagrass research involving new cultivars for beef and dairy production. **Journal of Animal Science**, v.79, E48-E58, 2001.

HOUSTON, R.S.; FINCHER, G.T.; CRAIG, T.M. Vertical migration of infective larvae of equine strongyles in sandy clay loam. **American Journal of Veterinary Research**, v. 45, n.3, p. 575-577, 1984.

HUTCHINSON, G.W.; ABBA, S.A.; MFITLODZE, M.W. Seasonal translation of equine strongyle infective larvae to herbage in tropical Australia. **Veterinary Parasitology**, v.33, n.3-4, p.251-263, 1989.

JACOBS, D.E.; HUTCHINSON, M.J.; PARKER, L.; GIBBONS, M. Equine cyathostome infection: suppression of faecal egg output with moxidectin. **Veterinary Record**, v.137, n.21, p.545, 1995.

JUDEZ, L. **Técnica de análisis de datos multidimensionales: bases teóricas y aplicaciones en agricultura.** Madrid: Secretaria General Técnica del MAPA, 1989. 310 p.

KAPLAN, R.M. Anthelmintic resistance in nematodes of horses. **Veterinary Research**, v.33, n.5, p.491-507, 2002.

KAPLAN, R.M. Drug resistance in nematodes of veterinary importance: a status report. **Trends in Parasitology**, v.20, n. 10, p.477-481, 2004.

KLEI, T.R. **Parasite control programs.** In: ROBINSON, N.E. Current therapy in equine medicine. Philadelphia: Saunders, v.4, p.709-712, 1997.

KRECEK, R.C.; GUTHRIE, A.J.; NIEUWENHUIZEN, L.V.; BOOTH, L.M.; NIEUWENHUIZEN, L.C.V. A comparison between the effects of conventional and selective antiparasitic treatments on nematode parasites of horses from two management schemes. **Journal of South African Veterinary Association**, v.65, n.3, p.97-100, 1994.

KUZMINA, T.A.; KUZMIN, Y.I.; KHARCHENKO, V.A. Field study on the survival, migration and overwintering of infective larvae of horse strongyles on pasture in central Ukraine, **Veterinary Parasitology**, v. 141, n.3-4, p. 264-272, 2006.

LANGROVÁ, I.; JANKOVSKÁ, I.; BOROVSÍ, M.; FIALA, T. Effect of climatic influences on the migrations of infective larvae of Cyathostominae. **Veterinary Medicine-Czech**, v.48, n.1-2, p.18-24, 2003.

LINDBERG, R. Överlevnad av infektiösa larver av hästens strongylida nematoder i betesgräs, **Svensk Veterinärtidning**, v.28, p.509-514, 1976.

LLOYD S.; SOULSBY L. Is anthelmintic resistance inevitable: back to basics? **Equine Veterinary Journal**, v.30, n.1, p.280-283, 1998.

LLOYD S.; SMITH J.; CONNAN R.M.; HATCHER.M.A.; HEDGES T.R.; HUMPHREY D.J.; JONES A.C. Parasite control methods used by horse owners: factors predisposing to the development of anthelmintic resistance in nematodes, **Veterinary Record**, v.146, n.17, p.487-492, 2000.

LOVE, S.; MAIR, T.S.; HILLYER, M.H. Chronic diarrhea in adult horses: a review of 51 referred cases. **Veterinary Record**, v.130, n.11, p.217-219, 1992.

LOVE, S.; MURPHY, D.; MELLOR, D. Pathogenicity of cyathostome infection. **Veterinary Parasitology**, v.85, n.2-3, p.113-122, 1999.

LYAKU, J.R.S.; MONRAD, J.; KASSUKU, A.A. Larval ecology of bovine strongilid worms in tropical soils. **Tropical Animal Health of Production**, v. 20, n. 1, p. 190-192, 1998.



MATTHEE, S.; DREYER, F.H.; HOFFMANN, W.A.; NIEKIRK, F.E.V. An introductory survey of helminth control practices in South Africa and anthelmintic resistance on Thoroughbred stud farms in the Western Cape Province. **Journal of the South African Veterinary Association**, v.73, n.4, p.195–200, 2002.

