

DESENVOLVIMENTO E ECLOSÃO DE OVOS DE QUATRO ESPÉCIES
DE NEMATÓDEOS GASTRINTESTINAIS DE BOVINOS

TESE

Apresentada ao Decanato de Pesquisa e Pós-graduação
da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
para obtenção do grau de Mestre em Ciências
na Área de Parasitologia Veterinária

GEDALIA SOUSA DA SILVA MARQUES

Rio de Janeiro

1982

"ENTREGA O TEU CAMINHO AO SENHOR, CONFIA NELE E ELE TUDO FARÁ"

SALMOS 37:5

ORIENTADOR:

Prof. Dr. MICHAEL ROBIN HONER

D E D I C O

À DEUS, por tudo que sou

À meus pais pelo apoio e dedicação

À meus irmãos pelo carinho

À meu esposo, companheiro fiel e dedicado
pela compreensão

À minha filha ANNE MARCELLE como justificativa pela minha ausência no seu primeiro ano de vida.

À memória da minha avó MARIA ALVES DE SOUZA

PROF. LUIZ R. TAVARES DE MACEDO

"In Memoriam"

pelos incentivos iniciais para a realização deste curso e a confiança em nós depositada.

B I O G R A F I A

GEDALIA SOUSA DA SILVA MARQUES, filha de Josias Castro da Silva e Míriam Souza da Silva, natural do Rio de Janeiro, concluiu o curso primário no Grupo Escolar "Dr. Manoel Pereira Reis", o curso secundário no Colégio Iguaçuano "Nova Iguaçu", e o curso normal no Instituto de Educação de Nova Iguaçu, Rio de Janeiro.

Em março de 1972, ingressou no curso de Medicina Veterinária na Universidade Federal Fluminense, graduando-se em dezembro de 1976.

Foi contratada em março de 1977, como professora Colaboradora à nível de Auxiliar de Ensino, pela Universidade Federal Fluminense, para o Departamento de Microbiologia e Parasitologia na área de Parasitologia, passando a professora Assistente nível I, em 1981.

Em janeiro de 1980 ingressou no curso de pós-graduação em Medicina Veterinária - Parasitologia Veterinária da Uni-

versidade Federal Rural do Rio de Janeiro, à nível de Mestrado sendo bolsista do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

AGRADECIMENTOS

Ao Dr. MICHAEL ROBIN HONER, Professor Adjunto e Coordenador do Curso de Pós-Graduação em Parasitologia Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (U.F.R.R.J.), orientador desta tese, pela ajuda prestimosa, incentivo constante e a confiança em nós depositada no decorrer de todo o desenrolar deste trabalho, pelo clima amigável e confortador proporcionado para a conclusão do mesmo;

ao Prof. JOSÉ OTTILIO LEITE MACHADO, Diretor do Instituto Biomédico da Universidade Federal Fluminense, Titular da disciplina de Parasitologia, que nos apoiou na realização deste curso, proporcionando o tempo necessário para a conclusão do mesmo;

ao Prof. HUGO EDISON BARBOZA DE REZENDE, Decano de Pesquisa e Pós-Graduação da U.F.R.R.J., pela compreensão e apoio durante a realização do curso e desta pesquisa;

ao Dr. NICOLAU MAUÉS DA SERRA FREIRE, Coordenador da

Estação para Pesquisas "W.O. Neitz", pelas sugestões apresentadas;

à Prof^a. MARIA DE LURDES DE AZEVEDO RODRIGUES, Assistente do Departamento de Biologia Animal, Área de Parasitologia da UFRRJ, pelos conhecimentos transmitidos;

ao Dr. CARLOS WILSON GOMES LOPES, Professor Adjunto, pela presteza que sempre nos atendeu;

à ITACY DA SILVA, Secretária do Departamento de Microbiologia e Parasitologia da UFF, pela amabilidade e incentivo durante o curso e a mecanografia preliminar do texto;

aos amigos TEREZINHA, MILZE e JACQUES, funcionários do Departamento de Microbiologia e Parasitologia da UFF, pelo auxílio datilográfico no decorrer do curso;

ao GEOVAN BARROS DOS SANTOS, Secretário da Área de Parasitologia da UFRRJ, pela mecanografia definitiva do texto;

aos professores do Curso de Pós-Graduação em Parasitologia Veterinária da UFRRJ, pelos ensinamentos transmitidos, minha gratidão;

à todos os colegas do Curso de Pós-Graduação, em especial a ARLINDO LUIS DA COSTA, ANTONIO AUGUSTO BECK, MARIA DA CONCEIÇÃO ZOCOLLER, RONALD GUIMARÃES, JOSÉ MARIO D'ALMEIDA e WILMA APARECIDA STARKE, pela amizade profunda nas horas difíceis;

aos funcionários da secretaria, da Estação para Pesquisas "W.O. Neitz" e aos laboratoristas da Área de Parasitolo-

gia da UFRRJ, pela atenção dispensada;

a todos que direta e indiretamente contribuíram para que este trabalho se tornasse realidade.

Este trabalho está dentro do projeto "PARASITISMO EM BOVINOS DE LEITE DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO: EPIDEMIOLOGIA; IMPORTÂNCIA E CONTRÔLE" da Área de Parasitologia da UFRRJ, desenvolvido sob os auspícios do CNPq no Programa Nacional de Pesquisa e Saúde Animal (PRONAPESA).

