

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS
CAMPUS DE BOTUCATU

MIGRAÇÃO VERTICAL DAS LARVAS INFECTANTES DE *Haemonchus contortus*
EM CAPIM BRAQUIÁRIA (*Brachiaria decumbens*)

BRUNA FERNANDA DA SILVA

**Dissertação apresentada ao Instituto de
Biotecnologia, Campus de Botucatu,
UNESP, para obtenção do título de
Mestre no Programa de Pós Graduação
em Biologia Geral e Aplicada.**

BOTUCATU - SP
2007

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS

CAMPUS DE BOTUCATU

MIGRAÇÃO VERTICAL DAS LARVAS INFECTANTES DE *Haemonchus contortus*

EM CAPIM BRAQUIÁRIA (*Brachiaria decumbens*)

BRUNA FERNANDA DA SILVA

PROFº ADJ. ALESSANDRO FRANCISCO TALAMINI DO AMARANTE

ORIENTADOR

**Dissertação apresentada ao Instituto de
Biotecnologia, Campus de Botucatu,
UNESP, para obtenção do título de
Mestre no Programa de Pós Graduação
em Biologia Geral e Aplicada.**

BOTUCATU - SP

2007

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO
DA INFORMAÇÃO
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: Selma Maria de Jesus

Silva, Bruna Fernanda da.

Migração vertical das larvas infectantes de *Haemonchus contortus* em capim Braquiária (*Brachiaria decumbens*) / Bruna Fernanda da Silva. – Botucatu : [s.n.], 2007.

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências de Botucatu, 2007.

Orientador: Alessandro Francisco Talamini do Amarante

Assunto CAPES: 21301000

1. Parasitologia 2. Ovino - Parasito 3. Haemochus contortus - Identificação

CDD 574.524

CDD 636.4089696

Palavras-chave: *Haemonchus contortus*; Larvas infectantes; Migração vertical; Ovino; Pastagem

Dedico

A meus pais José Horácio e Benedita e a minha irmã Beatriz, pelo amor incondicional.

AGRADECIMENTOS

É maravilhoso poder agradecer a todas as pessoas que contribuíram para que esse trabalho fosse realizado. Para mim foi muito mais do que um trabalho, foi a realização de mais um sonho! Agradeço muito a Deus por tudo de bom que Ele prepara no meu caminho, pois sem Ele não somos nada, não temos nada.

Agradeço ao Profº Alessandro Amarante por todas as oportunidades que me deu, a começar pelo estágio de aperfeiçoamento, período de muito aprendizado onde pude ter a certeza do caminho que eu deveria seguir. Obrigada por ter me orientado e me confiado este trabalho, pela paciência, amizade e por todo conhecimento transmitido. E não poderia deixar de agradecer a Adalzija e ao Profº Paulo Domingues, grandes amigos que me ajudaram a encontrar “o caminho” quando terminei a faculdade.

Agradeço a toda minha família, especialmente meus pais José Horácio e Benedita e a minha irmã Beatriz (meus exemplos de vida), por todo amor, carinho e paciência dedicados a mim. Agradeço por me ensinarem que nunca devemos desanimar com as dificuldades e por estarem ao meu lado em todos os momentos da minha vida.

Agradeço a uma pessoa muito especial na minha vida, meu namorado Luiz Henrique, que perto ou longe sempre me deu total apoio para que esse trabalho fosse realizado. Obrigada por todo amor e paciência. Agradeço também a toda sua família, que sempre torceram pela realização deste sonho.

Agradeço a Juliana Carrijo, grande amiga e companheira, que me auxiliou em todas as colheitas do experimento e em muito outros momentos da minha vida. Obrigada por tudo sempre e espero que a nossa amizade cresça cada dia muito mais. Agradeço também ao grande amigo Aruaque por tudo... Companheiro é Companheiro!

Agradeço a minha querida amiga Kátia Bresciani, e também a Ângela, Raquel e Patrícia pelo conhecimento transmitido durante meu estágio de aperfeiçoamento, sem o qual esse mestrado não poderia ter sido realizado.

Agradeço a todos os meus amigos do departamento de Parasitologia, por terem me proporcionado momentos maravilhosos e inesquecíveis: Marco (Xabi), Tatiana, Karina Santos, Karina Paduan, Adriano, Bianca, Alberto, Giane, Érica Zica, Robson, Érica Boarato, Jaime, Satie, Daniel, Nelson, Samir, Betina, Roberto (Bicho), Márcia, Valdir, Nilza, Profº Lúcia Helena, Profº Reinaldo, Profº Tereza Cristina, Profº Semiramis e Profº Luciene. Eu sou uma pessoa privilegiada por ter amigos tão especiais.

Agradeço a todos, que de uma maneira ou de outra, contribuíram para a realização deste trabalho, que Deus os abençoe!

SUMÁRIO

| | Página |
|---|--------|
| CAPÍTULO 1..... | 1 |
| CONSIDERAÇÕES INICIAIS..... | 2 |
| Migração de larvas infectantes..... | 2 |
| Migração em diferentes tipos de forrageiras..... | 4 |
| Variação sazonal da população de larvas na pastagem..... | 7 |
| Solo e fezes como reservatórios de larvas infectantes..... | 11 |
| Efeito da umidade na longevidade das larvas infectantes na pastagem..... | 12 |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 15 |
| CAPITULO 2..... | 19 |
| MIGRAÇÃO VERTICAL DAS LARVAS INFECTANTES DE <i>Haemonchus contortus</i> EM CAPIM BRAQUIÁRIA (<i>Brachiaria decumbens</i>)..... | 19 |
| RESUMO..... | 20 |
| ABSTRACT..... | 21 |
| 1. INTRODUÇÃO..... | 22 |
| 2. MATERIAL E MÉTODOS..... | 23 |
| 2.1. Local do experimento..... | 23 |
| 2.2. Dados meteorológicos..... | 23 |
| 2.3. Obtenção e manutenção das larvas infectantes de <i>Haemonchus contortus</i> | 23 |
| 2.4. Identificação molecular da espécie de <i>Haemonchus</i> | 24 |
| 2.5. Módulo experimental..... | 24 |
| 2.6. Deposição das fezes..... | 25 |
| 2.7. Colheita das amostras e exames laboratoriais..... | 26 |
| 2.8. Análise estatística..... | 27 |
| 3. RESULTADOS..... | 27 |

| | |
|------------------------------------|----|
| 3.1. Setembro de 2006..... | 28 |
| 3.2. Dezembro de 2006..... | 29 |
| 3.3. Março de 2007..... | 30 |
| 3.4. Junho de 2007..... | 31 |
| 4. DISCUSSÃO..... | 32 |
| 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 38 |
| APÊNDICE DO CAPÍTULO 2..... | 45 |

SUMÁRIO DE TABELAS

| Capítulo 2 | Página |
|--|--------|
| Tabela 1. Temperaturas máximas, mínimas e médias diárias, precipitação pluviométrica diária e umidade relativa do ar média diária do dia da deposição das fezes com larvas infectantes de <i>H. contortus</i> em meio à pastagem de <i>B. decumbens</i> , até o dia em que as amostras foram colhidas (sete dias depois), nas diferentes épocas de realização do experimento (setembro, dezembro, março e junho)..... | 41 |
| Tabela 2. Porcentagem de larvas infectantes de <i>H. contortus</i> recuperadas do solo, fezes e capim, nas diferentes datas de colheitas, em relação ao número de larvas recuperadas das culturas controle, mantidas no laboratório. Colheitas realizadas sete dias após a deposição de amostras fecais de ovinos com larvas infectantes, em meio à pastagem de <i>B. decumbens</i> | 42 |
| Tabela 3. Médias aritméticas (\pm erro padrão) do número de larvas infectantes de <i>H. contortus</i> recuperadas dos diferentes estratos do capim (0-10 cm, 10-20 cm e > 20 cm), nas quatro colheitas e nos diferentes horários, sete dias após a deposição de amostras fecais de ovinos com larvas infectantes, em meio à pastagem de <i>B. decumbens</i> | 43 |
| Tabela 4. Médias aritméticas (\pm erro padrão) do número de larvas infectantes por kg de matéria seca (L3/kg MS) de <i>H. contortus</i> recuperadas dos diferentes estratos do capim (0-10 cm, 10-20 cm e > 20 cm), nas quatro colheitas e nos diferentes horários, sete dias após a deposição de amostras fecais de ovinos com larvas infectantes, em meio à pastagem de <i>B. decumbens</i> | 44 |

SUMÁRIO DE FIGURAS

| Apêndice do Capítulo 2 | Página |
|--|--------|
| Figura 1. Temperaturas médias e umidade relativa do ar aferidas sobre o solo, no dia e no local da realização do experimento, nas colheitas de (A) setembro de 2006, (B) dezembro de 2006, (C) março de 2007 e (D) junho de 2007..... | 45 |
| Figura 2. (A) Médias aritméticas do número de larvas infectantes de <i>Haemonchus contortus</i> recuperadas dos diferentes estratos do capim <i>Brachiaria decumbens</i> e (B) do número de larvas infectantes por quilo de matéria seca de forragem (L3/kg MS) na colheita de setembro de 2006. Barras: erro padrão..... | 46 |
| Figura 3. (A) Médias aritméticas do número de larvas infectantes de <i>Haemonchus contortus</i> recuperadas dos diferentes estratos do capim <i>Brachiaria decumbens</i> e (B) do número de larvas infectantes por quilo de matéria seca de forragem (L3/kg MS) na colheita de dezembro de 2006. Barras: erro padrão..... | 47 |
| Figura 4. (A) Médias aritméticas do número de larvas infectantes de <i>Haemonchus contortus</i> recuperadas dos diferentes estratos do capim <i>Brachiaria decumbens</i> e (B) do número de larvas infectantes por quilo de matéria seca de forragem (L3/kg MS) na colheita de março de 2007. Barras: erro padrão..... | 48 |
| Figura 5. (A) Médias aritméticas do número de larvas infectantes de <i>Haemonchus contortus</i> recuperadas dos diferentes estratos do capim <i>Brachiaria decumbens</i> e (B) do número de larvas infectantes por quilo de matéria seca de forragem (L3/kg MS) na colheita de junho de 2007. Barras: erro padrão..... | 49 |

CAPÍTULO 1

CONSIDERAÇÕES INICIAIS

No Estado de São Paulo, as infecções causadas por nematódeos gastrintestinais são um dos principais problemas sanitários na criação de ovinos (Amarante, 1995). A elevada prevalência, associada à grande patogenicidade, faz de *Haemonchus contortus*, a principal espécie endoparasita de ovinos no Brasil. Este parasita do abomaso é hematófago, ou seja, durante a sua vida parasitária, alimenta-se de sangue. Os animais portadores de carga parasitária elevada podem apresentar anemia severa e os casos de mortalidade de ovinos causados pela hemoncose são relativamente comuns. Porém, os prejuízos econômicos devidos à redução na produtividade, mortalidade e despesas com mão de obra e antiparasitários são as principais conseqüências das infecções (Amarante, 2001).

H. contortus apresenta ciclo evolutivo direto, típico da maioria dos nematódeos gastrintestinais. Os parasitos adultos vivem na luz do abomaso dos ruminantes, onde põem grandes quantidades de ovos que são eliminados para o ambiente com as fezes. Desses ovos eclodem larvas que, após se desenvolverem e realizarem duas mudanças de estágio, tornam-se infectantes (L3), e assim, aptas a parasitarem um novo hospedeiro. As L3 são ativas, abandonam as fezes e migram para a vegetação. Os ovinos ao pastejarem ingerem a vegetação contaminada com as larvas, que retomando o desenvolvimento no abomaso, sofrem duas mudas (L4 e L5) e tornam-se machos e fêmeas adultos, os quais darão seqüência ao ciclo evolutivo do parasita (Oliveira-Sequeira & Amarante, 2001).

A migração das larvas das fezes para o capim, bem como a sua localização nas forrageiras se constitui em ponto chave da transmissão do parasita, pois irá propiciar a ingestão das L3 pelos ovinos em pastejo.

Migração de larvas infectantes

O estudo da relação entre a migração das larvas infectantes e as condições ambientais foi tema de vários experimentos. Um dos primeiros estudos foi realizado na Austrália, onde Rogers (1940) comparou a migração de várias espécies de larvas infectantes de trichostrongilídeos em azevém (*Lolium perenne*), sob diferentes condições de temperatura (de 5 a 45 °C). O autor observou que a atividade das L3 de *H. contortus* aumentou com a elevação da temperatura: a 45 °C, 80% das larvas recuperadas foram dessa espécie, enquanto que a 15 °C apenas 15% das larvas eram de

H. contortus. O contrário ocorreu com as L3 de *Trichostrongylus* spp. e *Ostertagia* spp., que apresentaram maior atividade em temperaturas mais baixas, entre 5 °C e 15 °C. Em conclusão, no verão, o clima quente favoreceu a migração vertical das L3 de *H. contortus*.

De acordo com Rees (1950), umidades ou temperaturas extremas (muito altas ou muito baixas), que ocorrem em regiões com clima temperado, inibem a migração de larvas infectantes de *H. contortus*. As melhores combinações de umidade e temperatura para a migração das larvas para a forragem (*Lolium perenne*) foram observadas no outono e na primavera. Da mesma forma, a migração vertical das larvas foi influenciada pela combinação dos dois fatores anteriormente citados, mais a luminosidade. As maiores recuperações de larvas ocorreram no início da manhã quando a luminosidade apresentou baixa intensidade.

Na Grã-Bretanha, Rose (1963) realizou uma série de experimentos e observou que as larvas migraram das fezes para a vegetação pouco tempo após alcançarem o estágio infectante. Num dos experimentos, a infestação da pastagem aumentou rapidamente, com pico em apenas duas semanas após as fezes com ovos terem sido depositadas na pastagem. Já em outros experimentos, o ápice de contaminação foi alcançado dentro de cinco a seis semanas. A maioria das L3 foram recuperadas em uma distância de até 5 cm das fezes, porém algumas migraram mais longe, entre 5 cm e 15 cm. As larvas também migraram verticalmente na pastagem e foram recuperadas da parte superior da vegetação em todas as épocas do ano.

Na Nigéria, Okon & Enyenihi (1977) observaram que a chuva foi o fator mais importante para o desenvolvimento dos ovos e a sobrevivência das L3 de *H. contortus* na pastagem. Quando não ocorreram chuvas dentro dos primeiros sete dias de exposição das fezes no ambiente, nenhuma L3 foi recuperada da pastagem. Por outro lado, os ovos deram origem a L3 em até uma semana quando a média diária de chuvas nos primeiros sete dias foi igual ou superior a 3 mm.

Em Utah, região semi-árida dos Estados Unidos, Bullick & Andersen (1978) avaliaram os efeitos da irrigação na sobrevivência e migração das L3 de *H. contortus*. Para isso, lotes cultivados com *Poa pratensis* foram divididos em irrigados e não irrigados, e contaminados com fezes que continham L3 de *H. contortus*. Os autores observaram que depois de aproximadamente sete dias, as L3 dos lotes irrigados foram quase que exclusivamente recuperadas do capim, enquanto que as L3 dos lotes não irrigados foram recuperadas principalmente do solo e das fezes remanescentes. Portanto,

a irrigação favoreceu a migração das larvas das fezes para o capim, e por conseqüência, a infecção dos animais em pastejo.

Em Victoria, Austrália, Callinan & Westcott (1986) realizaram experimento com temperatura e umidade controladas para verificar a migração vertical das larvas infectantes de *Teladorsagia* spp. e *Trichostrongylus* spp. em diferentes estratos da pastagem e no solo. Na vegetação, a recuperação máxima de larvas (10,4% das L3 depositadas), ocorreu a 15 °C com 90% de umidade relativa. A recuperação diminuiu com a redução da umidade.

Sciacca et al. (2002) estudaram *in vitro* a migração vertical de larvas infectantes de duas espécies de nematódeos, *Ancylostoma caninum* e *Strongyloides stercoralis*, que infectam ativamente os hospedeiros ao penetrarem na pele, e também, a de *H. contortus*, que infecta passivamente ovinos, ao ser ingerida com o alimento. Verificaram que as larvas infectantes de *A. caninum* e *S. stercoralis* exibiram geotaxia negativa, ou seja, responderam com migração contra a força gravitacional. Em contraste, as larvas de *H. contortus* apresentaram migrações erráticas, indicando que a geotaxia não faz parte do comportamento desta espécie.