MATTHEE, S.; McGEOCH, M.A. Helminths in horses: use of selective treatment for the control of strongyles. **Journal of South African Veterinary Association**, v.75, n.3, p.129-136, 2004.

MEDICA, D.L.; SUKHDEO, M.V.K. Role of lipids in the transmission of the infective stage (L3) of *Strongylus vulgaris* (Nematoda: Strongylida). **Journal of Parasitology**, v.83, n.5, p.775–779, 1997.

MFITILODZE, M.W.; HUTCHINSON, G.W. Development and survival of free-living stages of equine strongyles under laboratory conditions. **Veterinary Parasitology**, v.23, n.1-2, p.121-133, 1987.

MFITILODZE, M.W.; HUTCHINSON, G.W. Development of free-living stages of equine strongyles in faeces on pasture in a tropical environment. **Veterinary Parasitology**, v.26, n.3-4, p.285-296, 1988.

MIRCK, M.H. An investigation into the epidemiology of strongylida infections in the horse in the Netherlands. **Veterinary Quarterly**, v.3, p.98-100, 1981 .

MURPHY, D.; KEANE, M.P.; CHANDLER, K.J.; GOULDING, R. Cyathostome-associated disease in the horse: investigation and management of four cases. **Equine Veterinary Educacion**, v.9, p. 247-252, 1997.

NIELSEN, M.K.; NIELSEN, M.K.; KAPLAN, R.M.; THAMSBORG, S.M.; MONRAD, J.; OLSEN, S.N. Climatic influences on development and survival of free-living room stages of equine strongyles: Implications for worm control strategies and managing anthelmintic resistance. **Veterinary Journal**, v.174, n.1, p.23-32, 2007.

NIEZEN, J.H.; ROBERTSON, H.A.; MILLER, C.M.; HAY, F.S. The development of *Trichostrongylus colubriformes* larvae on a range of herbage species or on plots of differing topographical aspect. **Veterinary Parasitology**, v.112, n.3, p.227-240,2003.

OGBOURNE, C.P. Observations on the free-living stages of strongylid nematodes of the horse. **Parasitology**, v.64, n.2, p.461-771, 1972.

OGBOURNE, C.P. Survival on herbage plots of infective larvae of strongylid nematodes of the horse. **Journal of Helminthology**, v.47, n.1, p.9-16,1973.

OGBOURNE, C.P. Epidemiological studies on horses infected with nematodes of the family trichonematidae (Witenberg, 1925). **International Journal for Parasitology**, v.5, n.6, p.667–672, 1975.

OGBOURNE, C.P. The prevalence, relative abundance and site distribution of nematodes of the subfamily Cyathostominae in horses killed in Britain. **Journal of Helminthology**, v.50, p.203-214, 1976.

OGBOURNE, C.P.; DUNCAN, J.L. 1985. **Strongylus vulgaris in the horse: its biology and veterinary importance**. Commonwealth Agricultural Bureaux, London, 1985. 69 p.

O'MEARA, B.; MULCAHY, G. A survey of helminth control practices in equine establishments in Ireland. **Veterinary Parasitology**, v.109, n.1-2, p.101-110, 2002.

PARNELL, I.W. Notes on the survival of the eggs and free-living larvae of sclerostomes on pasture. **Scientific Agriculture**, v.16, p.391-397, 1936.

POLLEY, L. Strongylid parasites of the horses: Experimental ecology of the free-living stages on the Canadian prairie. **American Journal of Veterinary Research**, v.47, n.8, p.1686-1693, 1986.

QUINELATO, S. COUTO, M.C.M; RIBEIRO, B.C.; SANTOS, C.N.; SOUZA, L.S.; ANJOS, D.H.S.; SAMPAIO, I.B.M.; RODRIGUES, M.L.A. The ecology of horse cyathostomin infective larvae (Nematoda-Cyathostominae) in tropical southeast Brazil. **Veterinary Parasitology**, v.153 n.1-2, p.100-107, 2008.