Í N D I C E

I.	INTRODUÇÃO	1
II.	REVISÃO DE LITERATURA	4
	A. RELAÇÃO DO VOLUME DO OVO E O SEU DESENVOLVIMENTO	4
	B. DIMENSÕES DE OVOS DE NEMATÓDEOS GASTRINTESTINAIS	6
	C. DESENVOLVIMENTO DE OVO EM CONDIÇÕES AMBIENTAIS E CONTROLADA	7
III.	MATERIAL E MÉTODOS	11
	A. MATERIAL	11
	1. Local	11
	2. Animais	11
	B. MÉTODOS	12
	1. Coleta	12
	2. Obtenção dos ovos	12
	2.1. Cultura "pura"	12
	2.2. Cultura "mista"	13

C.	CÁLCULOS	15
D.	CLASSIFICAÇÃO DAS FASES DE DESENVOLVIMENTO DOS OVOS	15
IV.	RESULTADOS	17
A.	VOLUME DOS OVOS	17
B.	ESTUDO DA DINÂMICA DE DESENVOLVIMENTO DE OVOS DE C. <i>punctata</i> , H. <i>contortus</i> , B. <i>phlebotomun</i> e O. <i>radiatum</i> , OBTIDOS DA DISSECÇÃO DE FÊMEAS PRE- VIAMENTE IDENTIFICADAS	19
1.	<i>Cooperia punctata</i>	19
2.	<i>Haemonchus contortus</i>	20
3.	<i>Bunostomum phlebotomum</i>	21
4.	<i>Oesophagostomum radiatum</i>	22
C.	ESTUDO DA DINÂMICA DE DESENVOLVIMENTO DE OVOS EM CULTURAS MISTAS OBTIDAS SEGUNDO A TÉCNICA DE WHITLOCK, MODIFICADA POR RODRIGUES (1980)	22
V.	DISCUSSÃO	66
A.	MENSURAÇÃO DOS OVOS	66
B.	MUDANÇA NO VOLUME DOS OVOS EM CONDIÇÕES DO MEIO AMBIENTE	69
C.	OCORRÊNCIA DE ECLSAO DOS OVOS	70
D.	ECLOSÃO DOS OVOS: AVALIAÇÃO DOS RESULTADOS	74
E.	EPIDEMIOLOGIA DAS INFECÇÕES AVALIAÇÃO DOS RESUL- TADOS	77

VI.	CONCLUSÕES	79
VII.	RESUMO	81
VIII.	SUMMARY	82
IX.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	83

I. INTRODUÇÃO

Em geral os ruminantes domésticos adquirem infecções por nematódeos gastrintestinais, durante o pastejo ingerindo larvas infectantes que se deslocam na superfície das plantas forrageiras. A contaminação das pastagens é mantida pelos animais adultos com infecções subclínicas, os quais continuamente eliminam ovos de nematódeos com as fezes.

Em termos epidemiológicos, GORDON (1948), todo animal do rebanho deve ser considerado parasitado e toda a pastagem deve ser considerada contaminada. Sendo o desencadeamento da sintomatologia clínica o resultado da interação parasito-hospedeiro.

A incidência das várias espécies de nematódeos e a intensidade do parasitismo nos ruminantes de interesse econômico dependem principalmente das condições climáticas e meteorológicas que favorecem o desenvolvimento e a sobrevivência dos estágios pré-parasitários dos nematódeos nas pastagens. Geralmente,

as condições mais favoráveis para a manutenção das helmintoses são encontradas nas regiões em que coincidem temperatura e umidade elevadas. Assim, como exemplo, as áreas intertropicais úmidas oferecem melhores condições para o desenvolvimento dos ovos e larvas de nematódeos nas pastagens e maiores facilidades de infecção para os hospedeiros, enquanto regiões de clima árido com precipitações pluviométricas reduzidas são pouco propícias ao desenvolvimento de ovos dos nematódeos gastrintestinais, devido ao baixo percentual de umidade nas pastagens, o qual também é um fator altamente relevante no desenvolvimento e sobrevivência das larvas, como também em regiões onde as estações climáticas de chuva e estiagem são bem definidas, a sobrevivência no meio ambiente é favorecida pela umidade durante a estação chuvosa.

Muitos trabalhos experimentais sobre o desenvolvimento e sobrevivência dos estágios pré-parasitários, foram realizados, a maioria preocupando-se com fatores determinantes da eclobilidade dos ovos. Podemos citar por exemplo: DINABURG (1944); GORDON (1948), CROFTON & WHITLOCK (1965c), WALLER & DONALD (1970), TODD, LEVINE & BOATMAN (1976), WALLER & DONALD (1972) etc.

No entanto, a literatura, mostra que outro fator importante é o tamanho do ovo (volume, área de superfície, razão v/a) como estudos feitos por CROFTON & WHITLOCK (1965b), CROFTON (1965), WALLER & DONALD (1970) & LE JAMBRE & WHITLOCK (1973).

Os trabalhos dos autores acima citados foram feitos principalmente em áreas temperadas e frias como: Inglaterra, E.U.A. (New York), Nova Zelândia e Austrália Sul, ou em áreas tropicais e subtropicais como: Nigéria, África do Sul, Índia, Kentucky, Flórida e norte da Austrália.

Dos poucos trabalhos já realizados sobre o referido assunto em nossas condições climáticas, podemos citar os estudos realizados por BRAGA (1980), SOARES (1980) e RODRIGUES (1980), dos quais, sabemos que a sobrevivência de larvas de diversas espécies de nematódeos em nossa área, difere das observações em outras áreas do mundo.

Motivados por estas discrepâncias, propusemos desenvolver o presente trabalho, adaptado as nossas condições locais com os objetivos de:

1. Estudar a relação volume/área de superfície dos ovos, para cada uma das quatro espécies de nematódeos encontradas naturalmente nos animais utilizados nos experimentos;
2. estudar o desenvolvimento dos ovos em todas as fases até a eclosão em condições controladas e meio ambiente;
3. fornecimento de dados para que estes sirvam de subsídios na formação de um modelo de desenvolvimento e sobrevivência média esperada, a fim de serem testados à níveis de campo.