Migração em diferentes tipos de forrageiras

As diversas espécies de forrageiras diferenciam-se na forma de crescimento e na morfologia o que resulta em diferentes microclimas nas pastagens. A influência de tais microclimas foi avaliada por Silangwa & Todd (1964). Em ensaio laboratorial, estes autores investigaram a capacidade migratória vertical das larvas infectantes de trichostrongilídeos, submetidas a diferentes condições de umidade e luminosidade, em vários tipos de capim, com densidades diferentes. As L3 foram depositadas em segmentos diferentes da folha de capim e as observações foram feitas em diferentes períodos do dia. A migração vertical das L3 foi favorecida pela alta umidade relativa do ar (95%) e desfavorecida em condições de baixas temperaturas. O número de folhas e a altura da vegetação tiveram ligeira influência na migração vertical. A distribuição das L3 na vegetação variou em diferentes períodos do dia: mais larvas foram recuperadas da vegetação em períodos em que a luminosidade apresentou baixa intensidade do que nos outros períodos. Isto indica que a migração ao acaso é influenciada por vários fatores tais como, a morfologia externa das plantas, a umidade e a temperatura, e não é necessariamente uma resposta pré-determinada das larvas em se deslocarem na direção

em que, em teoria, ofereceria maiores chances de serem ingeridas pelo hospedeiro herbívoro.

Niezen et al. (1998) compararam o desenvolvimento, a sobrevivência, a migração e a densidade de larvas de *Ostetargia circumcincta* e *Trichostrongylus colubriformis* nas espécies de capim comumente usadas nas pastagens da Nova Zelândia. Verificaram que as diferentes espécies de gramíneas tiveram efeito significativo no desenvolvimento e na migração vertical das larvas. As larvas apresentaram maior capacidade de migração na alfafa (*Medicago sativa*) e no trevo branco (*Trifolium repens*) do que em “Yorkshire fog” (*Holcus lanatus*). O estudo ainda demonstrou que apesar da maioria das larvas terem sido recuperadas do estrato inferior da forragem, a densidade de larvas (L3/kg de matéria seca) foi maior no estrato superior, na maioria das espécies vegetais analisadas.

Knapp (1964), em Oregon-EUA, avaliou a sobrevivência de L3 de *H. contortus* em seis espécies de forragens: *Lolium perenne*, *Holcus lanatus*, *Trifolium pratense*, *Trifolium subterraneum*, *Trifolium hybridum* e *Trifolium repens*. A pastagem foi contaminada no mês de dezembro (inverno) com L3 de *H. contortus*, e após foram colocados ovinos traçadores para pastejar cada lote por 18 dias consecutivos. Os traçadores apresentaram carga parasitária elevada quando pastejaram *Trifolium repens* e *Trifolium subterraneum*. Por outro lado, foram recuperados poucos parasitas dos grupos que pastejaram as gramíneas, o que indicou influência da estrutura e da densidade das plantas na contaminação da pastagem. Os resultados sugeriram ainda que grande quantidade de L3 de *H. contortus* sobrevive durante o inverno e mantém sua infectividade nas espécies de forrageiras com crescimento denso, o que não ocorre em forrageiras mais abertas.

Por outro lado, no Reino Unido, cordeiros colocados em pastagem com leguminosas (*Trifolium repens*, *Medicago sativa*, *Trifolium pratense*) apresentaram número inferior de parasitas do que cordeiros colocados em pastagem de azevém (*Lolium perenne* - gramínea) (Marley et al., 2006). Com base nessa observação, os autores investigaram a hipótese do grau de infecção dos animais ter sido influenciado pela taxa de desenvolvimento, sobrevivência e migração dos estágios de vida livre dos nematódeos nas diferentes espécies forrageiras. Os autores analisaram dois estratos da vegetação: o inferior entre 0 – 50 mm de altura e o superior, com mais de 50 mm de altura. Em relação ao estrato superior da forragem, os menores números de larvas foram recuperados das leguminosas em comparação com o azevém, porém não houve

influência do tipo de forragem na recuperação de larvas do estrato inferior. De maneira geral, o desenvolvimento de *H. contortus* foi pior no trevo vermelho (*T. pratense*) e a migração das larvas em direção ao estrato superior foi inferior nas leguminosas. Porém, a sobrevivência das larvas foi similar em todas as espécies forrageiras. Os autores sugeriram que as diferenças entre as forrageiras foram devidas aos tricomas, que são estruturas pilosas presentes em algumas dessas espécies forrageiras.

Nieto et al. (2003), em Maringá-PR, avaliaram o grau de infecção por helmintos gastrintestinais em ovelhas, manejadas em pastagem de diferentes hábitos de crescimento, em diferentes épocas do ano. Os piquetes eram formadas exclusivamente por uma das seguintes espécies de gramíneas: Tanzânia, Coastcross ou Pensacola. Os animais que pastejaram o capim Pensacola apresentaram maior contagem de ovos por grama de fezes (OPG). Os autores atribuíram esse resultado ao fato dos ovinos serem capazes de ingerir capim rente ao solo, como é o caso da Pensacola que apresenta pequeno porte e crescimento ereto, o que facilita a migração das L3 para o terço superior da pastagem. O ápice da infecção nos animais foi detectado no mês de agosto e o parasita predominante foi *Haemonchus* spp.

Em Curitiba – PR, Dittrich et al. (2004) realizaram dois experimentos com o objetivo de avaliar o efeito da altura de espécies forrageiras perenes de verão (Tifton 85 e Paspalum) e anuais de inverno (Aveia preta e Azevém) na sobrevivência das larvas. A área utilizada foi dividida em lotes e todas as parcelas foram contaminadas artificialmente com ovos de parasitas de ovinos, veiculados por fezes frescas diluídas em água. Os autores observaram que as larvas apresentaram a mesma localização e dinâmica de migração independente da espécie de gramínea tanto no verão como no inverno. A concentração das larvas foi maior na porção inferior das plantas. Concluíram também que menores alturas de plantas forrageiras predispõem a uma maior ingestão de L3 por ovinos em pastejo, e que baixa precipitação pluviométrica associada com temperatura amena no inverno foram as condições que proporcionaram maior permanência das L3 nas plantas forrageiras.

Em Botucatu – SP, Rocha et al. (2007) avaliaram a migração vertical de larvas infectantes de *T. colubriformis* em duas espécies de gramíneas forrageiras: *Brachiaria decumbens* cv. Australiana e *Panicum maximum* cv. Aruana. No outono, as maiores recuperações de larvas da base da forragem e do ápice ocorreram, respectivamente, na Braquiária e no Aruana. Na primavera a recuperação de L3 foi similar entre os estratos, sendo que a maior recuperação ocorreu no corte de 21-28 cm de ambas as forrageiras.

Porém, os resultados deste estudo demonstraram que a migração das L3 de *T. colubriformis* foi mais influenciada pelas condições climáticas do que pelas espécies forrageiras.

Variação sazonal na população de larvas na pastagem

A concentração de L3 na pastagem é influenciada pelo clima das diferentes épocas do ano, conforme observado por Dinnik & Dinnik (1961) em região de planalto no Kênia, com estação chuvosa de março a maio, estação quente e seca de outubro a novembro, e uma estação fria de junho a setembro. Os pesquisadores contaminaram com um número conhecido de L3 de *H. contortus*, lotes localizados em dois lugares distintos: sob a sombra de árvores, e outro em local aberto, totalmente desprotegido do sol. Os autores observaram que as condições climáticas da estação chuvosa (temperatura e umidade alta) foram favoráveis para a sobrevivência das L3 na pastagem por um longo período. Nos lotes com sombra, cerca de 10% das L3 inicialmente depositadas, foram recuperadas da pastagem após 30-65 dias. Já na estação quente e seca, as L3 sobreviveram por período curto de tempo. A maioria das L3 expostas nos lotes abertos morreu durante os primeiros cinco dias. Enquanto que as expostas nos lotes sombreados sobreviveram em números consideráveis por 10 dias ou um pouco mais, quando o capim cresceu. Todos os experimentos realizados no inverno mostraram que o tempo nublado, as baixas temperaturas e as manhãs frequentemente úmidas criaram condições tão ou mais favoráveis para a sobrevivência das L3 na pastagem do que a estação chuvosa.

Andersen et al. (1970), em Illinois, EUA, também estudaram a sobrevivência e a migração das larvas na pastagem durante as diferentes estações do ano utilizando fezes de ovinos que continham L3 de *T. colubriformis*. As larvas colocadas no ambiente durante o fim do outono, inverno ou início da primavera sobreviveram, de uma forma geral, melhor do que aquelas expostas durante os meses quentes de verão. Durante a estação de pastejo, a maioria das larvas que sobreviveu, migrou para a vegetação uma semana após a deposição das fezes na pastagem, enquanto que durante os meses frios as larvas que mais sobreviveram foram as que permaneceram nos cíbalos fecais intactos. Os autores também observaram que as larvas migram das fezes para a vegetação, e que as poucas L3 encontradas no solo foram àquelas carreadas da pastagem pelas chuvas ou que estavam migrando lateralmente. As larvas infectantes de *T. colubriformis* foram

recuperadas por 70 dias durante os meses de verão e ao longo de 140 dias durante o inverno, ficando evidente sua resistência a temperaturas extremas e a dessecação.

De acordo com Skinner & Todd (1980), em Illinois-EUA, à medida que a temperatura diminui, a migração e a sobrevivência das L3 de *H. contortus* aumentam. No verão, época quente e seca, a migração foi insignificante. A altura da forragem (10 ou 20 cm) não teve influência na migração das larvas infectantes e mais de 90% das larvas foram encontradas lateralmente a menos de 10 cm das fezes.

No Iraque, Altaif & Yakoob (1987) realizaram experimento durante um ano para avaliar a sobrevivência das larvas infectantes de *H. contortus* na pastagem e no solo. Larvas infectantes foram recuperadas da vegetação e do solo em todos os períodos do ano, exceto nos meses de verão, período com altas temperaturas e baixa precipitação pluviométrica. Foi observada uma pequena migração das larvas infectantes para o solo, mas a maioria das larvas foi recuperada da vegetação.

Amount & Gruner (1989) realizaram experimento em Guadalupe (Antilhas Francesas) que apresenta clima tropical. Piquetes de capim Pangola (*Digitaria decumbens*) foram contaminados com ovos de helmintos gastrintestinais obtidos de cabras. A maioria das L3 encontrada foi dos gêneros *Haemonchus* e *Trichostrongylus*. Durante a estação chuvosa, as L3 apareceram na vegetação 7-14 dias após o início da contaminação. Durante a estação seca, nenhuma L3 foi encontrada, salvo algumas exceções. Os autores observaram também que as L3 não migraram diretamente das fezes para a vegetação. Provavelmente a migração das larvas ocorreu das fezes para o solo, e do solo para a vegetação.

Kreck et al. (1991) estudaram os efeitos da hora do dia e das estações do ano nos números de larvas no terceiro estágio de *H. contortus* e *Haemonchus placei*, em pastagem irrigada na África do Sul. Além disso, avaliaram a distribuição das larvas nos diferentes estratos do capim. Os autores recuperaram número maior de larvas de *H. contortus* do que de larvas de *H. placei*. As maiores recuperações de larvas de *H. contortus* ocorreram no verão e outono, enquanto as de *H. placei* ocorreram em maior número na primavera e verão. As larvas das duas espécies foram recuperadas em maior número da forragem localizada acima do solo do que da matéria vegetal morta localizada sobre o solo ou do próprio solo. O número de larvas recuperadas não variou ao longo do dia indicando que não há um determinado período em que bovinos ou ovinos estejam mais sujeitos à infecção.

Em Albany, região ocidental da Austrália, Besier & Dunsmore (1993) observaram um consistente exemplo de sazonalidade na concentração de L3 de *H. contortus* na pastagem. As L3 foram recuperadas da pastagem, de 10 a 20 semanas após as contaminações feitas entre o outono e começo da primavera. Durante o verão quente e seco, quando a pastagem estava completamente seca, as L3 freqüentemente eram recuperadas em apenas uma ocasião, e nesses lotes positivos elas sobreviveram por menos de cinco semanas. Já na pastagem perene (principalmente *Pennisetum clandestinum*) que permanece verde o ano todo, as L3 foram recuperadas das fezes e do capim por mais de quatro meses. Baixas temperaturas, alto índice pluviométrico e grande quantidade de matéria verde disponível na pastagem favoreceram a sobrevivência das larvas. Os autores concluíram que em áreas onde as pastagens verdes persistem durante o verão, elas podem criar um microclima úmido suficiente para permitir a sobrevivência das L3 de *H. contortus* mesmo quando as condições climáticas são desfavoráveis.

Nas condições de clima subtropical do México, a umidade relativa também é um fator limitante para o desenvolvimento das larvas de *H. contortus* até a fase infectante (Fernández-Ruvalcaba et al., 1994). As maiores recuperações de larvas infectantes de *H. contortus* foram registradas após a estação das águas, no outono. As condições menos favoráveis para o desenvolvimento das larvas de vida livre ocorreram na estação seca, durante o inverno. Durante o estudo, a temperatura não variou significativamente (média mensal de 17,6 °C), ao contrário da umidade relativa do ar que variou consideravelmente ao longo do ano (19,8% a 67%).

Em Camarões, Ndamukong & Ngone (1996) contaminaram *Brachiaria ruziziensis* com fezes que continha ovos de trichostrongilídeos, com predominância de *H. contortus*. As larvas sempre se desenvolveram e as L3 migraram para a pastagem na estação chuvosa, entre os meses de abril a outubro, enquanto que nenhum ovo se desenvolveu em L3 na estação seca, que vai de novembro a março, com exceção do mês de dezembro quando ocorreram chuvas ocasionais. As L3 de *H. contortus* foram recuperadas da pastagem por aproximadamente 11 semanas. As chuvas foram identificadas como a mais importante condição climática para o desenvolvimento e a sobrevivência das larvas na pastagem no local do estudo (Ndamukong & Ngone, 1996).

Da mesma forma, na Etiópia, houve variação sazonal distinta no número de larvas infectantes na pastagem, devido às mudanças climáticas (Tembely et al., 1997). O desenvolvimento dos ovos até o estágio infectante ocorreu apenas durante a estação com

alta precipitação pluviométrica (junho a setembro). Por outro lado, poucas larvas se desenvolveram e sobreviveram no período de baixa precipitação pluviométrica.

Os resultados foram similares em Gana, onde houve uma relação altamente significativa entre o número de L3 recuperadas da pastagem com a quantidade de chuvas (Agyei, 1997). As L3 foram recuperadas da pastagem durante todo ano, exceto em janeiro e fevereiro, meses em que não ocorreram chuvas. As L3 tendem a diminuir ou mesmo a desaparecer rapidamente da pastagem na falta de chuva. O autor concluiu que a coincidência da maior abundância de L3 na pastagem e o rápido crescimento do capim no começo das chuvas, pode resultar em animais consumindo grande quantidade de L3. Nesse caso, a persistência das L3 na pastagem durante a estação chuvosa se constitui em um período de alto risco para ovinos e bovinos em pastejo.

Vários estudos sobre a variação sazonal de larvas na pastagem também foram realizados no Brasil. Em um deles, realizado em Itaqui – RS, Santiago et al. (1976) observaram que *H. contortus* foi um dos principais parasitas causadores de prejuízos econômicos à ovinocultura daquela região. A presença de *H. contortus* nos animais foi registrada em todas as estações do ano, porém a ocorrência desse parasito em níveis patogênicos foi observada apenas no verão e outono.

Resultados similares foram obtidos por Ramos et al. (2004) no Planalto Catarinense, onde o *H. contortus* predominou do final da primavera até o início do inverno, com maiores intensidades no verão, as quais foram influenciadas principalmente pelas temperaturas médias superiores a 15 °C e por precipitações pluviométricas mensais maiores que 50 mm.

Charles (1995), no semi-árido Pernambucano e Silva et al. (2003), no semi-árido Paraibano, obtiveram resultados parecidos quanto a variação sazonal do *H. contortus*. O aumento da carga parasitária nos animais esteve diretamente relacionado com o aumento da pluviosidade, ou seja, no período chuvoso a carga parasitária aumentou consideravelmente.