RAFFENSBERGER, H.B. Internal parasites of the horse. **Veterinary Medicine**, v.25, p.234-238, 1930.

RAMSEY, Y.H.; CHISTLEY, R.M.; MATTHEWS, J.B.; HODGKINSON, J.E.; MCGOLDRICK, J.; LOVE, S. Seasonal development of Cyathostominae larvae on pasture in a northern temperate region of the United Kingdom. **Veterinary Parasitology**, v.119, n.4, p.307-318, 2004.

REINEMEYER, C.R. Small Strongyles recent advances. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, v.2, p.281-312, 1986.

REINEMEYER, C.R.; HERD, R.P. Anatomic distribution of encysted cyathostome larvae in the horse. **American Journal of Veterinary Research**, v.47, n.3, p.510-513, 1986.

REINEMEYER, C.R.; SMITH, S.A.; GABEL, A.A.; HERD, R.P. Observations on the population dynamics of five cyathostome nematode species of horses in northern USA. **Equine Veterinary Journal**, v.18, n.2, p.121-124, 1986.

REINEMEYER, C.R. Current concerns about control programs in temperate climates. **Veterinary Parasitology**, v.85, n.2-3, p.163-172, 1999.

ROBERTS, H.S.; O'SULLIVAN, P.S. Methods for egg counts and larval cultures for Strongyles infesting the gastrointestinal tract of cattle. **Australian Journal of Agriculture Research**, v.1, n.1, p.99-102, 1950.

RODRIGUES, M.L.A. **Sobrevivência de ovos e de larvas infectantes de nematóides (Nematoda-Strongylidae) de eqüinos na pastagem e nas fezes.** 1989. 98p. Tese (Doutorado em Parasitologia Veterinária). Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 1989.

ROSE, J.H.; SMALL, A.J. The distribution of infective larvae of sheep gastrointestinal nematodes in soil and on herbage and the vertical migration of *Trichostrongylus vitrinus* larvae through the soil. **Journal of Helminthology**, v. 59, n. 1, p. 127-135, 1985.

ROSSANIGO, C.E.; GRUNER, L. The length of strongylid nematode infective larvae as a reflection of developmental conditions in faeces and consequences on their viability. **Parasitology Research**, v.82, n.4, p.304-311,1996.

RUPASINGHE, D.; OGBOURNE, C. P. Laboratory studies on the effect of temperature on the development of the free-living stages of some strongylid nematodes of the horse. **Parasitology Research**, v. 55, n.3, p. 249-253, 1978.

SAMPAIO, I.B.M. **Estatística aplicada à experimentação animal.** FEP MVZ Editora, Belo horizonte, MG, 2007. 264p.

SANGSTER, N.C. Pharmacology of anthelmintic resistance in cyathostomes: will it occur with the avermectin/milbemycins? **Veterinary Parasitology**, v.85, n.2-3, p.189-204, 1999.

STROMBERG, B.E. Environmental factors influencing transmission. **Veterinary Parasitology**, v. 72, n. 3-4, p. 247 – 264, 1997. 264p.

TARIGO-MARTINIE, J.L.; WYATT, A.R.; KAPLAN, R.M. Prevalence and clinical implications of anthelmintic resistance in cyathostomes of horses, **Journal of American Veterinary Medical Association**, v.218, n.12, p.1957-1960, 2001.

UHLINGER, C.A. Effects of three anthelmintic schedules on the incidence of colic in horses, **Equine Veterinary Journal**, v.22, n.4, p.251-254, 1990.

UHLINGER, C.A. Equine small strongyles: epidemiology pathology and control. **The Compendium Equine**, v.13, p.863-869,1991.

UHLINGER, C.A.; KRISTULA M. Effects of alternation of drug classes on the development of oxibendazole resistance in a herd of horses, **Journal of American Veterinary Medical Association**, v.201, n.1, p.51-55, 1992.