II. REVISÃO DE LITERATURA

A. RELAÇÃO DO VOLUME DO OVO E O SEU DESENVOLVIMENTO

CROFTON & WHITLOCK (1965b), estudaram a significância biológica da temperatura sobre o tempo de eclosão dos ovos de nematódeos de ovinos. Das espécies mais comuns foram estudadas cepas provenientes de várias áreas, com o objetivo de serem observadas as diferenças existentes entre as reações ecológicas. A partir dos resultados obtidos foram elaboradas curvas para o tempo mínimo de eclosão em cada temperatura.

A similaridade das curvas para as diferentes espécies e a precisão com que elas previam o tempo necessário para a eclosão a qualquer temperatura, permitiram aos autores a elaboração de um modelo matemático. Um resultado importante desta análise, foi a observação de uma relação linear, entre o volume de um ovo e o tempo necessário para chegar ao ponto de eclosão.

Em um trabalho posterior CROFTON & WHITLOCK (1965c), estudaram com maiores detalhes a relação entre o volume de um ovo e o tempo necessário de eclosão, utilizando a técnica da fotografia, que consistia na incubação dos ovos em condições controladas e sendo fotografadas e medidas em cada estágio embrionário. Os autores provaram com isso que o volume de um ovo determina o tempo necessário para a eclosão e que os ovos menores de uma população, determina o parâmetro chave para a rapidez do desenvolvimento e a eclosão em geral.

BIRD (1971), afirmou que independente do tamanho da fêmea em estado adulto, os ovos de nematódeos na maioria das espécies medem de 50 - 90 micras de comprimento por 21 - 47 micras de largura. No entanto existem grandes variações entre os ovos das diferentes espécies, o que, segundo o autor torna muito difícil a identificação precisa das espécies através dos mesmos

LE JAMBRE & WHITLOCK (1973), continuaram os estudos sobre o desenvolvimento de ovos, concentrando-se sobre as formas polimórficas de *Haemonchus contortus cayugensis*, observando que os diferentes tipos possuíam exigências diferentes em termos de temperatura ótima e faixa de tolerância.

Concluíram que os ovos menores tem um desenvolvimento mais rápido, devido a menor quantidade de informação a ser processada nestes. Existe no entanto um volume mínimo, abaixo do qual os ovos não se desenvolvem.

B- DIMENSÕES DE OVOS DE NEMATÓDEOS GASTRINTESTINAIS

Segundo SHORB (1939), o exame de fezes recém coletadas permite a diferenciação dos ovos de espécies diferentes de nematódeos gastrintestinais de ruminantes com base em caracteres morfológicos de forma, tamanho, pigmentação e estágio de desenvolvimento. Mais tarde este autor (SHORB, 1940) admitiu que para a identificação precisa das espécies de nematódeos era necessário o prévio conhecimento do hospedeiro e da distribuição geográfica das espécies associada aos caracteres por ele enfatizados em 1939.

Por outro lado TETLEY (1941) concluiu haverem diferenças significativas entre as medidas de ovos de *H. contortus* obtidos através do processo de dissecação do útero de fêmea e os recolhidos após oviposição, quando analisados estatisticamente.

Medindo e fotografando ovos de várias espécies de nematódeos de ruminantes domésticos, KATES & SHORB (1943) diagnosticaram as helmintoses mais comuns nos ovinos. Estes autores fotografaram ovos de 14 espécies de nematódeos no estágio típico como ocorrem nas fezes, descrevendo minuciosamente em seus vários estádios de desenvolvimento para cada espécie.

Baseados no tamanho, forma e caracteres da casca já descritos, KRUG & MAYHEW (1949), identificaram ovos das espécies de nematódeos gastrintestinais de ocorrência mais frequente e de grande importância econômica, confirmando assim a presença de quatro espécies: *Cooperia punctata*, *H. contortus*, *O.*

radiatum e *B. phlebotomum*.

CUNLIFFE & CROFTON (1954), trabalhando com nematódeos de ovinos, fizeram a mensuração de ovos de várias espécies de helmintos; foram medidos o comprimento e a largura dos ovos de: *Haemonchus contortus*, *Cooperia curticei*, *Trichostrongylus axei*, *Trichostrongylus vitrinis*, *Bunostomum trigonocephalum*, *Chabertia ovina*, *Oesophagostomum venulosum* e *Ostertagia* spp.

A frequência de distribuição das dimensões de ovos de cada espécie foi calculada e utilizada na elaboração de uma escala para a identificação, notando que as classes de identificação não são absolutas. O método de diferenciação de espécies baseado sobre a mensuração dos ovos é descrito em termos da variância estatística dos ovos de diferentes espécies.

CHRISTIE & JACKSON (1982) desenvolveram as técnicas de CUNLIFFE & CROFTON (1953), acoplando um computador ao microscópio para obtenção de gráficos imediatos das dimensões dos ovos. Mesmo assim, as elipses com 50% de distribuição mostraram bastante superposição, sendo que o tempo de desenvolvimento do ovo e a larvacultura ainda são importantes para identificar infecções ante-mortem. Os gráficos apresentados pelos autores são em termos de diversas fases de desenvolvimento dos ovos, e as observações dos autores aparentemente não confirmam que são os ovos menores que se desenvolvem primeiro.

C. DESENVOLVIMENTO DE OVOS EM CONDIÇÕES AMBIENTAIS E CONTROLADAS

VEGLIA (1915), descrevendo a anatomia e o ciclo de vi-

da de *H. contortus* usou a metodologia da oviposição das fêmeas grávidas em água tépida, incubou os ovos em estufa a $\pm 30^{\circ}\text{C}$, e após 24 horas obteve larvas de 1° estágio.

MONNIG (1926), também usando a mesma temperatura 30°C , encontrou o tempo mínimo para obtenção de larvas de 1° estágio com 18 horas para a espécie de *Trichostrongylus instabilis*.

Em (1939) ANDREWS, repetindo o experimento de VEGLIA, (1915) para *C. curticei*, verificou que o tempo necessário para o desenvolvimento do ovo até a larva de 1° estágio foi de 20 horas.