Resultados diferentes foram obtidos por Amarante e Barbosa (1995) em experimento realizado em Botucatu-SP, onde a maior taxa de recuperação de L3 de *H. contortus* ocorreu em junho ou julho, e a mais baixa em abril e novembro. Os autores observaram que a quantidade de L3 recuperadas da pastagem diminuiu nos meses quentes e chuvosos. As pesadas chuvas, comuns nesse período, podem ter removido as L3 da pastagem. Neste período, havia também uma pastagem mais desenvolvida,

reduzindo a concentração das L3, uma vez que havia mais capim por área. O oposto aconteceu no inverno.

Ainda em Botucatu-SP, Amarante et al. (1996) realizaram experimento com o objetivo de identificar os fatores envolvidos na contaminação da pastagem por larvas infectantes de nematódeos gastrintestinais parasitos de ruminantes. Foram utilizados dois piquetes: em um deles, com 1 ha, foram colocados cinco bezerros e em outro, com 2 ha, foram colocados cinco bezerros e 16 ovelhas. Nos dois piquetes a contaminação da pastagem apresentou níveis similares ao longo do experimento, demonstrando que a presença ou ausência de ovinos nos piquetes não teve influência na variação sazonal do número de L3 na pastagem. Com relação à contaminação da forragem por L3 de *Haemonchus* spp., os autores verificaram contagens elevadas de L3/kg MS de maio a outubro, apesar de seca severa ocorrida em junho, julho e agosto (precipitações mensais inferiores a 23 mm). Isto indica que provavelmente a estiagem não prejudicou o desenvolvimento, a sobrevivência e a migração larval. Em setembro, quando as chuvas se tornaram mais intensas e frequentes, houve aumento acentuado na contaminação, sugerindo que as precipitações elevadas propiciaram migração maciça de L3 a partir dos bolos fecais acumulados na pastagem nos meses anteriores.

Almeida et al. (2005) investigaram o desenvolvimento, a sobrevivência e a migração de larvas infectantes de parasitos gastrintestinais de ruminantes na estação seca da Baixada Fluminense, RJ. Amostras fecais de bovinos, caprinos e ovinos que continham ovos de nematódeos gastrintestinais foram depositadas na pastagem no final do outono, início do período de seca. Os autores observaram que larvas infectantes dos gêneros *Haemonchus*, *Trichostrongylus* e *Oesophagostomum* migraram verticalmente e alcançaram a porção superior da forrageira. Das larvas de parasitos de caprinos e ovinos, 93,2% e 88,5%, respectivamente, mostraram-se capazes de migrar acima de 12,5 cm de altura.

Solo e fezes como reservatórios de larvas infectantes

Conforme já citado anteriormente, as L3 abandonam as fezes e migram para o capim. Porém, sob condições climáticas adversas, muitas dessas larvas permanecem no interior do bolo fecal intacto ou no solo. Rose (1963), em experimento realizado na Grã-Bretanha, observou que nem todas as L3 migraram para a vegetação, algumas permaneceram nas fezes até que elas se desintegrassem. Em duas ocasiões, milhares de L3 foram recuperadas do solo. Da mesma forma, em experimento realizado em Victoria

(Austrália), Callinan & Westcott (1986) recuperaram mais L3 do solo do que da vegetação.

Em estudos realizados com amostras fecais de bovinos, Catto (1982), no Pantanal Mato-grossense, observou que durante a estação seca, o bolo fecal ofereceu condições ao desenvolvimento e sobrevivência das larvas de trichostrongilídeos parasitas de bovinos. A migração das L3 para a pastagem aumentou quando houve precipitação pluviométrica e o aumento foi proporcional à intensidade e frequência das chuvas. Já na Austrália, Bryan & Kerr (1989) observaram uma baixa recuperação larval na pastagem no final do verão e começo do outono. Este período coincidiu com alto índice pluviométrico e intensa atividade de besouros coprófagos, os quais causaram destruição dos bolos fecais presentes na pastagem. Os resultados destes estudos indicaram que o bolo fecal de bovinos, quando mantido intacto, pode ser um importante reservatório de larvas infectantes.

Almeida et al. (2005) também observaram que as L3 podem sobreviver por período prolongado dentro do bolo fecal em condições de baixa precipitação pluviométrica associada a temperaturas amenas.

Portanto, esses resultados confirmaram que o solo e as fezes são importantes reservatórios de larvas infectantes.

Efeito da umidade na longevidade das larvas infectantes na pastagem

A fim de planejar a profilaxia das nematodioses é importante que seja determinado o tempo de sobrevivência das larvas na pastagem. Krecek & Waller (2006) observaram que em condições contínuas de umidade, as L3 que estão contidas no filme de água no microclima da pastagem, permanecem ativas e desta maneira, gastam rapidamente suas reservas alimentares e morrem em algumas semanas. No entanto, em situações de secas, as L3 desidratam e se tornam inativas, podendo permanecer viáveis por longos períodos de tempo na pastagem.

Em experimento realizado nos campos de Lages-SC, Souza et al. (2000) avaliaram o período de tempo necessário para a descontaminação de pastagens infestadas por larvas de nematóides gastrintestinais de ovinos. No verão foram necessários de 70 a 84 dias para que ocorresse redução significativa no número de larvas infectantes na pastagem. Já no outono e no inverno, foram necessários, em média, 112 dias para que houvesse uma redução acentuada na quantidade de L3 na pastagem. Os autores observaram que a tendência da queda nas médias das temperaturas mínimas,

abaixo de 15 °C foi o fator que mais favoreceu no prolongamento do poder infectante das larvas, pois a precipitação e a umidade relativa do ar sempre se mantiveram em níveis favoráveis à sobrevivência das larvas. Durante a primavera, as condições climáticas, com precipitação pluviométrica bem distribuída, com umidade relativa do ar sempre próxima de 80% e com as temperaturas médias e mínimas, sempre próximas ou superiores a 15 °C propiciaram às larvas as condições ideais de deslocamento na pastagem, porém provocando um maior desgaste nas suas reservas, o que limitou a infecção dos animais por até 56 dias (Souza et al., 2000). Uma das principais espécies adquiridas pelos ovinos foi *H. contortus*.

Experimentos realizados em laboratório e a campo por Lettini & Sukhdeo (2006) demonstraram que as L3 de *H. contortus* e *T. colubriformis* podem entrar em estado anidrobiótico, quando completamente desidratadas. Experimentos preliminares revelaram que as L3 mantidas em placas de Petri com 80 µl de água destilada, a 25 °C por 24 h, secaram lentamente e desencadearam uma resposta anidrobiótica. As larvas apresentaram redução de tamanho dentro da cutícula, permaneceram enroladas, imóveis e não responderam a estímulos. Quando água foi adicionada, as larvas voltaram ao tamanho normal dentro de 2 h e retomaram a motilidade. Neste experimento, as L3 foram capazes de sobreviver por sete ciclos de desidratação/hidratação. Durante a anidrobiose, a atividade metabólica diminuiu e a sobrevivência da larva foi prolongada tanto em condições de laboratório como de campo. A umidade relativa não teve efeito na sobrevivência das larvas após a anidrobiose. Já a temperatura teve efeito significativo, pois 2,3 % das larvas que estavam em anidrobiose puderam sobreviver em baixas temperaturas (0 °C) enquanto todas as larvas controle morreram. Nos experimentos a campo, as larvas em anidrobiose tiveram aumento significativo nas taxas de sobrevivência quando comparadas com as larvas controle, tanto no verão quanto no inverno. No verão, a redução da sobrevivência das larvas controles pode ser devida ao gasto das suas reservas energéticas quando comparadas com as larvas em anidrobiose. Em contraste, a alta sobrevivência das larvas em anidrobiose durante o inverno comparado com as larvas controles é provavelmente devido à inabilidade das larvas controles em sobreviver ao congelamento. Esses dados sugerem que a anidrobiose das L3 de *H. contortus* e *T. colubriformis* resulta em proteção contra a dessecação e congelamento, prolongando a sua sobrevivência sob as condições naturais de campo. Além disso, durante a anidrobiose, as larvas tornam-se metabolicamente inativas, em

consequência a sua sobrevivência aumenta já que as reservas energéticas são preservadas.

Portanto, com base no conhecimento sobre a biologia dos parasitas no ambiente, é possível a elaboração de métodos alternativos que visem limitar o contato entre as formas infectantes do parasita com seu hospedeiro.

O Capítulo 2 da Dissertação foi intitulado “Migração vertical das larvas infectantes de *Haemonchus contortus* em capim Braquiária (*Brachiaria decumbens*)”. Os objetivos deste trabalho foram: (1) avaliar a migração vertical das larvas infectantes de *Haemonchus contortus* no capim Braquiária e (2) verificar se há diferença na concentração de larvas na pastagem nos diferentes períodos do dia em função das variações na umidade e luminosidade, em quatro épocas do ano. Além disso, (3) foram avaliados o solo e as fezes como reservatórios de larvas infectantes.

O artigo que será apresentado a seguir foi redigido de acordo com as normas do periódico científico *Journal of Helminthology* (Cambridge).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGYEI, A.D. Seasonal changes in the level of infective strongylate nematodes larvae on pasture in the coastal savanna regions of Ghana. **Vet. Parasitol.**, v.70, p.175-182, 1997.
- ALMEIDA, L.R.; CASTRO, A.A.; SILVA, F.J.M.; FONSECA, A.H. Desenvolvimento, sobrevivência e distribuição de larvas infectantes de nematóides gastrintestinais de ruminantes, na estação seca da Baixada Fluminense, RJ. **Rev. Bras. Parasitol. Vet.**, v.14, n.3, p.89-94, 2005.
- ALTAIF, K.I.; YAKOUB, A.Y. Development and survival of *Haemonchus contortus* larvae on pasture in Iraq. **Trop. Anim. Hlth. Prod.**, v.19, p.88-92, 1987.
- AMARANTE, A.F.T. Atualidades no controle das endoparasitoses ovinas. In: SIMPÓSIO PAULISTA DE OVINO CULTURA, 4, 1995, Campinas. Anais... Campinas: ASPACO, CATI, UNESP, p.33-49, 1995.
- AMARANTE, A.F.T. Controle de endoparasitoses dos ovinos. In: SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA. **A produção animal na visão dos brasileiros**. Piracicaba: FEALQ, p.461-473, 2001.
- AMARANTE, A.F.T.; BARBOSA, M.A. Seasonal variations in populations of infective larvae on pasture and nematode faecal egg output in sheep. **Vet. Zoot.**, v.7, p.127-133, 1995.
- AMARANTE, A.F.T.; PADOVANI, C.R.; BARBOSA, M.A. Contaminação da pastagem por larvas infectantes de nematódeos gastrintestinais parasitas de bovinos e ovinos em Botucatu-SP. **Rev. Bras. Parasitol. Vet.**, v.5, n.2, p.65-73, 1996.
- ANDERSEN, F.L.; LEVINE, N.D.; BOATMAN, P.A. Survival of third-stage *Trichostrongylus colubriformis* larvae on pasture. **J. Parasitol.**, v.56, n.2, p.209-232, 1970.
- AUMONT, G.; GRUNER, L. Population evolution of the free-living stage of goat gastrointestinal nematodes on herbage under tropical conditions in Guadeloupe (French West Indies). **Int. J. Parasitol.**, v.19, n.5, p.539-546, 1989.
- BESIER, R.B.; DUNSMORE, J.D. The ecology of *Haemonchus contortus* in a winter rainfall region in Australia: the survival of infective larvae on pasture. **Vet. Parasitol.**, v.45, p.293-306, 1993.
- BRYAN, R.P.; KERR, J.D. Factors affecting the survival and migration of the free-living stages of gastrointestinal nematode parasites of cattle in central Queensland. **Vet. Parasitol.**, v.30, p.315-326, 1989.

- BULLICK, G.R.; ANDERSEN, F.L. Effect of irrigation on survival of third-stage *Haemonchus contortus* larvae (Nematoda: Trichostrongylidae). **Great Basin Nat.**, v.38, n.4, p.369-378, 1978.
- CALLINAN, A.P.L.; WESTCOTT, J.M. Vertical distribution of trichostrongylid larvae on herbage and in soil. **Int. J. Parasitol.**, v.16, n.3, p.241-244, 1986.
- CATTO, J.B. Desenvolvimento e sobrevivência de larvas infectantes de nematódeos gastrintestinais de bovinos, durante a estação seca, no Pantanal Mato-Grossense. **Pesq. Agropec. Bras.**, v.17, n.6, p.923-927, 1982.
- CHARLES, T.P. Disponibilidade de larvas infectantes de nematódeos gastrintestinais parasitas de ovinos deslanados no semi-árido Pernambucano. **Cienc. Rural**, v.25, n.3, p.437-442, 1995.
- DINNIK, J.A.; DINNIK, N.N. Observations on the longevity of *Haemonchus contortus* larvae on pasture herbage in the Kenya Highlands. **Bull. Epiz. Dis. Afr.**, v.9, p.193-208, 1961.
- DITTRICH, J.R.; GAZDA, T.L.; PIAZZETTA, R.G.; RODRIGUES, C.S.; OIKAWA, M.G.; SOCCOL, V.T. Localização de larvas L3 de helmintos gastrointestinais de ovinos nas plantas forrageiras: efeito da altura e da espécie vegetal. **Arch. Vet. Sci.**, v.9, n.2, p.43-48, 2004.
- FERNÁNDEZ-RUVALCABA, M.; VÁSQUEZ-PRATS, V.; LIEBANO-HERNÁNDEZ, E. Development and recovery of *Haemonchus contortus* first stages on experimental plots in Mexico. **Vet. Parasitol.**, v.51, p.263-269, 1994.
- KNAPP, S.E. Relationship of different species of forage to the survival and infectivity of *Haemonchus contortus* in lambs. **J. Parasitol.**, v.50, n.1, p.144-148, 1964.
- KRECEK, R.C.; GROENEVELD, H.T.; VAN WYK, J.A. Effects of time of day, season and stratum on *Haemonchus contortus* and *Haemonchus placei* third-stage larvae on irrigate pasture. **Vet. Parasitol.**, v.40, p.87-98, 1991.
- KRECEK, R.C.; WALLER, P.J. Towards the implementation of the “basket of options” approach to helminth parasite control of livestock: Emphasis on the tropics/subtropics. **Vet. Parasitol.**, v.139, p.270-282, 2006.
- LETTINI, S.E.; SUKHDEO, V.K. Anhydrobiosis increases survival of trichostrongyle nematodes. **J. Parasitol.**, v.92, n.5, p.1002-1009, 2006.
- MARLEY, C.L.; FRASER, M.D.; ROBERTS, J.E.; FYCHAN, R.; JONES, R. Effects of legume forages on ovine gastrointestinal parasite development, migration and survival. **Vet. Parasitol.**, v.138, n.3-4, p.280-290.