VAN WYK, J.A. Refugia – overlooked as perhaps the most potent factor concerning the development of anthelmintic resistance. **Journal of Veterinary Research**, v.68, n.1, p.55–67, 2001.

WOODS, T.F.; LANE, T.J.; ZENG, Q.Y.; COURTNEY, C.H. Anthelmintic resistance on horse farms in north central Florida. **Equine Practice**, v.20, p.14-17, 1998.

ZAR, J.H. **Biostatistical Analysis**. New Jersey: Prentice Hall, 1999. 663p.

## 8. ANEXOS

### 8.1. PRODUÇÃO CIENTÍFICA

#### 8.1.1 Artigos científicos

**BEZERRA, Simone Quinelato;** COUTO, Melissa Carvalho Machado; SOUZA, Tarcísio Moura; Bevilaqua, Cláudia Maria Leal; ANJOS, Débora Henrique da Silva; SAMPAIO, Ivan Machado; RODRIGUES, Maria de Lurdes de Azevedo. Ciatostomíneos (Strongylidae-Cyathostominae) parasitas de cavalos: ecologia experimental dos estágios pré-parasíticos em gramínea Tifton 85 (*Cynodon* spp cv. Tifton 85) na Baixada Fluminense, RJ, Brasil. In: Parasitología Latinoamericana, v.62, nº 1-2, p.27-34, 2007.

**QUINELATO, Simone;** COUTO, Melissa Carvalho Machado; RIBEIRO, Bruno Campos; SANTOS, Cláudia Navarro; SOUZA, Luciene Soares; ANJOS, Débora Henrique da Silva; SAMPAIO, Ivan Machado; RODRIGUES, Maria de Lurdes de Azevedo. The ecology of horse cyathostomin infective larva (Nematoda-Cyathostomins) in tropical southeast Brazil. In: Veterinary Parasitology, v.153 n.1-2, p.100-107, 2008.

**QUINELATO, Simone;** COUTO, Melissa Carvalho Machado; CORDEIRO, Flávio Couto; SAMPAIO, Ivan Machado; RODRIGUES, Maria de Lurdes de Azevedo. Distribuição sazonal de larvas infectantes de ciatostomíneos (Nematoda-Strongylidae) na Baixada Fluminense do Rio de Janeiro, Brasil. In: Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária, 2008 (enviado).

COUTO, Melissa Carvalho Machado; **QUINELATO, Simone;** SANTOS, Cláudia Navarro; SOUZA, Luciene Soares; SAMPAIO, Ivan Machado; RODRIGUES, Maria de Lurdes de Azevedo. Environmental Influence on Cyathostominae Ecology. In: Veterinarni Medicina, v.53, n.5, p.243-249, 2008.

COUTO, Melissa Carvalho Machado; **QUINELATO, Simone;** SOUZA, Tarcísio Moura; Bevilaqua, Cláudia Maria Leal; ANJOS, Débora Henrique da Silva; SAMPAIO, Ivan Machado; RODRIGUES, Maria de Lurdes de Azevedo. Desenvolvimento e migração de larvas infectantes de ciatostomíneos (Nematoda – Cyathostominae) em gramínea coast-cross (*Cynodon dactylon*) em clima tropical, na Baixada Fluminense, RJ, Brasil. In: Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária, 2008 (enviado).

COUTO, Melissa Carvalho Machado; **QUINELATO, Simone;** CORDEIRO, Flávio Couto; SAMPAIO, Ivan Machado; RODRIGUES, Maria de Lurdes de Azevedo. Efeito da irrigação na dinâmica migratória de larvas infectantes de ciatostomíneos em gramínea coast cross na baixada fluminense – RJ, Brasil, In: Parasitologia Latinoamericana, 2008 (enviado).

RODRIGUES, Maria de Lurdes de Azevedo; **QUINELATO, Simone**; COUTO, Melissa Carvalho; SANTOS, Cláudia Navarro; SOUZA, Luciene Soares; SAMPAIO, Ivan Machado. Influência das Condições Climáticas na Migração e Sobrevivência de Larvas Infectantes de Ciatostomíneos em *Brachiaria humidicola* na Região da Baixada Fluminense do Rio de Janeiro, Brasil. In: Ciência Animal, 2007 (enviado).