GOLDBERG (1915) estudou o ciclo de *O. venulosum* e concluiu que para o desenvolvimento de ovo até larva de 1° estágio em condições ambientais eram necessárias 24 horas.

Já em 1959 SILVERMAN & CAMPBELL, estudaram o desenvolvimento embrionário e larval de *H. contortus* sob várias temperaturas constantes tais como: $0,0^{\circ}\text{C}$, $11,0^{\circ}\text{C}$, $14,4^{\circ}\text{C}$, $21,7^{\circ}\text{C}$, $37,0^{\circ}\text{C}$ e com diferentes umidades relativas. Os autores fizeram observações sobre as variações ocorridas em quatro gêneros, sendo os mesmos: *Ostertagia*, *Trichostrongylus*, *Oesophagostomum* e *Haemonchus* sendo que, se detiveram com mais detalhes na espécie *H. contortus*. Os autores concluíram que o comportamento dos ovos durante as fases de desenvolvimento poderia ser de três formas:

1. Desenvolverem-se em diferentes proporções;
2. exibirem estágios intermitentes de desenvolvimento

ativo e inibido;

3. falharem no desenvolvimento e morrerem em algum estágio de causa desconhecida. Entretanto em observações laboratoriais como em condições ao nível de campo, *H. contortus* requer um período acima de duas semanas para o desenvolvimento de ovo até o 3º estágio larval.

ISENSTEIN (1963) obteve larvas de 1º estágio de *C. onchophora* em dezesseis horas e meia durante o estudo do ciclo de vida, manuseando a amostra em estufa a 30°C.

CROFTON (1965) estudou a ecologia e a biologia de nematódeos de ovinos, observando os efeitos da temperatura sobre o desenvolvimento e eclosão dos ovos das seguintes espécies de nematódeos: *H. contortus*, *Ostertagia circumcincta*, *Trichostrongylus axei*, *T. vitrinis*, *C. curticei*, *C. onchophora*, *B. trigonocephalum*, *Chabertia ovina* e *O. venulosum*.

O autor registrou resultados referentes ao tempo mínimo de cada eclosão para cada espécie mencionada, relacionando-as com as temperaturas utilizadas.

Em (1970) WALLER & DONALD, trabalharam com *T. colubriformis* e *H. contortus*, fazendo a separação dos ovos das fezes, observando que, a maioria dos ovos de *T. colubriformis* em todos os estágios de desenvolvimento sobreviveram a dessecação durante um período mínimo, ao passo que os ovos de *H. contortus* quando submetidos a longas exposições à dessecação, apresentaram um período de sobrevivência muito maior.

Mais tarde, estes mesmos autores (WALLER & DONALD, 1972), estudaram os efeitos da mudança de temperatura e o "deficit" de saturação sobre a sobrevivência de ovos de *T. colubriformis*, concluindo que os ovos já larvados tem um tempo de sobrevivência muito maior do que aqueles em fase preliminar de desenvolvimento.

AHLUWALIA & CHARLESTON (1974), fizeram estudos sobre o desenvolvimento do estágio de vida livre de *C. curticei* a partir de observações do desenvolvimento de ovos incubados à temperaturas de 6°C, 10°C, 15°C, 20°C, 27°C, 32°C e 42°C, sendo constatado o tempo mínimo para a evolução das fases até a eclosão.

A temperatura mínima ideal para o desenvolvimento encontrada foi de 10°C. Com base nesta informação os autores concluíram que com a temperatura de 10°C para 37°C, a taxa de desenvolvimento crescia logaritmicamente, de acordo com o aumento da temperatura.

KHAM & DORSMAN (1978) estudaram o desenvolvimento larvar de *C. curticei*, a temperaturas constantes de 27°C e 37°C e concluíram ser esta a faixa de melhor desenvolvimento para a espécie citada.

III. MATERIAL E MÉTODOS

A. MATERIAL

I. Local

Os trabalhos foram desenvolvidos na Estação para Pesquisas "W.O.Neitz", do curso de pós-graduação em Parasitologia Veterinária e nos laboratórios deste curso, no Departamento de Biologia Animal do Instituto de Biologia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, km 47, Rodovia Rio São Paulo, Itaguaí, RJ.

2. Animais

Foram utilizados bovinos mestiços (*Bos taurus* X *Bos indicus*) procedentes dos municípios de Vassouras, RJ e Lorena, SP, principalmente animais jovens, portadores de infecções naturais, sendo que estes, foram animais "traçadores" utilizados em outros experimentos.

Esses animais, apresentaram infecções por quatro espécies de nematódeos gastrintestinais: *Cooperia punctata* (v. Linstow, 1907); *Oesophagostomum radiatum* (Rudolphi, 1803); *Haemonchus contortus* (Rudolphi, 1803) e *Bunostomum phlebotomum* (Raillet, 1900).

B. MÉTODOS

1. Coleta

Os experimentos dividiram-se em duas fases:

a) Observações do desenvolvimento de ovos obtidos através da dissecação de fêmeas previamente identificadas;

b) observações do desenvolvimento de ovos obtidos através de amostras fecais retiradas diretamente da ampola retal de animais naturalmente infectados.

Neste trabalho foram usadas denominações específicas para:

a) Cultura "pura" = ovos resultantes da dissecação de fêmeas;

b) cultura "mista" = ovos resultantes de amostras fecais frescas.

2. Obtenção dos ovos

2.1. Cultura "pura"

Foi obtida de fêmeas de nematódeos gastrintestinais de bezerros recém-abatidos. Estas foram colocadas em placas de Petri com o diâmetro aproximado de 5 cm, contendo solu-

ção fisiológica. Em seguida os nematódeos foram identificados utilizando a chave de YAMAGUTI (1961) e logo após dissecados, sendo obedecidas as normas de dissecção.

a. Dissecção

Com o auxílio de um estilete de ponta curva, foi fixado a extremidade anterior do helminto, e com o estilete de ponta reta foi cortado a extremidade posterior do mesmo, liberando deste modo o útero.