- NDAMUKONG, K.J.; NGONE, M.M. Development and survival of *Haemonchus contortus* and *Trichostrongylus* sp. on pasture in Cameroon. **Trop. Anim. Hlth. Prod.**, v.28, p.193-198, 1996.
- NIETO, L.M.; MARTINS, E.N.; MACEDO, F.A.F.; ZUNDT, M. Observações epidemiológicas de helmintos gastrintestinais em ovelhas mestiças manejadas em pastagens com diferentes hábitos de crescimento. **Cienc. Anim. Bras.**, v.4, n.1, p.45-51, 2003.
- NIEZEN, J.H.; CHARLESTON, W.A.G.; HODGSON, J.; MILLER, C.M.; WAGHORN, T.S.; ROBERTSON, H.A. Effect of plants species on the larvae of gastrointestinal nematodes which parasitise sheep. **Int. J. Parasitol.**, v.28, p.791-803, 1998.
- OKON, E.D.; ENYENIHI, U.K. Development and survival of *Haemonchus contortus* larvae on pasture in Ibadan. **Trop. Anim. Hlth. Prod.**, v.9, p.7-10, 1977.
- OLIVEIRA-SEQUEIRA, T.C.G.; AMARANTE, A.F.T. **Parasitologia Animal: Animais de Produção**. EPUB, p.158, 2001.
- RAMOS, C.I.; BELLATO, V.; SOUZA, A.P.; AVILA, V.S.; COUTINHO, G.C.; DALAGNOL, C.A. Epidemiologia das helmintoses gastrintestinais de ovinos no Planalto Catarinense. **Cienc. Rural**, v.34, n.6, p.1889-1895, 2004.
- REES, G. Observation on the vertical migrations of the third stage larvae of *Haemonchus contortus* (RUD.) on experimental plots of *Lolium perenne* S24, in relation to meteorological and micrometeorological factors. **Parasitology**, v.40, p.127-143, 1950.
- ROCHA, R.A.; BRICARELLO, P.A.; ROCHA, G.P.; AMARANTE, A.F.T. Recuperação de larvas de *Trichostrongylus colubriformis* em diferentes estratos de *Brachiaria decumbens* e *Panicum maximum*. **Rev. Bras. Parasitol. Vet.**, v.16, n.2, p.77-82, 2007.
- ROGERS, W.P. The effects of environmental conditions on the accessibility of third stage trichostrongyle larvae to grazing animals. **Parasitology**, v.32, p.208-225, 1940.
- ROSE, J.H. Observations on the free-living stages of the stomach worm *Haemonchus contortus*. **Parasitology**, v.53, p.469-481, 1963.
- SANTIAGO, M.A.M.; BENEVENGA, S.F.; COSTA, U.C. Epidemiologia e controle da helmintose ovina no município de Itaqui, Rio Grande do Sul. **Pesq. Agropec. Bras.**, v.11, p.1-7, 1976.
- SCIACCA, J.; KETSCHEK, A.; FORBES, W.M.; BOSTON, R.; GUERRERO, J.;

ASHTON, F.T.; GAMBLE, H.R.; SCHAD, G.A. Vertical migration by the infective larvae of three species of parasitic nematodes: is the behaviour really a response to gravity? **Parasitology**, v.125, p.553-560, 2002.

SILANGWA, S.M.; TODD, A.C. Vertical migration of Trichostrongylid larvae on grasses. **J. Parasitol.**, v.50, n.2, p.278-285, 1964.

SILVA, W.W.; BEVILAQUA, C.M.L.; RODRIGUES, M.L.A. Variação sazonal de nematóides gastrintestinais em caprinos traçadores no semi-árido paraibano - Brasil. **Rev. Bras. Parasitol. Vet.**, v.12, n.2, p.71-75, 2003.

SKINNER, W.D.; TODD, K.S. Lateral migration of *Haemonchus contortus* larvae on pasture. **Am. J. Vet. Res.**, v.41, n.3, p.395-398, 1980.

SOUZA, P.; BELLATO, V.; SARTOR, A.A.; RAMOS, C.I. Período para desinfestação das pastagens por larvas de nematóides gastrintestinais de ovinos, em condições naturais nos campos de Lages, SC. **Rev. Bras. Parasitol. Vet.**, v.9, n.2, p.159-164, 2000.

TEMBELY, S.; LAHLOU-KASSI, A.; REGE, J.E.O.; SOVANI, S.; DIEDHIOU, M.L.; BAKER, R.L. The epidemiology of nematode infections in sheep in a cool tropical environment. **Vet. Parasitol.**, v.70, p.129-141, 1997.

CAPÍTULO 2

MIGRAÇÃO VERTICAL DAS LARVAS INFECTANTES DE *Haemonchus contortus* EM CAPIM BRAQUIÁRIA (*Brachiaria decumbens*)

MIGRAÇÃO VERTICAL DAS LARVAS INFECTANTES DE *Haemonchus contortus* EM CAPIM BRAQUIÁRIA (*Brachiaria decumbens*)

Resumo

O experimento teve como objetivo avaliar a migração vertical das larvas infectantes (L3) de *Haemonchus contortus* em capim Braquiária (*Brachiaria decumbens*) e verificar se há diferença na concentração de larvas na pastagem nos diferentes períodos do dia em função das variações de umidade e luminosidade. Avaliou-se também a presença de L3 no solo e nas fezes. Fezes com L3 de *H. contortus* foram depositadas sobre o solo, em meio à pastagem, e sete dias após a deposição, as amostras dos diferentes estratos do capim (0-10 cm, 10-20 cm e >20 cm), as fezes remanescentes e uma camada de aproximadamente 1 cm do solo foram colhidos. As avaliações foram realizadas em quatro épocas do ano: setembro de 2006, dezembro de 2006, março de 2007 e junho de 2007. As amostras foram colhidas ao nascer do Sol, ao meio dia, ao pôr do Sol e a meia noite. No geral, não houve diferença na concentração das L3 de *H. contortus* nos diferentes estratos da forrageira *B. decumbens* nos diferentes períodos do dia. Portanto, as diferentes condições de umidade e luminosidade observadas no presente experimento, não tiveram influência na migração vertical das larvas infectantes. Em todas as colheitas realizadas, grande concentração de larvas foi observada no ápice da pastagem, justamente a parte da planta que é consumida em primeiro lugar pelos ovinos. As fezes foram um importante reservatório de L3 principalmente na colheita realizada em junho de 2007, período sem precipitação pluviométrica e temperaturas amenas.

Palavras-chaves: Migração vertical, Larvas infectantes, *Haemonchus contortus*, Pastagem, Ovino

**VERTICAL MIGRATION OF *Haemonchus contortus* INFECTIVE LARVAE ON
BRAQUIARIA GRASS (*Brachiaria decumbens*)**

Abstract

The aim of this experiment was to evaluate the vertical migration of infective larvae (L3) of *Haemonchus contortus* at Braquiaria grass (*Brachiaria decumbens*) and verify if there is difference at grass larvae concentration in different periods of the day in function of humidity and luminosity variation. The presence of L3 at the soil and feces were also evaluated. Fecal samples with L3 of *H. contortus* were placed on the soil among the grass, and seven days later, the samples of the different forage stratum (0-10 cm, 10-20 cm and >20 cm), the remaining feces and a layer about 1 cm of the soil surface were collected. The evaluations were carried out at four periods of the year: September, 2006, December, 2006, March, 2007 and June, 2007. The samples were collected at the sun rise, midday, sunset and midnight. In general, no difference was observed at the *H. contortus* L3 concentration at different stratum of the *B. decumbens* grass at different periods of the day, indicating that the different humidity and luminosity conditions that occur through out one day period did not influence vertical migration. In all data of sampling, high larvae concentrations were observed at the apex of the grass, exactly the part of the plant that is ingest at first place by grazing sheep. The feces were an important L3 reservoir especially at June, 2007, when the temperatures were relatively low and no rain was recorded.

Key-words: Vertical migration, Infective larvae, *Haemonchus contortus*, Pasture, Sheep

1. Introdução

A verminose se constitui no principal problema sanitário dos rebanhos ovinos. O controle adequado desta enfermidade é imperativo, pois caso contrário a atividade pode se tornar inviável economicamente devido à redução na produtividade e à mortalidade de animais (Amarante, 2007). A elevada prevalência, associada à grande patogenicidade, faz do *Haemonchus contortus* a principal espécie endoparasita de ovinos no Brasil (Charles, 1995; Amarante, 2001; Silva et al., 2003; Ramos et al., 2004).

H. contortus, como a maioria dos tricostrongilídeos, tem uma fase pré-parasitária de vida livre. Os dois primeiros estágios larvais (L1 e L2) usualmente se nutrem de bactérias presentes nas fezes, mas a larva infectante (L3), que apresenta dupla cutícula, não se alimenta no ambiente e precisa sobreviver dos nutrientes adquiridos e acumulados nos estágios iniciais. A L3 é ativa, abandona o bolo fecal e migra para o solo ou para a pastagem, e essa cutícula que fica retida como uma cápsula ao redor da L3, confere a ela proteção contra as condições adversas do ambiente (Urquhart et al., 1996).

A migração das L3 das fezes para o capim, bem como a sua localização nas plantas forrageiras se constitui em ponto chave da transmissão do parasita, pois irá propiciar a ingestão das L3 pelos ovinos em pastejo. Esse comportamento migratório é muito influenciado pelas condições climáticas do ambiente, tais como a temperatura, umidade relativa e luminosidade (Rogers, 1940; Rees, 1950) e precipitação pluviométrica (Okon & Enyenihi, 1977; Ndamukong & Ngone, 1996; Agyei, 1997; Silva et al., 2003).

O conhecimento sobre a biologia dos parasitas no ambiente é imprescindível, a fim de que sejam elaborados métodos alternativos que visem limitar o contato entre as forma infectantes do parasita com o seu hospedeiro. Portanto, este trabalho teve por objetivo avaliar a migração vertical das larvas infectantes de *H. contortus* em capim Braquiária (*Brachiaria decumbens*) e verificar se há diferença na concentração de larvas na pastagem nos diferentes períodos do dia em função das variações na umidade e luminosidade, em quatro épocas do ano. Desta forma, caso seja demonstrado que existem diferenças na concentração de larvas infectantes na pastagem ao longo do dia, poderá ser preconizado o pastejo dos animais apenas no período de menor infestação da forrageira. Além disso, foram avaliados também as fezes e o solo como reservatório de larvas infectantes.

2. Material e Métodos

2.1. Local do experimento

O experimento foi realizado nas dependências do Departamento de Parasitologia do Instituto de Biociências, pertencente à Universidade Estadual Paulista, UNESP, Campus de Botucatu-SP.

2.2. Dados meteorológicos

As informações climáticas do dia em que as fezes foram depositadas na pastagem até o dia da colheita das amostras (sete dias), foram obtidas no Departamento de Ciências Ambientais – FCA – UNESP, Fazenda Lageado, Botucatu – SP, situado a 8 km do local do experimento.

A temperatura (°C) e a umidade relativa (%) sobre o solo, em cada colheita, foram aferidas no local de realização do experimento com um termo-higrômetro digital (Hygrotherm, TFA – Alemanha).

2.3. Obtenção e manutenção das larvas infectantes de *Haemonchus contortus*

O isolado de *Haemonchus contortus* foi obtido de dois cordeiros machos, da raça Ile de France, com idade aproximada de três meses, com cerca de 20 kg de peso, adquiridos em Pratânia – SP, em maio de 2006. Em estudo anterior foi registrada a presença de *Haemonchus* spp. com resistência múltipla aos anti-helmínticos de amplo-espectro (oxfendazol, levamisol e ivermectina) na referida propriedade (Amarante et al., 1992).

Ao chegarem às instalações da UNESP, os animais foram vacinados contra clostridioses (SINTOXAN[®] - Merial) e foram tratados com moxidectina (200 µg/ kg, Cydectin NF*, solução injetável a 1%, Fort Dodge[®]). Nesse dia, amostras fecais foram colhidas dos dois cordeiros para realização de contagem de ovos por grama de fezes (OPG) pela técnica de Gordon & Whitlock (1939) que revelaram contagens de 1100 e 3200 OPG. Nas coproculturas, realizadas de acordo com a técnica de Roberts & O'Sullivan (1950), observou-se apenas a presença de *Haemonchus* spp. Sete dias após o tratamento, os animais apresentaram elevação nas contagens de OPG, respectivamente 5600 e 7400 OPG. As culturas dessa data confirmaram que os animais estavam apresentando infecção pura por *Haemonchus* spp. Esse isolado, resistente à moxidectina, foi utilizado no presente experimento.

Mensalmente, foram feitas coproculturas das fezes desses animais doadores e as larvas produzidas foram armazenadas em tubos de ensaio com 20 a 25 ml de água destilada, mantidas sob refrigeração para que fossem utilizadas para reinfectar os mesmos animais, quando necessário. A quantidade de L3 presente nas coproculturas foi estimada a partir da contagem de larvas em 10 alíquotas de 10 µl. O inóculo utilizado para a infecção dos cordeiros doadores (em duas ocasiões: colheita de setembro de 2006 e junho de 2007) foi constituído de 10.000 L3 de *H. contortus* administradas em uma única dose, via oral, com o auxílio de uma seringa e água destilada.

2.4. Identificação molecular da espécie de *Haemonchus*.

Análises moleculares realizadas com DNA extraído de ovos ou larvas infectantes permitiram identificar o isolado como sendo exclusivamente constituído pela espécie *Haemonchus contortus*. As condições de amplificação do DNA pela reação de polimerização em cadeia (PCR) e os oligonucleotídeos iniciadores (*primers*) empregados serão descritos em outra publicação.

2.5. Módulo experimental

A área experimental com 16 m² localizava-se dentro de um piquete com 0,6 ha, cultivado com a gramínea Braquiária (*Brachiaria decumbens*), o qual foi mantido sem animais durante o estudo.

As avaliações foram realizadas sempre no mesmo local e em quatro épocas do ano. As colheitas foram realizadas sempre próximas ou no dia da mudança de estação do ano, períodos que apresentam diferenças no comprimento do dia: setembro de 2006 (duração do dia igual à duração da noite em horas), dezembro de 2006 (maior número de horas com luz no ano), março de 2007 (duração do dia igual ao da noite em horas) e junho de 2007 (menor número de horas com luz no ano).

Para isso, foram escolhidos 40 locais na pastagem, que foram previamente demarcados com estacas. O critério de escolha desses locais foi pastagem com altura mínima de 30 cm. A fim de uniformizar a altura da pastagem, a parte superior da forragem foi cortada na altura de 30 cm imediatamente antes da deposição das fezes com larvas infectantes, utilizando-se de tesoura apropriada, impedindo que as partes seccionadas caíssem no solo.

2.6. Deposição das fezes

Foram realizadas quatro deposições de fezes, uma para cada época do ano. As fezes foram obtidas com o auxílio de bolsas coletoras fixadas na região posterior do corpo dos ovinos doadores de ovos de *H. contortus*. A coleta de fezes teve início três dias antes da colocação das amostras em estufa, a fim de produzir as larvas infectantes. As bolsas coletoras eram colocadas duas vezes ao dia nos animais. Cada bolsa retirada dos animais foi datada e armazenada em geladeira a 10 °C até o dia da utilização.

Em cada deposição foram preparadas 45 amostras, cada uma com uma porção de fezes que continha no total 60.000 ovos, estimado em cinco contagens de OPG. Portanto, a quantidade de fezes utilizada em cada deposição variou de acordo com a contagem de OPG obtidas dos animais doadores. Em setembro de 2006 foram utilizados 20,54 g de fezes para a contaminação de cada local previamente demarcado na pastagem, pois o animal doador estava com média 2920 OPG. Já na contaminação de dezembro de 2006, o animal doador apresentou média de 4540 OPG e foram utilizados 13,21 g de fezes para a contaminação. Em março de 2007 foram utilizados 60 g de fezes (1000 OPG) e na última contaminação da pastagem, realizada em junho de 2007 o animal doador apresentou 3100 OPG, portanto, nesta ocasião foram utilizadas porções de fezes de 19,35 g para contaminar cada local da pastagem.

Cada uma das amostras fecais foi colocada intacta em placas de Petri. Na placa superior foi colocado um papel filtro umedecido com água. Estas placas permaneceram em estufa a 25 °C por sete dias para que os ovos de *H. contortus* se desenvolvessem em L3. Após esse período, 40 amostras foram depositadas sobre o solo, em meio à pastagem nos locais previamente demarcados. As cinco amostras restantes serviram de culturas controle e foram processadas no laboratório conforme descrito no item 2.7., o que possibilitou estimar a quantidade de L3 presente em cada uma das amostras de fezes depositadas em meio à pastagem.

Todas as deposições de fezes com L3 foram realizadas no período da manhã, entre 8 h e 9 h. Em todas as colheitas, as fezes com L3 depositadas sobre o solo, em meio à pastagem, ficaram sujeitas às condições do ambiente durante sete dias, quando então as amostras foram colhidas nos diferentes períodos do dia: ao nascer do Sol, ao meio dia, ao pôr do Sol e a meia-noite. Foram colhidas amostras dos diferentes estratos do capim (0-10 cm, 10-20 cm e > 20 cm), mais as fezes remanescentes que haviam sido depositadas em meio à pastagem, e uma camada de aproximadamente 1 cm de solo

localizado em baixo dessas fezes. Portanto, para cada horário de colheita havia 10 repetições.