### 8.1.2. Resumos simples em anais de eventos

**QUINELATO, Simone**; Rodrigues, Maria de Lurdes de Azevedo. Ciatostomíneos (Strongylidae-Cyathostominae) Parasitas de Equinos: Ecologia Experimental dos Estágios Pré-Parasíticos em Gramínea Tifton 85 (*Cynodon* spp. cv. Tifton 85) na Baixada Fluminense, RJ, Brasil. In: Anais... II Fórum de Pós-Graduação da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 24-26 de outubro de 2007. Seropédica, Rio de Janeiro, Brasil, 2007. CD-Rom.

COUTO, Melissa Carvalho Machado; **BEZERRA, Simone Quinelato**; SOUZA, Tarcísio Moura; ANJOS, Débora Henrique da Silva; SAMPAIO, Ivan Machado; RODRIGUES, Maria de Lurdes de Azevedo. Development and migration of cyathostominae infective larvae in Coast-cross grass (*Cynodon dactylon*) in subtropical region of Rio de Janeiro, Brazil. In: Anais... The 21<sup>st</sup> International Conference of the World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (WAAVP), 19 a 23 de agosto de 2007. Gent, Belgium, 2007. p. 78, resumo 491.

**BEZERRA, Simone Quinelato**; COUTO, Melissa Carvalho Machado; SOUZA, Luciene Soares; SANTOS, Cláudia Navarro; RIBEIRO, Bruno Campos; RODRIGUES, Maria de Lurdes de Azevedo. Dinâmica da migração e sobrevivência de larvas de ciatostomíneos (Nematoda – Cyathostominae) de equinos em gramínea Tifton 85 (*Cynodon* spp) em Seropédica, Rio de Janeiro, Brasil. In: Anais... I Fórum de Pós-Graduação da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 06-08 de dezembro de 2006. Seropédica, Rio de Janeiro, Brasil, 2006. CD-Rom.

COUTO, Melissa Carvalho Machado; **BEZERRA, Simone Quinelato**; RIBEIRO, Bruno Campos; BORBA, H.R.; RODRIGUES, Maria de Lurdes de Azevedo. Avaliação de extratos de *Solanum lycocarpum* (Lobeira) e *Davilla rugosa* (Lixeirinha) sobre larvas infectantes de ciatostomíneos (Nematoda – Cyathostominae). In: Anais... I Fórum de Pós-Graduação da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 06-08 de dezembro de 2006. Seropédica, Rio de Janeiro, Brasil, 2006. CD-Rom.

SANTOS, Cláudia Navarro; RIBEIRO, Bruno Campos; COUTO, Melissa Carvalho Machado; **BEZERRA, Simone Quinelato**; SOUZA, Luciene Soares; JORDÃO, Alisson Rodrigues; RODRIGUES, Maria de Lurdes de Azevedo. Desenvolvimento e sobrevivência de larvas infectantes de ciatostomíneos (Nematoda – Cyathostominae) de equinos, em gramínea Coast cross (*Cynodon dactylon* vs. *C. nlefuensis*) em Seropédica, Rio de Janeiro, Brasil. In: Anais... XIV Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária e II Simpósio

Latino-Americano de Rickettsioses, 03 a 06 de setembro de 2006. Riberão Preto, São Paulo, Brasil, 2006. p. 257, resumo 02.030.

JORDÃO, Alisson Rodrigues; RIBEIRO, Bruno Campos; SOUZA, Luciene Soares; SANTOS, Cláudia Navarro; **BEZERRA, Simone Quinelato**; RODRIGUES, Maria de Lurdes de Azevedo. Sazonalidade, sobrevivência e migração de larvas de nematóides ciatostomíneos (Nematoda – Cyathostominae) de eqüinos, em gramínea *Brachiaria humidicola*, em Seropédica, Rio de Janeiro, Brasil. In: Anais... XIV Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária e II Simpósio Latino-Americano de Rickettsioses, 03 a 06 de setembro de 2006. Riberão Preto, São Paulo, Brasil, 2006. p. 258, resumo 02.031.