Retirou-se da placa todos os resíduos resultantes deste processo, com a finalidade de evitar qualquer tipo de interferência no desenvolvimento dos ovos. Em seguida foi rompido o útero com o emprego de estiletos, para liberação dos ovos.

b. Incubação

Os ovos foram então separados em grupos e colocados em lâminas escavadas contendo solução fisiológica. Cada lâmina escavada possuía em média 80 a 100 ovos. Estas lâminas foram incubadas em temperaturas variadas com o percentual de umidade relativa constante (100%UR).

Para cada espécie estudada foram feitas 5 (cinco) lâminas ou placas de Petri para cada temperatura com o objetivo de se comparar e analisar os resultados obtidos.

As temperaturas, utilizadas foram: 4°C, 12°C, 18°C, 25°C, 28°C, 39°C e 40°C, como também temperatura do meio ambiente.

2.2. Cultura "mista"

Para a obtenção deste, foi utilizada a técnica de

WHITLOCK (1959) modificada por RODRIGUES (1980). Os ovos foram colocados em placas de Petri com o diâmetro aproximado de 5cm e submetidos a temperatura, umidade relativa e tempo, semelhantes ao processo descrito anteriormente da cultura "pura", com a exceção do não reconhecimento prévio das espécies, pois a identificação precisa foi feita anteriormente ao experimento através da larvacultura.

Os resultados obtidos dos experimentos da cultura "mista" foram comparadas com os da cultura "pura" e feitos os devidos confrontos.

Incubação

Foram incubados aproximadamente 100 ovos de cada espécie encontrada em nossos experimentos, para cada temperatura sendo as mesmas de 4°C, 12°C, 18°C, 25°C, 28°C, 39°C e 40°C e feitas as observações preliminares de 2 em 2 horas em cada temperatura durante 24 horas, com a finalidade de avaliar o tempo necessário para cada espécie.

No experimento seguinte o intervalo entre as observações foi de 4 horas durante 24 horas, e nos experimentos subsequentes o espaço entre as observações foi aumentado para 6 horas até a eclosão da 1ª larva.

Este processo foi utilizado tanto para a cultura "pura" como para a cultura "mista", com exceção das espécies: *Oesophagostomum radiatum* e *Bunostomum phlebotomum*, cujos ovos não foram encontrados nas culturas "mistas".

As culturas no meio ambiente foram observadas com os

mesmos intervalos como nos experimentos em temperaturas controladas.

C. CÁLCULOS

Para a efetuação dos cálculos foi feita mensuração dos ovos em cada estágio de desenvolvimento, sendo medidos a largura e o comprimento de cada um, com a finalidade de se obter o volume total de cada ovo.

a. Mensuração

A mensuração dos ovos foi facilitada com o uso de uma escala de projeção com micrômetro objetivo e câmara clara, com isto as imagens dos ovos foram projetadas pela mesma, sobre a escala previamente elaborada, favorecendo assim, a leitura das medidas.

b. Cálculos

Para o cálculo do volume nos valemos da fórmula $V = \frac{4}{3} \pi ab^2$ onde $a =$ eixo principal e, $b =$ semi eixos. No caso onde $b = a$ temos $V = \frac{4}{3} \pi a^3$, que é o volume de uma esfera.

D. CLASSIFICAÇÃO DAS FASES DE DESENVOLVIMENTO DOS OVOS

Os ovos foram identificados segundo a classificação de WALLER & DONALD (1970) nas fases de gástrula, mórula, "tadpole" (girino) e "prehatch" (pré-eclosão), ou E_1 , E_2 , E_3 e E_4 na terminologia destes autores. Optamos para distinguir as quatro fases apresentadas nas Figuras 32 e 33 sendo menos precisa do que

as doze categorias descritas por VON EHRENSTEIN & SCHIERENBERG (1980), mas mais fácil a ser identificadas durante os experimentos. CHRISTIE & JACKSON (1982), também simplificaram as categorias para somente seis. Nós acreditamos que as diferenças entre as fases C, D e D', destes autores não sejam suficientemente diferentes para serem usadas em nossa pesquisa.

Em cada experimento as placas foram examinadas e todos os ovos classificados nessas fases ou identificados como "parados provavelmente mortos", como foi feito por LEJAMBRE & WHITLOCK (1972) e CHRISTIE & JACKSON (1982).

IV. RESULTADOS

A. VOLUME DOS OVOS

Nas Tabelas 1 a 4 são apresentados os volumes médios dos ovos para as quatro espécies de origem bovina estudadas (*C. punctata*, *H. contortus*, *B. phlebotomum* e *O. radiatum*) em diversas condições experimentais.

Foram feitos cálculos dos níveis de significância entre as quatro fases para cada espécie em cada condição ambiental. Estes resultados são dados na Tabela 5, χ^2 (qui-quadrado).

Na Tabela 6 são dadas as diferenças relativas entre os volumes, para cada fase e em cada condição experimental.

Observamos grande variabilidade nestes resultados, que não ocorrem na sequência mórula>gástrula>tadpole>prehatch, na maioria dos casos. No entanto, dos 19 experimentos apresentados na Tabela 6. podemos notar que a fase "prehatch" é menor pelo menos seis vezes que a fase anterior. Os resultados para as espéci-

es *B. phlebotomum* e *O. radiatum* exibem semelhanças entre si e diferenças significativas quando comparadas com resultados de *C. punctata* e *H. contortus*. Estas diferenças ficam mais claras nas Figuras 1, 2, 3 e 4, onde estão representados os volumes dos ovos para cada espécie, fase de desenvolvimento e condição experimental. Na Figura 1. *C. punctata*, observamos que os ovos na fase de "prehatch" em 18°C (2 vezes) e 25°C são menores ou muito menores em volume do que àqueles em fase "tadpole" enquanto que no caso de meio ambiente (uma vez) o volume das médias dos ovos em fase de "prehatch" aumentou consideravelmente, influenciando assim a curva média. Na Figura 2. (*H. contortus*) observamos a mesma variabilidade com as curvas para 18°C, meio ambiente (uma vez) com o volume dos ovos na fase de "prehatch" menor do que o mesmo na fase de "tadpole". As outras curvas contrariam esta tendência ou são incompletas, pelo que os ovos não alcançam a fase de "prehatch" à temperatura de 4°C e 12°C.