2.7. Colheita das amostras e exames laboratoriais

A colheita do capim, das fezes remanescentes e do solo foi realizada sete dias após a deposição das fezes em meio à pastagem.

Foi utilizado para delimitar a área e a altura em que as amostras de capim foram colhidas, um aro de metal de 10 cm de diâmetro, fixado juntamente a uma haste graduada com as medidas em que o capim era seccionado, ou seja, > 20 cm, 10-20 cm e 0-10 cm. Esse instrumento foi colocado circundando as fezes que haviam sido depositadas em meio à pastagem. As folhas do capim que estavam localizadas dentro desse diâmetro foram seccionadas nos diferentes estratos pré-determinados. O corte do capim começou do estrato superior (acima de 20 cm) e assim sucessivamente até chegar ao estrato inferior (0-10 cm). Cada um dos estratos colhidos foi acondicionado separadamente em sacos plásticos previamente identificados até serem processadas no laboratório.

As larvas foram separadas do capim pela técnica de Baermann (Ueno & Gonçalves, 1998). Cada estrato do capim foi envolvido em um saco feito com gaze, amarrado frouxadamente com um pedaço de barbante previamente identificado de acordo com seu estrato, horário de colheita e número da amostra. Cada saco ficou submerso por seis horas em um cálice contendo aproximadamente 250 ml de água, com temperatura inicial de 40 °C. Na água de cada cálice foi adicionada uma gota de detergente neutro (Extran® MA 02 Neutro, Merck S.A.) para que ocorresse a diminuição da tensão superficial da água, propiciando a separação das larvas do capim mais facilmente. Após esse período, os sacos foram removidos dos cálices e transferidos para uma estufa a 60 °C por 72 horas, para determinar a matéria seca da forragem.

O conteúdo dos cálices ficou em repouso por mais 12 horas, quando então o sobrenadante foi desprezado com o auxílio de um sifão. O sedimento foi transferido para um tubo graduado (15 ml) com tampa, o qual foi mantido sob refrigeração (4 °C) até o momento do exame. O sedimento com aproximadamente 2 ml foi examinado em microscópio e as larvas infectantes de *H. contortus* foram mortas e coradas com lugol, e quantificadas.

As fezes remanescentes e uma camada de solo foram recolhidas manualmente após a colheita do capim. As amostras foram acondicionadas separadamente em sacos plásticos previamente identificados, até serem processadas no laboratório.

Para a recuperação das L3 das amostras fecais controle, das fezes remanescentes no ambiente e da camada superficial do solo, as amostras foram colocadas sobre um lenço de papel (SOFTY'S[®], lenços duplos de 14,8 x 21,5 cm cada, Melhoramentos Papéis Ltda.), dentro de uma peneira e colocadas em um cálice de sedimentação, no qual foi adicionado água com temperatura inicial de 40 °C até que as amostras de fezes e solo estivessem cobertas. Após o período de seis horas, as peneiras com as fezes e o solo foram removidas dos cálices, transferidas para uma estufa a 60 °C por 72 horas, para determinar a matéria seca dos mesmos.

O conteúdo dos cálices ficou em repouso por mais 12 horas, quando então o sobrenadante foi desprezado com o auxílio de um sifão. O sedimento foi transferido para um tubo graduado (15 ml) com tampa, o qual foi mantido sob refrigeração (4 °C) até o momento do exame. O sedimento com aproximadamente 2 ml foi examinado em microscópio e as larvas infectantes foram mortas e coradas com lugol, e quantificadas.

Todas as L3 recuperadas das amostras de capim, fezes e solo, foram identificadas de acordo com Keith (1953), o que possibilitou verificar contaminações eventuais por outros nematóides gastrintestinais.

2.8. Análise estatística

Os dados foram analisados com a utilização do programa SAS (procedimento GLM). No modelo foram utilizados o momento da colheita (quatro horários) e três estratos (estratos da forrageira). Foi avaliada a interação entre horário e estratos. As médias foram comparadas pelo teste Tukey, com nível de significância de 5%.

Os dados foram analisados sob transformação logarítmica ($\text{Log}(x+1)$). No entanto, para facilitar a compreensão, nos resultados estão apresentadas as médias aritméticas (\pm erro padrão).

3. Resultados

Não houve interação significativa entre estrato x horário em relação ao número de larvas recuperadas da forrageira em nenhuma das épocas de colheita ($P > 0,05$).

3.1. Setembro de 2006

As fezes com larvas infectantes foram depositadas na pastagem no dia 15 de setembro de 2006. O capim, as fezes remanescentes e o solo foram colhidos sete dias após a contaminação. Neste período, foram observadas temperaturas médias em torno dos 19 °C e umidade relativa do ar elevada, devido às chuvas que ocorreram naquela semana (Tabela 1).

A colheita teve início no dia 22 de setembro de 2006 às 6 h, horário em que o Sol começou a nascer. Estava uma manhã relativamente fria (13,1 °C) e a umidade relativa do ar foi a mais alta de todos os períodos, 91%. Ao meio dia, o céu estava completamente nublado e sem vento. A temperatura média do local estava a 27 °C e a umidade relativa do ar 50%. Às 18 h teve início a colheita do pôr do Sol. O céu permaneceu nublado e sem vento e por volta das 18 h 20 min o Sol já havia se posto completamente. A temperatura estava um pouco mais baixa e a umidade relativa do ar mais alta, 17 °C e 76%, respectivamente, quando comparadas com a colheita do meio dia. À meia noite (23 de setembro de 2006) teve início à última colheita. O céu estava completamente sem nuvens e havia uma brisa suave. A temperatura sobre o solo era de 15 °C e a umidade relativa de 84%.

Nas colheitas do meio dia e do pôr do Sol o capim não apresentou orvalho, já nas colheitas da meia noite e do nascer do Sol, o capim estava totalmente úmido. Porém, independente do horário de colheita foi observado que a base da forragem, o solo e as fezes encontravam-se bem úmidos. As fezes recuperadas estavam íntegras e não houve perda de fezes. Isto pôde ser estimado com base no peso seco das amostras de fezes controle que pesaram em média 6,80g, peso seco similar ao das fezes recuperadas da pastagem.

Foram recuperadas em média, considerando o solo, as fezes e o capim 924,7 L3, o que correspondeu em média a 6,7% das larvas depositadas. Portanto, mais de 90% das larvas infectantes de *H. contortus* inicialmente depositadas com as amostras fecais, em meio à pastagem, não foram recuperadas. As larvas estavam localizadas principalmente no capim, seguido pelas fezes, enquanto poucas L3 foram recuperadas do solo nessa colheita (Tabela 2).

A recuperação média de L3 no capim foi significativamente inferior na colheita do meio dia quando comparado com os demais horários de colheita ($P < 0,05$). A recuperação larval foi significativamente superior nos estratos de 10-20 cm e > 20 cm, quando comparados com o estrato de 0-10 cm ($P < 0,05$). No estrato médio e superior,

foram recuperadas em média 184,3 e 219,4 L3, respectivamente, enquanto que na base da forragem foram recuperadas em média 99 larvas (Tabela 3).

A exemplo do ocorrido com o número de L3 recuperadas da forragem ao meio dia, a concentração média de larvas por quilo de matéria seca (L3/kg MS) também foi significativamente inferior nesse período quando comparado com os demais horários de colheita ($P < 0,05$). A concentração média de L3/kg MS no capim *B. decumbens* foi significativamente diferente em todos os estratos colhidos ($P < 0,05$). O estrato de 0-10 cm apresentou o menor número médio de larvas (53125 L3/kg MS) enquanto que a maior concentração de larvas ocorreu no ápice da pastagem, com média de 479536 L3/kg MS recuperadas (Tabela 4).

3.2. Dezembro de 2006

As fezes com larvas infectantes foram depositadas na pastagem no dia 13 de dezembro de 2006. Durante os sete dias em que as fezes permaneceram no ambiente, as temperaturas médias foram de aproximadamente 25° C e a umidade relativa de 80%. Ocorreram chuvas leves em alguns dias dessa semana (Tabela 1).

As 6 h 05 min, horário em que o Sol começou a nascer, dia 20 de dezembro de 2006, teve início a colheita. O céu estava nublado, sem vento e em torno das 6 h 30 min o Sol já havia nascido completamente. A temperatura e a umidade relativa do ar, mensuradas ao nível do solo, estavam a 23 °C e 78%, respectivamente. Ao meio dia, o sol apareceu entre nuvens e ventava um pouco. Neste período de colheita foi registrada a temperatura mais alta (40 °C) e a umidade relativa do ar mais baixa (43%) quando comparado com os demais períodos de colheita. As 19 h 20 min o Sol estava começando a se pôr, a temperatura média estava a 20 °C e a umidade relativa do ar 73%. A meia noite (21 de dezembro de 2006) foi realizada a última colheita. Neste período o céu estava completamente nublado e sem vento. A temperatura média foi semelhante a observada ao pôr do sol, por volta dos 20 °C, porém a umidade relativa do ar foi a mais alta de todos os períodos (85%).

Nas colheitas do nascer do Sol e da meia noite o capim apresentou pouco orvalho, já nas colheitas do meio dia e do pôr do Sol o capim estava totalmente seco. Porém, independente de horário de colheita foi observado que o solo e as fezes permaneceram bem úmidos e em alguns casos, os cíbalos fecais estavam em processo de degradação. Foram recuperadas em média 60% das fezes inicialmente depositadas, portanto, houve perda de fezes. Isto pôde ser estimado com base no peso seco das

amostras de fezes controle que apresentaram peso médio de 4 g, enquanto que as fezes recuperadas pesaram em média 2,6 g.

Foram recuperadas do capim, das fezes e do solo, em média 1% do total de larvas inicialmente depositadas. Portanto, 99% das larvas não foram recuperadas. As larvas foram recuperadas principalmente da forragem (Tabela 2).

Em dezembro, a maior recuperação média de L3 da forragem ocorreu na colheita do pôr do Sol tendo sido significativamente superior à recuperação da meia noite ($P < 0,05$). A recuperação larval foi significativamente maior no estrato superior da planta (> 20 cm) com uma média de 280,3 L3 enquanto que a menor recuperação larval ocorreu no estrato inferior da forragem (0-10 cm) com uma média de 38 larvas ($P < 0,05$) (Tabela 3).

A concentração de L3/kg MS foi similar em todos os horários de colheita ($P > 0,05$). Com relação aos diferentes estratos da forragem, a concentração de L3/kg MS foi similar entre os estratos de 10-20 cm e 0-10 cm, com uma média de 38178 e 12726 larvas recuperadas respectivamente. Porém, a recuperação média de L3 do ápice da forragem foi significativamente superior ($P < 0,05$) quando comparada com os demais estratos da forragem, com uma média de 171035 L3/kg MS (Tabela 4).

3.3. Março de 2007

As fezes com L3 foram depositadas na pastagem no dia 13 março de 2007. Durante o período de sete dias que antecedeu a colheita, as temperaturas médias foram de 22° C e a umidade relativa em torno dos 80%. Ocorreram chuvas em dois dias dessa semana (Tabela 1) e o capim estava bem denso.

As 6 h 10 min, horário em que o Sol começou a nascer no dia 20 de março de 2007, teve início a colheita. O Sol apareceu entre poucas nuvens e a temperatura ao nível do solo era de 10 °C e a umidade relativa do ar era de 70%. Ao meio dia foi registrada a temperatura mais alta e a umidade relativa do ar mais baixa (40 °C e 20%, respectivamente). As 18 h 10 min o Sol começou a se pôr, o céu estava aberto, com poucas nuvens e a temperatura média estava a 20 °C e a umidade relativa do ar 52%. A meia noite (21 de março de 2007) foram colhidas as últimas amostras. O céu estava estrelado e sem vento, e a temperatura e a umidade relativa do ar foi bem semelhante às aquelas observadas ao nascer do Sol, por volta dos 11 °C e 70%, respectivamente.

Porém, independente de horário de colheita foi observado que a base da forragem, o solo e as fezes encontravam-se bem úmidos. As fezes recuperadas estavam

em fase de degradação, portanto, houve perda de fezes. Foram recuperadas em média 70% das fezes inicialmente depositadas em meio à pastagem. Isto pôde ser estimado com base no peso seco das amostras de fezes controle que pesaram em média 22 g, peso este que foi superior ao das fezes secas recuperadas da pastagem.

Na colheita de março houve a menor recuperação de L3. Foram recuperadas em média, 0,8% das larvas inicialmente depositadas em meio à pastagem considerando o solo, as fezes e a forrageira. Portanto, em média, 99,2% das L3 inicialmente depositadas em meio à forrageira não foram recuperadas. As L3 foram recuperadas principalmente das fezes e do capim (Tabela 2).

Nesta colheita, a maior recuperação média de L3 ocorreu ao meio dia tendo sido significativamente superior a recuperação da meia noite ($P < 0,05$). A recuperação larval no ápice da pastagem (> 20 cm) foi significativamente inferior quando comparado com o estrato inferior da forrageira (0-10 cm) com uma média de 13 e 27,8 larvas respectivamente ($P < 0,05$) (Tabela 3).

A concentração de L3/kg MS foi similar entre os horários de colheita e entre os estratos da forragem ($P > 0,05$) (Tabela 4).

3.4. Junho de 2007

As fezes com L3 foram depositadas na pastagem no dia 14 de junho de 2007. Durante o período que antecedeu a colheita, a temperatura média foi de aproximadamente 15 °C e a umidade relativa do ar variou de 60% a 78%. Não ocorreram chuvas nessa semana.

A colheita teve início às 7 h, horário em que o Sol começou a nascer no dia 21 de junho de 2007. O céu estava sem nuvens e a temperatura no nível do solo estava a 8 °C e a umidade relativa do ar era de 80%. Ao meio dia o céu continuou sem nuvens e sem vento. Neste período foi registrada a temperatura mais alta e a umidade relativa do ar mais baixa com 37 °C e 30%, respectivamente, quando comparado com os demais horários de colheita. O sol começou a se pôr as 17 h, início de mais uma colheita. O céu continuou sem nuvens, sem vento e a temperatura média estava a 13 °C e a umidade relativa do ar 63%. A meia noite (22 de junho de 2007) foram colhidas as últimas amostras. O céu estava estrelado e não havia vento, a temperatura foi a mais baixa registrada, 7 °C e a umidade relativa do ar foi de 72%.

Nas colheitas do nascer do Sol e da meia noite o capim apresentou orvalho apenas no terço superior, o restante do capim, o solo e as fezes permaneceram secos. Já

na colheita do meio dia e do pôr do Sol o capim, o solo e as fezes remanescentes estavam completamente secos. As fezes remanescentes que foram recuperadas estavam íntegras e endurecidas, porém houve perda de fezes. Foram recuperadas 82% das fezes inicialmente depositadas. Isto pôde ser estimado com base no peso seco das amostras de fezes controle que pesou em média 7,78g, peso que foi superior ao peso seco das amostras colhidas da pastagem.

Nesta colheita foram recuperadas considerando a pastagem, as fezes remanescentes e solo, uma média de 5,8% das L3 inicialmente depositadas, tendo as larvas sido recuperadas principalmente das fezes. Portanto, 94,2% das larvas não foram recuperadas (Tabela 2).

A recuperação de larvas da forragem foi similar em todos os horários de colheita ($P > 0,05$). A maior recuperação de L3 da pastagem ocorreu na base da forragem (0-10 cm) com uma média de 34,2 L3, tendo sido significativamente superior à recuperação do ápice da pastagem (> 20 cm), com uma média de 7,7 L3 ($P < 0,05$) (Tabela 3).

Quanto à concentração de L3 na pastagem (L3/kg MS), a recuperação foi similar entre os horários e entre os estratos da forrageira ($P > 0,05$) (Tabela 4).