SOUZA, Luciene Soares; **BEZERRA, Simone Quinelato**; COUTO, Melissa Carvalho Machado; JORDÃO, Alisson Rodrigues; SANTOS, Cláudia Navarro; RIBEIRO, Bruno Campos; RODRIGUES, Maria de Lurdes de Azevedo. Avaliação das fases de desenvolvimento de ovos e larvas de nematóides ciatostomíneos (Nematoda – Cyathostominae) submetidos a diferentes temperaturas. In: Anais... XIV Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária e II Simpósio Latino-Americano de Rickettsioses, 03 a 06 de setembro de 2006. Riberão Preto, São Paulo, Brasil, 2006. p. 262, resumo 02.045.

COUTO, Melissa Carvalho Machado; **BEZERRA, Simone Quinelato**; RIBEIRO, Bruno Campos; BORBA, H.R.; RODRIGUES, Maria de Lurdes de Azevedo. Avaliação de extratos de *Solanum lycocarpum* (Lobeira) e *Davilla rugosa* (Lixeirinha) sobre larvas infectantes de ciatostomíneos (Nematoda – Cyathostominae). In: Anais... XIV Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária e II Simpósio Latino-Americano de Rickettsioses, 03 a 06 de setembro de 2006. Riberão Preto, São Paulo, Brasil, 2006. p.263, resumo 02.046.

**BEZERRA, Simone Quinelato**; COUTO, Melissa Carvalho Machado; JORDÃO, Alisson Rodrigues; SOUZA, Luciene Soares; SANTOS, Cláudia Navarro; RIBEIRO, Bruno Campos; RODRIGUES, Maria de Lurdes de Azevedo. Dinâmica da migração e sobrevivência de larvas de ciatostomíneos (Nematoda – Cyathostominae) de eqüinos em gramínea Tifton 85 (*Cynodon* spp cv. Tifton 85) em Seropédica, Rio de Janeiro, Brasil. In: Anais... XIV Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária e II Simpósio Latino-Americano de Rickettsioses, 03 a 06 de setembro de 2006. Riberão Preto, São Paulo, Brasil, 2006. p. 263, resumo 02.047.

RIBEIRO, Bruno Campos; COUTO, Melissa Carvalho Machado; **BEZERRA, Simone Quinelato**; RODRIGUES, Maria de Lurdes de Azevedo; BORBA, H.R. Efeito “in vitro” de extratos de plantas *Solanum lycocarpum* (Lobeira) e *Davilla rugosa* (Lixeirinha) sobre larvas de primeiro estágio (L1) de ciatostomíneos (Nematoda – Cyathostominae) de eqüinos. In: Anais... XIV Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária e II Simpósio Latino-Americano de Rickettsioses, 03 a 06 de setembro de 2006. Riberão Preto, São Paulo, Brasil, 2006. p. 263, resumo 02.048.

### 8.1.3. Resumos expandidos em anais de eventos

RIBEIRO, Bruno Campos; COUTO, Melissa Carvalho Machado; **BEZERRA, Simone Quinelato**; BORBA, H.R.; RODRIGUES, Maria de Lurdes de Azevedo. Efeito “in vitro” de extratos de plantas *Solanum lycocarpum* (Lobeira) e *Davilla rugosa* (Lixeirinha) sobre larvas de primeiro estágio (L1) de ciatostomíneos (Nematoda – Cyathostominae) de eqüinos. In: Anais... XVI Jornada de Iniciação Científica da UFRuralRJ, 22 a 24 de novembro de 2006, Seropédica-RJ. 2006. CD-Rom. Resumo JIC128.