Na Figura 3 (*B. phlebotomum*) observamos que as formas em "prehatch" não foram obtidas em número suficiente nas quatro condições diferentes ou meio ambiente, para que fossem feitos cálculos confiáveis de volume, mas que o mesmo na fase "tadpole" parece estar relacionado com a temperatura, sendo menor à 4°C e aumentando até 18°. Os ovos em condições do meio ambiente estão em posição intermediária. Na verdade, os poucos ovos obtidos em fase "prehatch" com 18°C e m.a. foram muito grandes.

Na Figura 4 (*O. radiatum*) podemos observar que as curvas para os ovos em desenvolvimento no meio ambiente, com exceção

de m.a₂, *H. contortus* exibem a tendência de ter maior volume para a fase de "prehatch" do que as fases anteriores.

B. ESTUDO DA DINÂMICA DE DESENVOLVIMENTO DE OVOS DE *C. punctata*, *H. contortus*, *B. phlebotomum* e *O. radiatum*, OBTIDOS DA DISSECÇÃO DE FÊMEAS PREVIAMENTE IDENTIFICADAS

1. *Cooperia punctata*

Nas Figuras 5 a 9, estão representadas as dinâmicas de desenvolvimento de ovos nas fases de mórula, gástrula, "tadpole" e "prehatch", em várias condições controladas e ambientais.

A Figura 5 (*C. punctata* 18°C(1); UR = 100%) mostra pouco desenvolvimento de formas em "prehatch". Neste experimento não foi observado a eclosão dos ovos. Após 24 horas de observação, a maioria dos ovos ficou nas fases de gástrula e "tadpole".

Na Figura 6 (*C. punctata* 18°C (2) UR= 100%) o resultado final do experimento foi semelhante, sem eclosão dos ovos e a maioria permaneceu nas fases de "prehatch" e gástrula.

Na Figura 7 (*C. punctata* 25°C, UR = 100%) verificamos que houve eclosão já com 12 horas do experimento, com uma transição marcante de mórula para "prehatch" neste período. Após 24 horas, a maioria dos ovos ficou na fase "prehatch" ficando menor quantidade nas fases de mórula e "tadpole".

A Figura 8 (*C. punctata* - meio ambiente (1) UR = 50-63%) mostrou que não houve eclosão de ovos durante as 24 horas

do experimento, muito pouco desenvolvimento da fase "prehatch" com a maioria permanecendo nas fases de mórula e gástrula.

Na Figura 9 (*C. punctata* - meio ambiente (2) UR = 65-75%) observamos que neste caso houve eclosão já com 12 horas de experimento, fato este muito semelhante ao que ocorreu na Figura 7, em que os ovos ficaram primariamente na fase de "prehatch".

2. *Haemonchus contortus*

Nas Figuras 10 a 15 estão representados os resultados das observações sobre o desenvolvimento de *H. contortus*.

Na Figura 10 (*H. contortus* 4°C, UR = 100%) verificamos que o desenvolvimento parou com 12 horas de experimento, não havendo ovos na fase de "prehatch"; a maioria dos mesmos permaneceu em fase de mórula.

A Figura 11 (*H. contortus* 12°C, UR = 100%) também mostra pouco desenvolvimento para a fase de "prehatch", mas, neste caso, a maioria dos ovos após 24 horas ficou na fase de gástrula.

Na Figura 12 (*H. contortus* 18°C, UR = 100%) verificamos pela primeira vez nesta série de gráficos, o aparecimento de poucos ovos na fase de "prehatch", não havendo eclosão, permanecendo a maioria dos ovos nas fases de "tadpole" e gástrula.

A Figura 13 (*H. contortus* 25°C, UR = 100% c/luz) mostrou maior quantidade de ovo na fase "prehatch", embora ainda sem eclosão durante o experimento. A maioria dos ovos permaneceu

na fase de "tadpole".

As Figuras 14 e 15 mostram dois experimentos feitos em condições de meio ambiente (50 - 63% e 60 - 75% UR). A primeira (Fig. 14) mostra eclosão já com 12 horas de experimento, e eclosão total do término do período de observação. Na segunda (Fig. 15), no entanto, verificamos que não houve eclosão mas com desenvolvimento da maioria dos ovos na fase de "prehatch".

3. *Bunostomum phlebotomum*

Nas Figuras 16 a 19, estão representadas as observações para *B. phlebotomum*.

Nas Figuras 16 a 19, são incluídos os poucos ovos encontrados na fase "prehatch" à temperatura de 18°C, meio ambiente. Na Figura 16 (*B. phlebotomum* 4°C UR 100%) cessa qualquer desenvolvimento após 12 horas de experimento, não havendo nenhum ovo na fase "prehatch", o mesmo sendo válido para a Figura 17 (*B. phlebotomum* 12°C, UR 100%) embora o gráfico mostre mais desenvolvimento do que na anterior, a maioria dos ovos ficou em fase de gástrula.

A Figura 18 (*B. phlebotomum* 18°C, UR 100%) demonstrou um desenvolvimento pequeno da fase "prehatch", a maioria dos ovos permaneceu na fase de gástrula mais uma vez.

Na Figura 19 (*B. phlebotomum* - meio ambiente, UR 50-63%) verificamos o mesmo fenômeno; muito poucos ovos em fase "prehatch" e a maioria em gástrula ao fim do experimento.