4. Discussão

De uma forma geral, o horário do dia teve pouca influência na distribuição das larvas na planta forrageira. Krecek et al. (1991) também avaliaram o efeito da hora do dia na recuperação de L3 de *H. contortus* e *Haemonchus placei* em pastagem irrigada na África do Sul e constataram a exemplo do presente experimento, que o número de larvas recuperadas não variou ao longo do dia indicando que não há um determinado horário em que ovinos e bovinos estejam mais propensos a se infectarem. As condições climáticas registradas neste estudo foram muito parecidas com as observadas no presente experimento, com temperaturas por volta dos 20 °C. Além disso, a irrigação deve ter formado um microclima úmido na pastagem, o que pode ter favorecido a migração das L3. Embora a pastagem no presente experimento não tenha sido irrigada, apresentava um microclima também favorável, uma vez que em três das quatro épocas analisadas (setembro de 2006, dezembro de 2006 e março de 2007), independente do horário de colheita, a base da pastagem, o solo e as fezes remanescentes se mantiveram úmidas. Certamente, às chuvas que ocorreram durante alguns dias da semana em que as L3 ficaram sujeitas às condições climáticas do ambiente contribuíram para a manutenção da umidade.

Em contraste, na Grã-Bretanha a maior parte das L3 de *H. contortus* foi recuperada no começo da manhã e ao anoitecer, em condições de baixa luminosidade, quando comparado com as colheitas realizadas no meio do dia e a noite. Além disso, mais larvas foram recuperadas durante os meses de outono e primavera (Rees, 1950). A divergência entre os resultados pode ser devido ao fato de a Grã-Bretanha ser um país com clima temperado, com temperaturas e umidades extremas em algumas épocas do ano, o que talvez dificulte a migração das L3 de *H. contortus* no verão e no inverno.

O microclima da pastagem tem grande influência no comportamento migratório e na sobrevivência das L3. As distintas espécies de plantas forrageiras, que por se diferenciarem tanto na morfologia quanto na forma de crescimento, podem formar diferentes microclimas, que podem favorecer ou não o desenvolvimento, a migração e a sobrevivência das L3 na pastagem. (Nieto et al., 2003; Knapp, 1964; Niezen et al., 1998; Marley et al., 2006). Em Albany, região ocidental da Austrália, Besier & Dunsmore (1993) observaram que em áreas onde as pastagens permanecem verdes durante o verão, elas podem criar um microclima úmido suficiente para permitir a sobrevivência das L3 de *H. contortus* mesmo quando as condições climáticas são desfavoráveis. As condições climáticas do local do presente estudo, com temperaturas amenas e chuvas bem distribuídas, proporcionaram uma pastagem bem desenvolvida em todas as épocas de colheita, o que também pode ter favorecido a migração das larvas das fezes para a forrageira.

Outro fator importante é que as diferentes espécies de nematódeos têm particularidades quanto ao comportamento migratório quando submetidas a diferentes condições climáticas. Na Austrália, *H. contortus* e *Trichostrongylus* spp. predominam em áreas onde o clima é quente e seco, enquanto *Ostertagia circumcincta* ocorre em regiões mais úmidas e com temperaturas mais amenas (Rogers, 1940).

Há a necessidade também de que mais experimentos sejam realizados a fim de esclarecer quanto tempo as L3 levam para sair das fezes e atingir o ápice da forrageira, e quais as condições climáticas ideais para o deslocamento das mesmas. Em Victoria, na Austrália, Callinan & Westcott (1986) recuperaram mais L3 de *Trichostrongylus* spp. e *Teladorsagia* spp. do solo do que da planta forrageira quando submetidas a diferentes condições de umidade e temperatura. Porém, as observações foram realizadas durante apenas quatro dias. Talvez se esse experimento tivesse sido prolongado, mais larvas teriam sido encontradas na forrageira.

Em todas as colheitas realizadas, ao meio dia as temperaturas médias se mantiveram mais altas (aproximadamente 40 °C) e a umidade relativa do ar bem mais baixas (30%) quando comparadas com os demais horários de colheita. Mesmo assim, a concentração de larvas nos diferentes estratos da pastagem foi similar em todos os horários. Estes resultados indicaram que as larvas não procuraram migrar para a base da forragem onde havia mais umidade. Essa capacidade que as L3 de *H. contortus* têm de se manter na pastagem mesmo quando as condições ambientais são aparentemente adversas pode ser devido ao fato delas entrarem em estado anidrobiótico quando completamente dessecadas, na ausência de umidade. Além disso, as L3 são capazes de sobreviver a repetidos ciclos de hidratação/dessecação sem prejuízo significativo na sobrevivência (Lettini & Sukhdeo, 2006). Quando essas larvas estão sob condições contínuas de umidade no microclima da pastagem, as L3 que estão contidas no filme de água permanecem ativas e desta maneira, gastam suas reservas alimentares mais rápido e morrem ao final de algumas semanas. No entanto, em situações de secas, as L3 desidratam e se tornam inativas, podendo permanecer viáveis por longos períodos de tempo na pastagem (Krecek & Waller, 2006). A habilidade da L3 de *H. contortus* em resistir a repetidos ciclos de dessecação é provavelmente um fator importante para a preservação da espécie em condições de seca (Todd et al., 1970).

Em todos os períodos de colheita realizados, mais de 90% das larvas inicialmente depositadas na pastagem não foram recuperadas. Esta perda talvez tenha sido devida à metodologia utilizada no experimento, onde o espaço de colheita foi delimitado em apenas 10 cm de diâmetro, que era aproximadamente o espaço ocupado pelas fezes depositadas na pastagem. É provável que muitas larvas tenham migrado lateralmente além da área delimitada, conforme observado por Rose (1963). Skinner & Todd (1980) observaram que geralmente mais de 90% das L3 de *H. contortus* foram recuperadas em até 10 cm das fezes, outro experimento demonstrou que a maioria das larvas migrou a uma distância de até 15 cm das fezes (Almeida et al., 2005). Porém, a intenção desse trabalho foi de avaliar apenas a migração vertical das L3 de *H. contortus*, portanto não havia necessidade de utilizar um aro com diâmetro maior que pudesse alcançar as larvas que migraram lateralmente. Outros experimentos terão que ser realizados a fim de avaliar qual a distância que as L3 de *H. contortus* migram lateralmente sob as condições climáticas do local do presente estudo.

Nas colheitas de setembro de 2006, dezembro de 2006 e março de 2007 ocorreram chuvas após a deposição das fezes com L3 na pastagem o que pode ter

favorecido uma migração maciça das larvas das fezes para o capim, pois a maioria delas foi recuperada da forragem. As fezes encontravam-se bem úmidas e em alguns casos em fase de degradação. Experimentos demonstraram que a migração das larvas para o pasto aumenta quando ocorrem precipitações pluviométricas e o aumento parece ser proporcional à intensidade e frequência das chuvas (Catto, 1982). Em Utah - EUA, as larvas infectantes de *H. contortus* foram recuperadas quase que exclusivamente do capim nos lotes onde a pastagem era irrigada, enquanto que na pastagem não irrigada, as larvas foram recuperadas principalmente do solo e das fezes remanescentes (Bullick & Andersen, 1978).

Já na colheita de junho de 2007, quando as L3 foram recuperadas principalmente das fezes remanescentes em comparação com as demais colheitas, não ocorreram chuvas após a deposição das fezes em meio à pastagem. As fezes que foram recuperadas estavam íntegras e endurecidas devido à falta de umidade. Períodos secos com temperaturas amenas podem ser particularmente de risco, visto que as massas fecais podem permanecer íntegras devido à baixa precipitação pluviométrica, possibilitando a sobrevivência prolongada das larvas no bolo fecal e, posteriormente, em condições favoráveis, uma quantidade considerável de larvas pode alcançar a vegetação (Almeida et al., 2005). Em experimento realizado em Botucatu-SP, Amarante et al. (1996) observaram que mesmo na época da estiagem, foram recuperados números expressivos de L3 na pastagem, mas houve uma elevação acentuada na contaminação da pastagem quando a precipitação voltou a ser elevada. Rose (1963), em experimento realizado na Grã-Bretanha, observou que nem todas as L3 migraram para a vegetação, algumas permaneceram nas fezes até que elas se desintegrassem. Em duas ocasiões, milhares de L3 foram recuperadas também do solo. Da mesma forma, em experimento realizado em Victoria (Austrália), Callinan & Westcott (1986) recuperaram mais L3 do solo do que da vegetação. Neste estudo não foi observada migração do solo para a vegetação, pois a proporção de L3 na vegetação não aumentou significativamente com o tempo, porém nesse estudo, as observações foram realizadas durante apenas quatro dias.

As condições climáticas foram diferentes nas quatro épocas de realização deste trabalho. De acordo com Silangwa & Todd (1964) a migração vertical das larvas infectantes é ao acaso, influenciada pelos fatores ambientais. Resultados similares foram observados no presente experimento, pois ficou demonstrado que em junho quando não ocorreram precipitações a quantidade de larvas no capim foi relativamente pequena. Nas colheitas de setembro e dezembro de 2006, mais larvas foram recuperadas do ápice da

forageira, já nas colheitas de março e junho de 2007 a maioria das larvas estava localizada na base da forrageira. Experimentos realizados *in vitro* demonstraram que as L3 de *H. contortus* apresentaram migrações erráticas, elas não migraram obrigatoriamente contra a força da gravidade (Sciacca et al., 2002).

A densidade de L3 /kg MS nas colheitas de setembro de 2006 e dezembro de 2006 seguiram a mesma tendência: mais larvas no ápice da forrageira, seguido pela porção mediana e o menor número de L3/kg de MS na base da forrageira. Alta densidade larval no estrato superior da forrageira predispõe os ovinos à infecção já que estes consomem, devido ao seu hábito de pastejo, inicialmente as porções superiores da forragem. Resultados similares foram descritos na Nova Zelândia (Niezen et al., 1998).

De modo geral, foram recuperadas poucas larvas na colheita de março de 2007. Nessa colheita as chuvas foram mais frequentes em comparação com as colheitas de setembro de 2006 e dezembro de 2006, o que pode ter carregado as larvas da pastagem para além do diâmetro de colheita delimitado no presente experimento, ou para o solo. Além disso, em março de 2007 foi observada uma pastagem mais bem desenvolvida em comparação com as demais colheitas, o que pode ter provocado uma diluição das larvas, já que havia mais capim por área. Resultados similares foram observados por Amarante & Barbosa (1995) onde a recuperação larval diminuiu nos meses quentes e chuvosos, período que também coincidiu com uma pastagem mais exuberante.

Na colheita de junho de 2007, não ocorreram chuvas no período que antecedeu a colheita, porém a recuperação larval nos diferentes estratos da forrageira foi semelhante à colheita de março de 2007. Nessas colheitas as larvas infectantes foram recuperadas principalmente do estrato inferior da forrageira (0-10 cm). Porém, quanto à densidade de larvas infectantes (L3/kg MS), a concentração foi similar em todos os estratos tanto na colheita de março de 2007 como na de junho de 2007. Estudos demonstraram que apesar da maioria das larvas terem sido recuperadas do estrato inferior da forragem, a concentração de L3/kg MS foi maior no estrato superior, na maioria das espécies forrageiras analisadas (Niezen et al., 1998) o que resultaria em ovinos ingerindo grandes quantidades de L3.

Em conclusão, no geral não houve diferença na concentração das L3 de *H. contortus* nos diferentes estratos da forrageira *B. decumbens* nos diferentes períodos do dia. Portanto, as diferentes condições de umidade e luminosidade observadas no presente experimento, não tiveram influência na migração vertical das larvas infectantes, portanto não há um determinado horário em que os ovinos em pastejo estejam mais

predispostos à infecção. Em todas as colheitas realizadas, grande concentração de larvas foi observada no ápice da pastagem, justamente a parte da planta que é consumida em primeiro lugar pelos ovinos. Observou-se também que as fezes se constituíram em reservatório de L3, principalmente na colheita realizada em junho de 2007, período sem precipitação pluviométrica e temperaturas amenas.

5. Referências Bibliográficas

- AGYEI, A.D. (1997) Seasonal changes in the level of infective strongylate nematode larvae on pasture in the coastal savanna regions of Ghana. *Veterinary Parasitology* **70**, 175-182.
- ALMEIDA, L.R., CASTRO, A.A., SILVA, F.J.M. & FONSECA, A.H. (2005) Desenvolvimento, sobrevivência e distribuição de larvas infectantes de nematóides gastrintestinais de ruminantes, na estação seca da Baixada Fluminense, RJ. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária* **14**, 3, 89-94.
- AMARANTE, A.F.T. (2001) Controle de endoparasitoses dos ovinos. pp. 461-473 in Sociedade Brasileira de Zootecnia, Piracicaba, FEALQ (Ed.) *A produção animal na visão dos brasileiros*.
- AMARANTE, A.F.T. (2007) *Controle de parasitas de ovinos: curso teórico-prático* 41pp. Botucatu-SP, Universidade Estadual Paulista.
- AMARANTE, A.F.T. & BARBOSA, M.A. (1995) Seasonal variations in populations of infective larvae on pasture and nematode faecal egg output in sheep. *Veterinária e Zootecnia* **7**, 127-133.
- AMARANTE, A.F.T., BARBOSA, M.A., OLIVEIRA, M.A.G., CARMELLO, M.J. & PADOVANI, C.R. (1992) Efeito da administração de oxfendazol, ivermectina e levamisol sobre os exames coproparasitológicos de ovinos. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science* **29**, 1, 31-38.
- AMARANTE, A.F.T., PADOVANI, C.R. & BARBOSA, M.A. (1996) Contaminação da pastagem por larvas infectantes de nematódeos gastrintestinais parasitas de bovinos e ovinos em Botucatu-SP. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária* **5**, 2, 65-73.
- BESIER, R.B. & DUNSMORE, J.D. (1993) The ecology of *Haemonchus contortus* in a winter rainfall region in Australia: the survival of infective larvae on pasture. *Veterinary Parasitology* **45**, 293-306.
- BULLICK, G.R. & ANDERSEN, F.L. (1978) Effect of irrigation on survival of third-stage *Haemonchus contortus* larvae (Nematoda: Trichostrongylidae). *The Great Basin Naturalist* **38**, 4, 369-378.
- CALLINAN, A.P.L. & WESTCOTT, J.M. (1986) Vertical distribution of trichostrongylid larvae on herbage and in soil. *International Journal for Parasitology* **16**, 3, 241-244.
- CATTO, J.B. (1982) Desenvolvimento e sobrevivência de larvas infectantes de nematódeos gastrintestinais de bovinos, durante a estação seca, no Pantanal Mato-

- Grossense. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* **17**, 6, 923-927.
- CHARLES, T.P. (1995) Disponibilidade de larvas infectantes de nematódeos gastrintestinais parasitas de ovinos deslanados no semi-árido Pernambucano. *Ciência Rural* **25**, 3, 437-442.
- GORDON, H.M.C.L. & WHITLOCK, H.V. (1939) A new technique for counting nematode eggs in sheep faeces. *Journal of the Council for Scientific Industrial Research* **12**, 103-112.
- KEITH, R.K. (1953) The differentiation of infective larvae of some common nematode parasites of cattle. *Australian Journal of Zoology* **1**, 223-235.
- KNAPP, S.E. (1964) Relationship of different species of forage to the survival and infectivity of *Haemonchus contortus* in lambs. *The Journal of Parasitology* **50**, 1, 144-148.
- KRECEK, R.C., GROENEVELD, H.T. & VAN WYK, J.A. (1991) Effects of time of day, season and stratum on *Haemonchus contortus* and *Haemonchus placei* third-stage larvae on irrigate pasture. *Veterinary Parasitology* **40**, 87-98.
- KRECEK, R.C. & WALLER, P.J. (2006) Towards the implementation of the “basket of options” approach to helminth parasite control of livestock: Emphasis on the tropics/subtropics. *Veterinary Parasitology* **139**, 270-282.
- LETTINI, S.E. & SUKHDEO, V.K. (2006) Anhydrobiosis increases survival of trichostrongyle nematodes. *The Journal of Parasitology* **92**, 5, 1002-1009.
- MARLEY, C.L., FRASER, M.D., ROBERTS, J.E., FYCHAN, R. & JONES, R. (2006) Effects of legume forages on ovine gastrointestinal parasite development, migration and survival. *Veterinary Parasitology* **138**, 3-4, 280-290.
- NDAMUKONG, K.J. & NGONE, M.M. (1996) Development and survival of *Haemonchus contortus* and *Trichostrongylus* sp. on pasture in Cameroon. *Tropical Animal Health and Production* **28**, 193-198.
- NIETO, L.M., MARTINS, E.N., MACEDO, F.A.F. & ZUNDT, M. (2003) Observações epidemiológicas de helmintos gastrintestinais em ovelhas mestiças manejadas em pastagens com diferentes hábitos de crescimento. *Ciência Animal Brasileira* **4**, 1, 45-51.
- NIEZEN, J.H., CHARLESTON, W.A.G., HODGSON, J., MILLER, C.M., WAGHORN, T.S. & ROBERTSON, H.A. (1998) Effect of plants species on the larvae of gastrointestinal nematodes which parasitise sheep. *International Journal for Parasitology* **28**, 791-803.