SOUZA, Luciene Soares; **BEZERRA, Simone Quinelato**; COUTO, Melissa Carvalho Machado; JORDÃO, Alisson Rodrigues; SANTOS, Cláudia Navarro; RIBEIRO, Bruno Campos; RODRIGUES, Maria de Lurdes de Azevedo. Avaliação das fases de desenvolvimento de ovos e larvas de nematóides ciatostomíneos (Nematoda – Cyathostominae) submetidos a diferentes temperaturas. In: Anais... XVI Jornada de Iniciação Científica da UFRuralRJ, 22 a 24 de novembro de 2006, Seropédica-RJ. 2006. CD-Rom. Resumo JIC136.



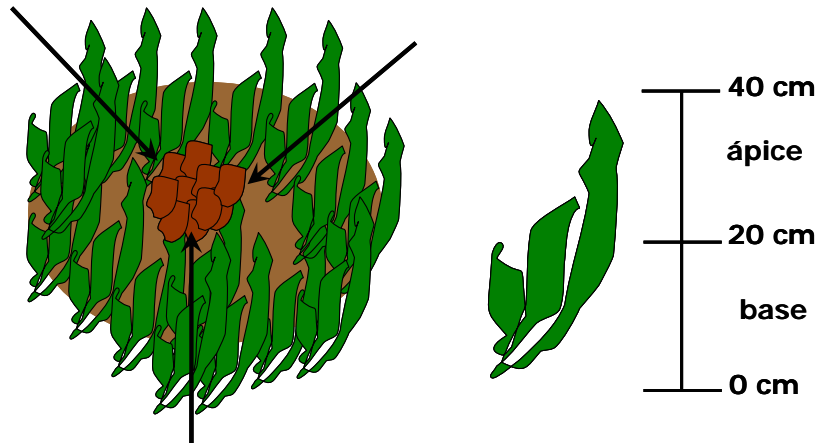
## 8.2. Representação da Metodologia

### 8.2.1. Capítulo 1



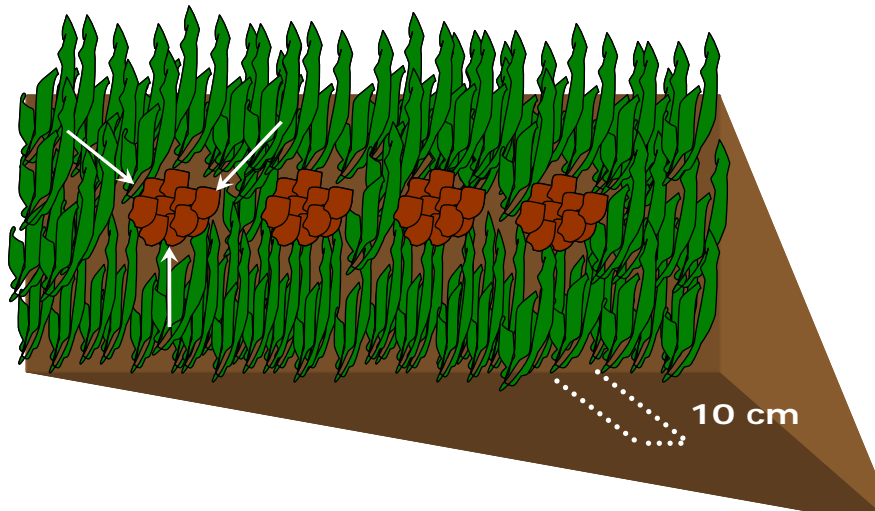
**Figura 1.** (A) Coleta de massa fecal; (B) Depósito no canteiro; (C) Mensuração da temperatura do solo; (D) Coleta de amostras de fezes; (E) Coleta de amostras de gramínea; (F) Técnica de Baermann; (G) Coleta de amostras dos funis; (H) Amostras de gramínea para secagem; (I) Amostras de fezes para secagem; (J) Secagem das amostras em estufa; (K) Contagem e identificação das L<sub>3</sub>; (L) Larva infectante de ciatostomíneos.

### 8.2.2. Capítulo 2



**Figura 2.** Modificações na metodologia.

### 8.2.3. Capítulo 3



**Figura 3.** Modificações na metodologia.