4. *Oesophagostomum radiatum*

As Figuras 20 a 23 apresentaram as observações para *O. radiatum*. Na Figura 20 (*O. radiatum* 4°C, UR 100%) verificamos que embora houvesse desenvolvimento de ovos até a fase "pre-hatch" já com 6 horas de experimento, não ocorreu eclosão durante o período experimental, a grande maioria dos ovos ficou na fase de mórula.

A Figura 23 (*O. radiatum*, meio ambiente, UR 50 - 63%) ressalta uma diferença marcante com relação as espécies estudadas anteriormente, neste caso, houve uma eclosão geral com 12 horas, sendo que o experimento terminou somente com L₁.

C. ESTUDO DA DINÂMICA DE DESENVOLVIMENTO DE OVOS EM CULTURAS MISTAS OBTIDAS SEGUNDO A TÉCNICA DE Whitlock, MODIFICADA POR Rodrigues (1980)

Nas Figuras 21 a 31, são apresentados uma série de culturas de ovos obtidos das fases de bezerros. Foram feitas contagem de ovos, e larvacultura destes animais, sendo verificados que a população de helmintos era de aproximadamente 95% *C. punctata* e mais ou menos 5% de *Trichostrongylus axei*.

A Figura 24 (cultura mista 95% *C. punctata* 4°C, UR 100%) indica que ocorreu uma estagnação no desenvolvimento dos ovos após 18 horas do experimento, embora a maioria tenha permanecido na fase de "prehatch". Foi verificada a presença de duas larvas de primeiro estágio de *T. axei* na cultura com 2 horas de

experimento, no entanto, os ovos de *C. punctata* não eclodiram.

Na Figura 25 (cultura mista 95% *C. punctata* 12°C, UR 100%) verificamos que não houve nenhuma eclosão nesta população de ovos, embora na Figura 26 (cultura "mista" 95% *C. punctata*, 18°C, com luz e UR 100%) tenhamos observado eclosão desde 2 horas do período experimental, também de ovos de *T. axei*.

A Figura 27 (cultura "mista" 95% *C. punctata*, 25% UR 100%) mostra uma situação semelhante, onde as larvas de *T. axei* também aparecem com 2 horas de experimento, enquanto os ovos de *C. punctata* permaneceram com pouco desenvolvimento durante 24 horas. Estas observações podem ser comparadas COM as da Figura 7 (*C. punctata* cultura "pura", 25°C, UR 100%).

No caso da Figura 28 (cultura mista 95% *C. punctata*, 39°C, UR 100%) observamos eclosão após 18 horas de experimento, e também que a maioria dos ovos permaneceu 10 horas sem mudança.

A Figura 29 cultura "mista", 95% *Cooperia* 40°C, UR 100% demonstra uma situação mais avançada, neste caso, grande número de ovos ficou na fase "prehatch", embora nenhuma eclosão tenha ocorrido e os ovos tornaram-se escurecidos e com células centrais arredondadas. Estes ovos estão mortos, conforme observações de CHRISTIE & JACKSON (1982).

Os últimos dois gráficos nesta série, Figura 30, cultura "mista" 95% *C. punctata* meio ambiente (1) UR. 51 - 75% e Figura 31, cultura "mista" 95% *C. punctata* meio ambiente (2) mos-

tram quadros diferentes. No caso da Figura 30, observamos eclosão geral após 18 horas de experimento, embora o número de ovos que ficou nas fases de mórula, gástrula e "tapdole" seja alto. Na Figura 31 houve uma eclosão geral e rápida desde 8 horas de experimento, permanecendo muito poucos ovos nas culturas, prevalecendo a presença de larvas L₁.

Em termos de eclosão, resumimos os resultados obtidos na Tabela 7, onde verificamos que não houve eclosão nas culturas puras de *B. phlebototumum*, somente no meio ambiente para *O. radiatum*, como também para *H. contortus*, enquanto que, para *C. punctata* foi observada eclosão uma vez no meio ambiente e à temperatura de 25°C.

TABELA 1. Volume médio dos ovos em condições controladas e meio ambiente

C. punctata μ^{-3}

Temperatura →	18 ^o C	18 ^o C	25 ^o C	ma ^{1*}	ma ²	\bar{x}
Mórula	62.50	79.5	51.61	50.78	57.61	60.2
Gástrula	48.56	62.2	31.69	61.25	58.07	51.75
"Tadpole"	54.20	50.24	36.79	52.94	66.28	52.09
"Prehatch"	45.56	33.47	38.74	95.00	-	53.69

* Meio-ambiente

Tabela 2. Volume médio dos ovos em condições controladas e meio ambiente

H. contortus μ^{-3}

Temperatura →	4°C	12°C	18°C	18°C	*ma ₁	ma ₂	25	\bar{X}
Mórula	76.10	49.44	98.86	51.59	76.31	84.78	58.47	70.36
Gástrula	79.72	48.82	92.46	41.46	83.75	76.30	66.60	69.87
"Tadpole"	67.83	58.47	-	105.48	87.71	81.79	42.13	73.97
"Prehatch"	-	-	72.88	-	-	69.80	66.13	69.50

* Meio-ambiente

Tabela 3. Volume médio dos ovos em condições controladas e meio ambiente

B. phlebotomum μ^{-3}

Temperatura	→ 4°C	12°C	18°C	ma	\bar{x}
Mórula	105.32	123.52	98.10	72.16	99.78
Gástrula	103.29	125.61	118.13	119.21	116.56
"Tadpole"	73.48	84.30	170.32	141.70	117.45
"Prehatch"	-	-	(2) ⁺	(2)	-

+ dois exemplares

Tabela 4. Volume médio dos ovos em condições controladas e meio ambiente
O. radiatum μ^{-3}