- OKON, E.D. & ENYENIHI, U.K. (1977) Development and survival of *Haemonchus contortus* larvae on pasture in Ibadan. *Tropical Animal Health Production* **9**, 7-10.
- RAMOS, C.I., BELLATO, V., SOUZA, A.P., AVILA, V.S., COUTINHO, G.C. & DALAGNOL, C.A. (2004) Epidemiologia das helmintoses gastrintestinais de ovinos no Planalto Catarinense. *Ciência Rural* **34**, 6, 1889-1895.
- REES, G. (1950) Observation on the vertical migrations of the third stage larvae of *Haemonchus contortus* (RUD.) on experimental plots of *Lolium perenne* S24, in relation to meteorological and micrometeorological factors. *Parasitology* **40**, 127-143.
- ROBERTS, F.H.S. & O'SULLIVAN, J.P. (1950) Methods for eggs counts and larvae cultures for strongyles infesting the gastrointestinal tract cattle. *Australian Journal of Agricultural Research* **1**, 99.
- ROGERS, W.P. (1940) The effects of environmental conditions on the accessibility of third stage trichostrongyle larvae to grazing animals. *Parasitology* **32**, 208-225.
- ROSE, J.H. (1963) Observations on the free-living stages of the stomach worm *Haemonchus contortus*. *Parasitology* **53**, 469-481.
- SCIACCA, J., KETSCHKE, A., FORBES, W.M. BOSTON, R. GUERRERO, J., ASHTON, F.T. GAMBLE, H.R. & SCHAD, G.A. (2002) Vertical migration by the infective larvae of three species of parasitic nematodes: is the behaviour really a response to gravity? *Parasitology* **125**, 553-560.
- SILANGWA, S.M. & TODD, A.C. (1964) Vertical migration of Trichostrongyloid larvae on grasses. *The Journal of Parasitology* **50**, 2, 278-285.
- SILVA, W.W., BEVILAQUA, C.M.L. & RODRIGUES, M.L.A. (2003) Variação sazonal de nematóides gastrintestinais em caprinos traçadores no semi-árido paraibano - Brasil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária* **12**, 2, 71-75.
- SKINNER, W.D. & TODD, K.S. (1980) Lateral migration of *Haemonchus contortus* larvae on pasture. *American Journal of Veterinary Research* **41**, 3, 395-398.
- TODD, K.S., LEVINE, N.D. & WHITESIDE, C.C. (1970) Moisture stress effects on survival of infective *Haemonchus contortus* larvae. *Journal of Nematology* **2**, 330-333.
- UENO, H. & GONÇALVES, P.C. (1998) *Manual para diagnóstico das helmintoses de ruminantes*. 4 ed. 143pp. Tokyo: Japan International Cooperation Agency.
- URQUHART, G.M., ARMOUR, J., DUNCAN, J.L., DUNN, A.M. & JENNINGS, F.W. (1996) 2 ed. 273pp. *Parasitologia Veterinária*. Editora Guanabara Koogan S.A., Rio de Janeiro – RJ.

Tabela 1. Temperaturas máximas, mínimas e médias diárias, precipitação pluviométrica diária e umidade relativa do ar média diária do dia da deposição das fezes com larvas infectantes de *H. contortus* em meio à pastagem de *B. decumbens*, até o dia em que as amostras foram colhidas (sete dias depois), nas diferentes épocas de realização do experimento (setembro, dezembro, março e junho).

| Dia | Temperatura (°C) | | | Precipitação pluviométrica (mm) | Umidade relativa (%) |
|----------|------------------|--------|-------|---------------------------------|----------------------|
| | Mínima | Máxima | Média | | |
| 15/09/06 | 20,2 | 33,8 | 27 | 6,2 | 40 |
| 16/09/06 | 15,4 | 23 | 19,2 | 12 | 100 |
| 17/09/06 | 13 | 22,6 | 17,8 | 8,7 | 100 |
| 18/09/06 | 14 | 23,8 | 18,9 | 0 | 97 |
| 19/09/06 | 13,6 | 25,4 | 19,5 | 0 | 86 |
| 20/09/06 | 14,8 | 23 | 18,9 | 6,5 | 100 |
| 21/09/06 | 14,4 | 25,4 | 19,9 | 0 | 84 |
| 22/09/06 | 14,4 | 25 | 19,7 | 0 | 85 |
| 13/12/06 | 18 | 28,8 | 23,4 | 1 | 78 |
| 14/12/06 | 19,4 | 27,6 | 23,5 | 6,3 | 89 |
| 15/12/06 | 20,6 | 30 | 25,3 | 1 | 83 |
| 16/12/06 | 19,8 | 30,2 | 25 | 0 | 79 |
| 17/12/06 | 21 | 30,6 | 25,8 | 0 | 74 |
| 18/12/06 | 20 | 32,8 | 26,4 | 0 | 71 |
| 19/12/06 | 21,8 | 31,4 | 26,6 | 0 | 77 |
| 20/12/06 | 20 | 28 | 24 | 0 | 82 |
| 13/03/07 | 20 | 30,2 | 25,1 | 0 | 75 |
| 14/03/07 | 19,4 | 30 | 24,7 | 14 | 79 |
| 15/03/07 | 18,4 | 28,8 | 23,6 | 1 | 79 |
| 16/03/07 | 20,4 | 29,8 | 25,1 | 0 | 75 |
| 17/03/07 | 19 | 26,4 | 22,7 | 16,7 | 86 |
| 18/03/07 | 18 | 25,4 | 21,7 | 1 | 87 |
| 19/03/07 | 18,8 | 26 | 22,4 | 0 | 75 |
| 20/03/07 | 14,8 | 26,6 | 20,7 | 0 | 72 |
| 14/06/07 | 15,4 | 27,8 | 21,6 | 0 | 59 |
| 15/06/07 | 17,8 | 27,8 | 22,8 | 0 | 60 |
| 16/06/07 | 16,2 | 28,4 | 22,3 | 0 | 60 |
| 17/06/07 | 14,2 | 28,4 | 21,3 | 0 | 68 |
| 18/06/07 | 17 | 26,8 | 21,9 | 0 | 78 |
| 19/06/07 | 16 | 26,8 | 21,4 | 0 | 73 |
| 20/06/07 | 15,6 | 25,2 | 20,4 | 0 | 66 |
| 21/06/07 | 14,8 | 25,8 | 20,3 | 0 | 61 |

Fonte: Departamento de Ciências Ambientas – FCA – UNESP, Fazenda Lageado, Botucatu – SP.

Tabela 2. Porcentagem de larvas infectantes de *H. contortus* recuperadas do solo, fezes e capim, nas diferentes datas de colheitas, em relação ao número de larvas recuperadas das culturas controle, mantidas no laboratório. Colheitas realizadas sete dias após a deposição de amostras fecais de ovinos com larvas infectantes, em meio à pastagem de *B. decumbens*.

| | Controle | Solo | Fezes | Capim | Não recuperadas |
|----------|----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|---------------------|
| 22/09/06 | 100% (13880±1564) | 0,13% (17,80±4,3) | 2,91% (403,9±31,2) | 3,62% (503±109) | 93,34% (12955,7) |
| 20/12/06 | 100% (43216±2004) | 0,02% (8,85±1,8) | 0,12% (53,50±3,2) | 0,91% (392,4±67,1) | 98,95% (42769,2) |
| 20/03/07 | 100% (14298±548) | 0,01% (2,25±0,9) | 0,41% (58,25±7,4) | 0,42% (59,00±12,1) | 99,16% (14178,5) |
| 21/06/07 | 100% (32976±3487) | 0,75% (246,4±50,2) | 4,91% (1619±80,7) | 0,16% (54,7±4,4) | 94,18% (31055,9) |

Médias aritméticas do número total de larvas infectantes ± erro padrão, entre parênteses.

Tabela 3. Médias aritméticas (\pm erro padrão) do número de larvas infectantes de *H. contortus* recuperadas dos diferentes estratos do capim (0-10 cm, 10-20 cm e > 20 cm), nas quatro colheitas e nos diferentes horários, sete dias após a deposição de amostras fecais de ovinos com larvas infectantes, em meio à pastagem de *B. decumbens*.

| | Horários | 0-10 cm | 10-20 cm | >20 cm | Média Geral |
|-------------|------------|------------------|-------------------|-------------------|--------------------|
| 22/09/06 | 6h* | 177,1 \pm 49,5 | 245,0 \pm 57,8 | 251,8 \pm 53,3 | 224,6 \pm 23,8A |
| 22/09/06 | 12h | 28,4 \pm 4,0 | 69,2 \pm 21,8 | 114,2 \pm 35,9 | 70,6 \pm 24,8 B |
| 22/09/06 | 18h** | 118,9 \pm 46,3 | 161,1 \pm 36,9 | 181,4 \pm 67,1 | 153,8 \pm 18,4 A |
| 23/09/06 | 00h | 71,5 \pm 21,0 | 261,8 \pm 69,1 | 331,1 \pm 70,3 | 221,5 \pm 77,6 A |
| Média Geral | | 99,0 \pm 31,9a | 184,3 \pm 44,2b | 219,6 \pm 46,6b | |
| 20/12/06 | 6h05min* | 54,9 \pm 11,1 | 75,6 \pm 9,1 | 180,6 \pm 41,3 | 103,7 \pm 38,9AB |
| 20/12/06 | 12h | 34,6 \pm 11,4 | 68,9 \pm 17,6 | 254,8 \pm 57,3 | 120,8 \pm 67,6AB |
| 20/12/06 | 19h20min** | 40,2 \pm 7,5 | 78,0 \pm 11,4 | 472,5 \pm 72,7 | 197 \pm 138,0A |
| 21/12/06 | 00h | 22,2 \pm 4,7 | 74,0 \pm 23,3 | 213,3 \pm 39,6 | 103,2 \pm 57,1B |
| Média Geral | | 38,0 \pm 6,8a | 74,1 \pm 1,9b | 280,3 \pm 65,8c | |
| 20/03/07 | 6h10min* | 17,5 \pm 3,7 | 13,7 \pm 2,3 | 11,3 \pm 2,8 | 14,2 \pm 1,8AB |
| 20/03/07 | 12h | 39,8 \pm 9,9 | 32,4 \pm 11,8 | 16,5 \pm 4,2 | 29,6 \pm 6,9A |
| 20/03/07 | 18h10min** | 40,8 \pm 11,8 | 13,8 \pm 4,4 | 13,7 \pm 3,5 | 22,8 \pm 9,0AB |
| 21/03/07 | 00h | 13,0 \pm 3,8 | 12,9 \pm 5,0 | 10,5 \pm 3,7 | 12,1 \pm 0,8B |
| Média Geral | | 27,8 \pm 7,3a | 18,2 \pm 4,7ab | 13,0 \pm 1,3b | |
| 21/06/07 | 7h* | 26,5 \pm 9,0 | 13,1 \pm 3,1 | 10,3 \pm 7,5 | 16,5 \pm 5,0A |
| 21/06/07 | 12h | 40,4 \pm 10,2 | 21,6 \pm 8,3 | 4,8 \pm 2,1 | 22,3 \pm 10,3A |
| 21/06/07 | 17h40min** | 31,7 \pm 8,6 | 11,5 \pm 2,7 | 12,0 \pm 4,6 | 18,4 \pm 6,6A |
| 22/06/07 | 00h | 38,1 \pm 18,2 | 5,1 \pm 1,9 | 3,7 \pm 1,4 | 15,6 \pm 11,2A |
| Média Geral | | 34,2 \pm 3,1a | 12,8 \pm 3,4b | 7,7 \pm 2,0c | |

Letras minúsculas diferentes na linha e letras maiúsculas diferentes na coluna indicam que há diferença estatística significativa pelo Teste de Tukey ($P < 0,05$).

* Nascer do Sol; ** Pôr do Sol.

Tabela 4. Médias aritméticas (\pm erro padrão) do número de larvas infectantes por kg de matéria seca (L3/kg MS) de *H. contortus* recuperadas dos diferentes estratos do capim (0-10 cm, 10-20 cm e > 20 cm), nas quatro colheitas e nos diferentes horários, sete dias após a deposição de amostras fecais de ovinos com larvas infectantes, em meio à pastagem de *B. decumbens*.

| | Horários | 0-10 cm | 10-20 cm | >20 cm | Média Geral |
|-------------|------------|--------------------|---------------------|----------------------|----------------------|
| 23/09/06 | 6h* | 96795 \pm 27923 | 337660 \pm 104078 | 853103 \pm 348690 | 429186 \pm 223072A |
| 22/09/06 | 12h | 12650 \pm 2275 | 43654 \pm 11077 | 115731 \pm 35296 | 57345 \pm 30534B |
| 22/09/06 | 18h** | 62485 \pm 24644 | 165158 \pm 39398 | 255558 \pm 75441 | 161067 \pm 55773A |
| 23/09/06 | 00h | 40571 \pm 10936 | 190724 \pm 48312 | 693753 \pm 265465 | 308349 \pm 197517A |
| Média Geral | | 53125 \pm 17773a | 184299 \pm 60352b | 479536 \pm 175110c | |
| 20/12/06 | 6h05min* | 18825 \pm 4467 | 36860 \pm 5632 | 114050 \pm 23584 | 56578 \pm 29204A |
| 20/12/06 | 12h | 11779 \pm 4049 | 37252 \pm 8522 | 184457 \pm 58686 | 77829 \pm 53819A |
| 20/12/06 | 19h20min** | 12687 \pm 1677 | 32263 \pm 5553 | 231727 \pm 29057 | 92226 \pm 69979A |
| 21/12/06 | 00h | 7611 \pm 1575 | 46338 \pm 16032 | 153908 \pm 23180 | 69286 \pm 43763A |
| Média Geral | | 12726 \pm 2314a | 38178 \pm 2946a | 171035 \pm 24840b | |
| 20/03/07 | 6h10min* | 5974 \pm 1224 | 5588 \pm 914 | 8114 \pm 1725 | 6559 \pm 786A |
| 20/03/07 | 12h | 15146 \pm 3675 | 16343 \pm 5636 | 12141 \pm 3167 | 14543 \pm 1250A |
| 20/03/07 | 18h10min** | 15759 \pm 5015 | 8502 \pm 2723 | 9822 \pm 2295 | 11361 \pm 2232A |
| 21/03/07 | 00h | 5570 \pm 1766 | 6526 \pm 2159 | 7948 \pm 2686 | 6681 \pm 691A |
| Média Geral | | 10612 \pm 2799a | 9240 \pm 2444a | 9506 \pm 975a | |
| 21/06/07 | 7h* | 14901 \pm 4901 | 14115 \pm 3175 | 30253 \pm 25202 | 19756 \pm 5253A |
| 21/06/07 | 12h | 30960 \pm 9240 | 23581 \pm 8772 | 8255 \pm 4069 | 20932 \pm 6687A |
| 21/06/07 | 17h40min** | 19934 \pm 7297 | 11160 \pm 2220 | 19930 \pm 7285 | 17008 \pm 2924A |
| 22/06/07 | 00h | 21503 \pm 10987 | 4459 \pm 2051 | 5349 \pm 1962 | 10437 \pm 5539A |
| Média Geral | | 21824 \pm 3355a | 13329 \pm 3970a | 15947 \pm 5715a | |

Letras minúsculas diferentes na linha e letras maiúsculas diferentes na coluna indicam que há diferença estatística significativa pelo Teste de Tukey ($P < 0,05$).

* Nascer do Sol; ** Pôr do Sol.

APÊNDICE DO CAPÍTULO 2

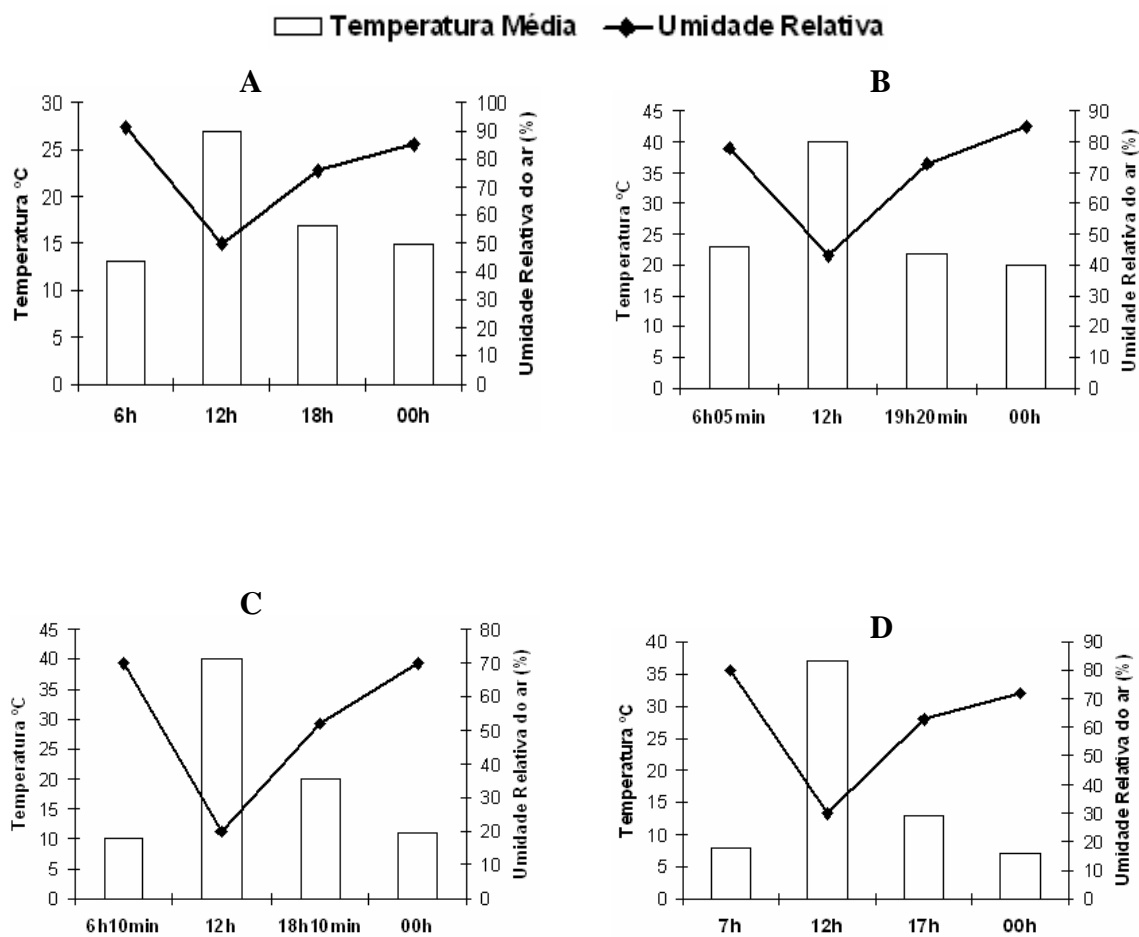


Figura 1. Temperaturas médias e umidade relativa do ar, aferidas sobre o solo, no dia e no local da realização do experimento, nas colheitas de (A) setembro de 2006, (B) dezembro de 2006, (C) março de 2007 e (D) junho de 2007.

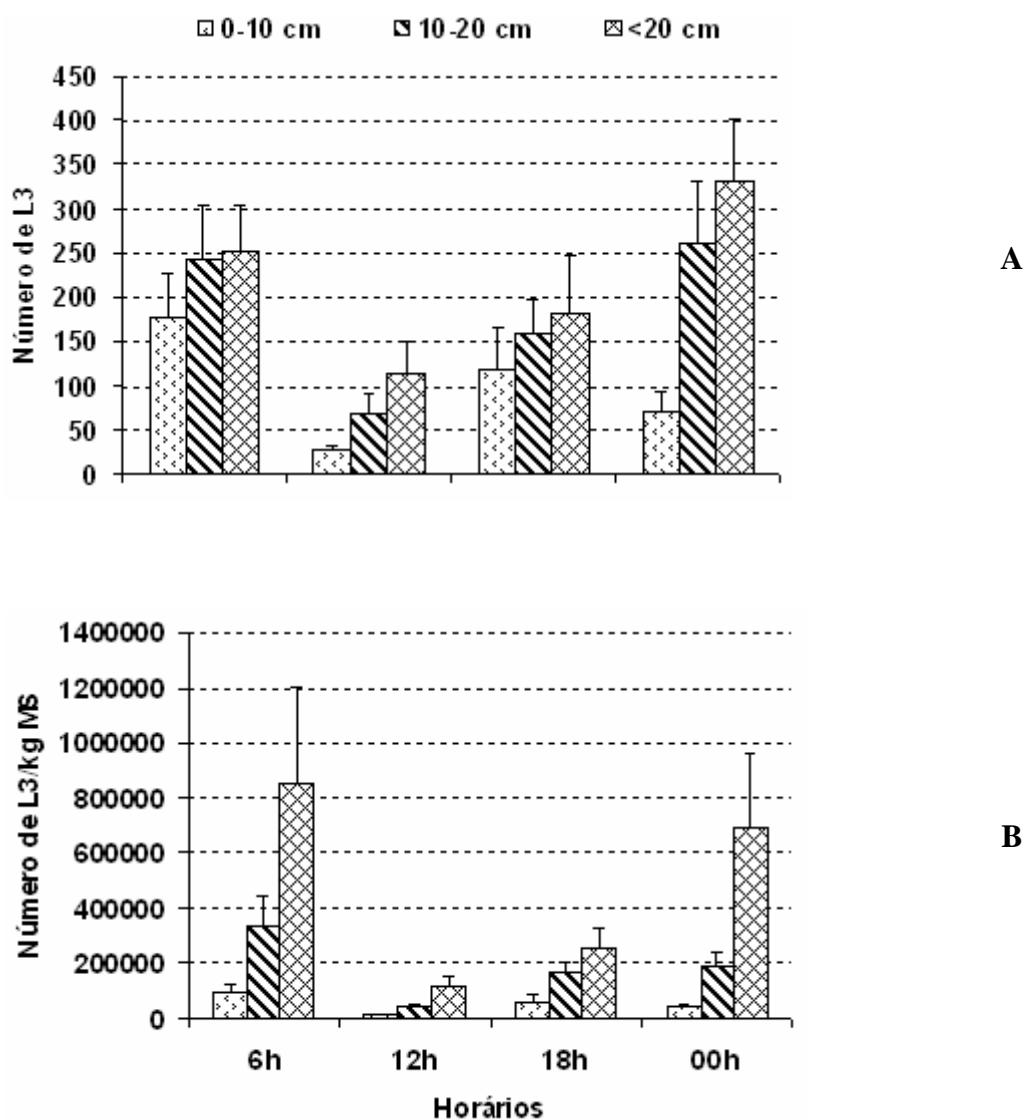
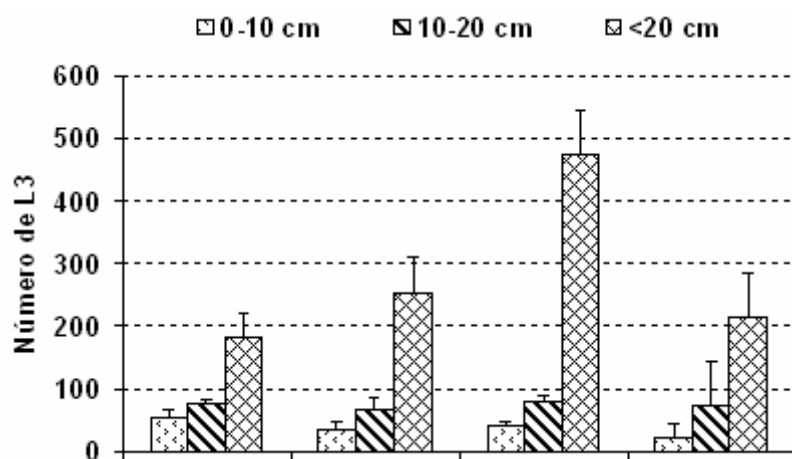
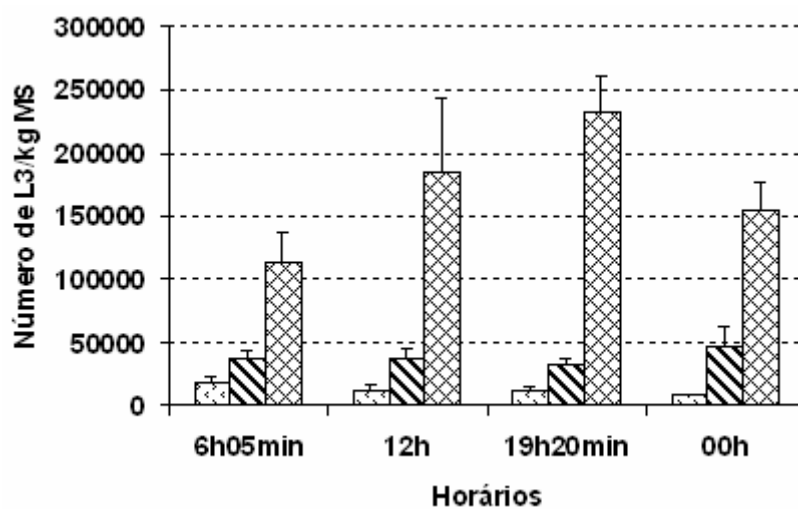


Figura 2. (A) Médias aritméticas do número de larvas infectantes de *Haemonchus contortus* recuperadas dos diferentes estratos do capim *Brachiaria decumbens* e (B) do número de larvas infectantes por quilo de matéria seca de forragem (L3/kg MS) na colheita de setembro de 2006. Barras: erro padrão.

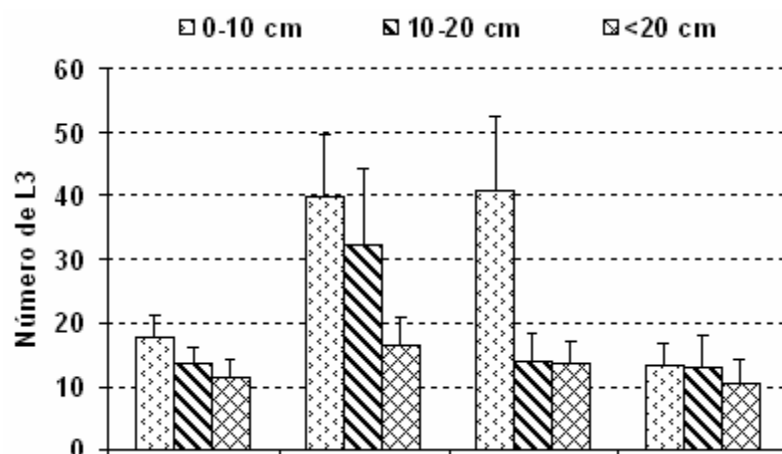


A

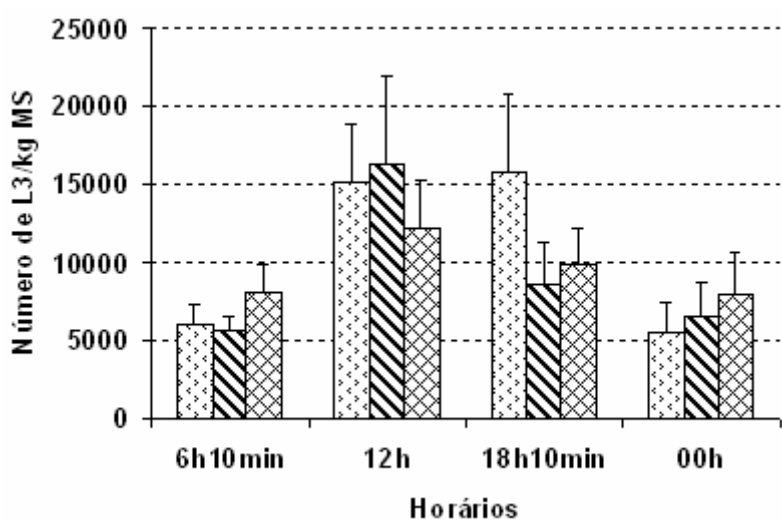


B

Figura 3. (A) Médias aritméticas do número de larvas infectantes de *Haemonchus contortus* recuperadas dos diferentes estratos do capim *Brachiaria decumbens* e (B) do número de larvas infectantes por quilo de matéria seca de forragem (L3/kg MS) na colheita de dezembro de 2006. Barras: erro padrão.



A



B

Figura 4. (A) Médias aritméticas do número de larvas infectantes de *Haemonchus contortus* recuperadas dos diferentes estratos do capim *Brachiaria decumbens* e (B) do número de larvas infectantes por quilo de matéria seca de forragem (L3/kg MS) na colheita de março de 2007. Barras: erro padrão.

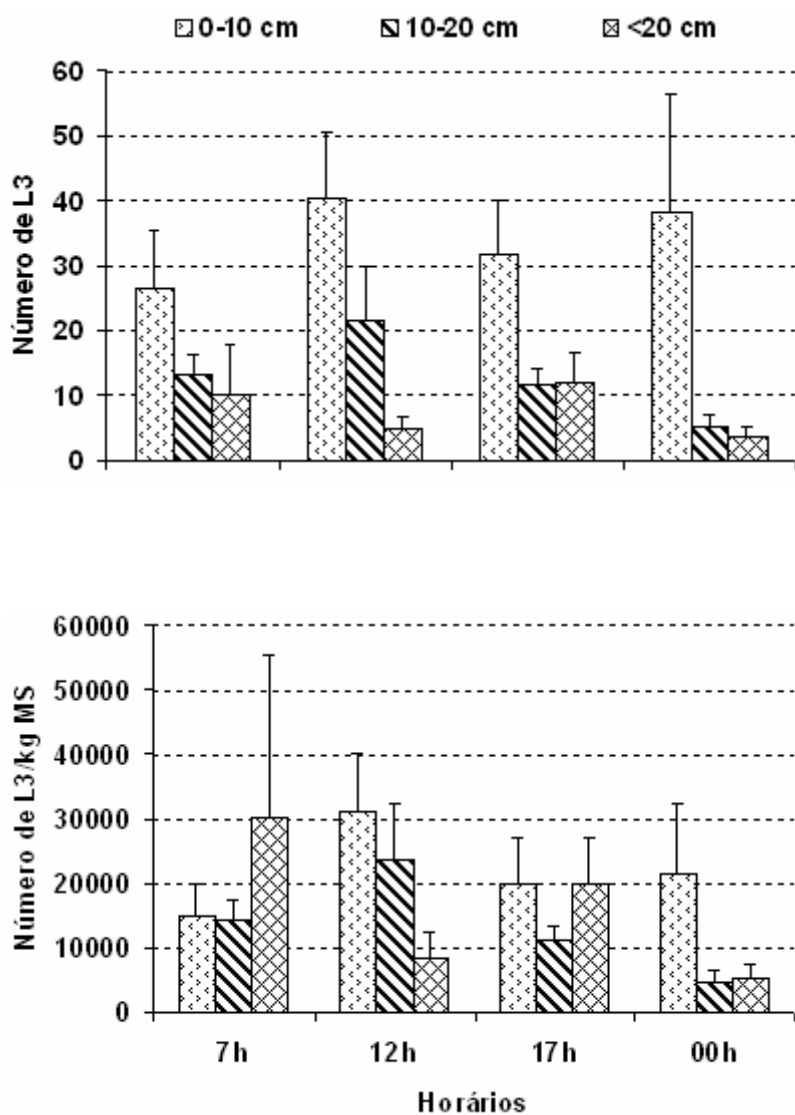


Figura 5. (A) Médias aritméticas do número de larvas infectantes de *Haemonchus contortus* recuperadas dos diferentes estratos do capim *Brachiaria decumbens* e (B) do número de larvas infectantes por quilo de matéria seca de forragem (L3/kg MS) na colheita de junho de 2007. Barras: erro padrão.