Temperatura	→	12°C	18°C	ma	\bar{x} :
Mórula		67.12	114.80	79.02	86.98
Gástrula		68.28	126.66	87.21	93.38
"Tadpole"		78.74	108.58	59.18	82.14
"Prehatch"		212.72	182.80	99.34	141.07

Tabela 5. Níveis de significância entre as fases das espécies *Cooperia punctata*, *Haemonchus contortus*, *Bunostomum phlebotomum* e *Oesophagostomum radiatum*

Espécie	Temperatura	Duração do exp. hs.	Níveis de significância							
			n	M	→	G	G	→	T	T
<i>C. punctata</i>	18°	24	83	0.50<P<0.75		0.50<P<0.75		0.50<P<0.50		
	18°	24	138	n.s		n.s		n.s		
	m - a (1)	24	137	0.50<P<0.75		n.s		0.75<P<0.90		
	m - a (2)	24	83	P>0.001		P>0.001		0.50<P<0.75		
	25°	24	270	0.50<P<0.75		0.75<P<0.30		0.75<P<0.90		
<i>H. contortus</i>	4°	24	132	0.005<P<0.10		0.005<P<0.10		-		
	12°	24	132	P≈0.75		0.75<P<0.90		-		
	18°	24	132	0.75<P<0.30		0.25<P<0.50		0.10<P<0.25		
	18°	24	132	n.s		P≈0.50		-		
	m - a (1)	24	98	0.25<P<0.50		0.50<P<0.75		0.25<P<0.50		
	m - a (2)	24	130	0.75<P<0.90		0.50<P<0.75		-		
	25°	24	92	0.10<P<0.25		0.75<P<0.90		0.50<P<0.75		
<i>B. phlebotomum</i>	4°	24	141	0.25<P<0.50		0.10<P<0.25		-		
	12°	24	141	P≈0.90		0.25<P<0.50		-		
	18°	24	141	0.25<P<0.05		0.50<P<0.75		0.75<P<0.90		
	m - a	24	141	0.25<P<0.50		0.25<P<0.50		-		
<i>O. radiatum</i>	12°	24	117	P≈0.975		0.50<P<0.75		0.25<P<0.50		
	18°	24	117	0.10<P<0.25		0.25<P<0.50		0.05<P<0.10		
	m - a	24	117	P≈0.20		0.50<P<0.75		0.005<P<0.01		

n.s. não significativo

Tabela 6. Diferenças entre os volumes das fases de desenvolvimento das espécies estudadas

Espécie	Temperatura	Nº de ovos	Sequência m>g>t→"Prehatch"
<i>C. punctata</i>	18 ⁰	83	m> g< t> ph
	18 ⁰	133	m> g> t> ph
	m - a ₁	137	m< g< t> ph
	m - a ₂	83	m<<g>>t< ph
	25 ⁰	270	m> g< t< ph
<i>H. contortus</i>	4 ⁰	132	m< g>>t
	12 ⁰	132	m> g<<t
	18 ⁰	132	m> g<<t>>ph
	18 ⁰	132	m< g>>t
	m - a ₁	98	m> g< t>>ph
	m - a ₂	132	m< g< t
	25 ⁰	92	m< g> t<<ph
<i>B. phlebotomum</i>	4 ⁰	141	m> g>>t
	12 ⁰	141	m≡ g>>t
	18 ⁰	141	m< g< t<<ph
	m - a	141	m< g< t<<ph
<i>O. radiatum</i>	12 ⁰	117	m≡ g> t<<ph
	18 ⁰	117	m> g> t<<ph
	m - a	117	m< g>>t<<ph

Tabela 7. Ocorrência de eclosão nas culturas estudadas

Espécies	Temperatura °C e tipo de cultura	Duração do experimento hs.	Ocorrência de eclosão horas após o começo do experimento
<i>C. punctata</i>	4 (c. "mista")	*	não
	12 (c. "mista")	24	não
	18 (c. "pura")	24	não
	25 (c. "pura")	24	12 hs.
	meio ambiente 1 "mista"	24	18 hs.
	meio ambiente 2 "mista"	12	12 hs.
<i>H. contortus</i>	4 (c. "pura")	24	não
	12 (c. "pura")	24	não
	18 (c. "pura")	24	não
	meio ambiente "pura"	24	não
	meio ambiente "pura"	24	12 hs.
	25 + luz	24	não
<i>B. phlebotomum</i>	4 (c. "pura")	24	não
	12 (c. "pura")	24	não
	18 (c. "pura")	24	não
	meio ambiente	24	não
<i>O. radiatum</i>	4 (c. "pura")	24	não
	12 (c. "pura")	24	não
	18 (c. "pura")	24	não
	meio ambiente	24	12 hs.

* Observações durante 8 hs; após 8 dias, mais 16 horas

Tabela 8. Valores médios de temperatura, umidade relativa, precipitação e evaporação calculadas durante 38 anos na Estação Agrícola, km 47. (Altitude da Estação 33m)

Meses	Médias das máximas	Médias das mínimas	Umidade relativa %	Precipitação Altura total mm	Evaporação %
Janeiro	31.7	22.0	74.8	1.978,8	1.091,8
Fevereiro	32.4	21.8	74.6	1.494,2	1.008,3
Março	31.3	21.1	76.6	1.835,3	969,7
Abril	28.8	18.4	77.9	1.026,8	808,0
Maió	26.7	16.4	74.0	523,1	801,8
Junho	26.1	15.6	74.6	314,1	897,3
Julho	26.4	13.2	72.4	294,8	1.105,6
Agosto	27.5	15.7	71.2	397,1	1.165,5
Setembro	27.8	17.0	73.1	520,9	1.109,2
Outubro	28.1	18.3	73.9	926,5	1.009,5
Novembro	28.6	19.2	76.7	1.356,3	888,5
Dezembro	30.0	20.5	76.4	1.817,8	1.011,8

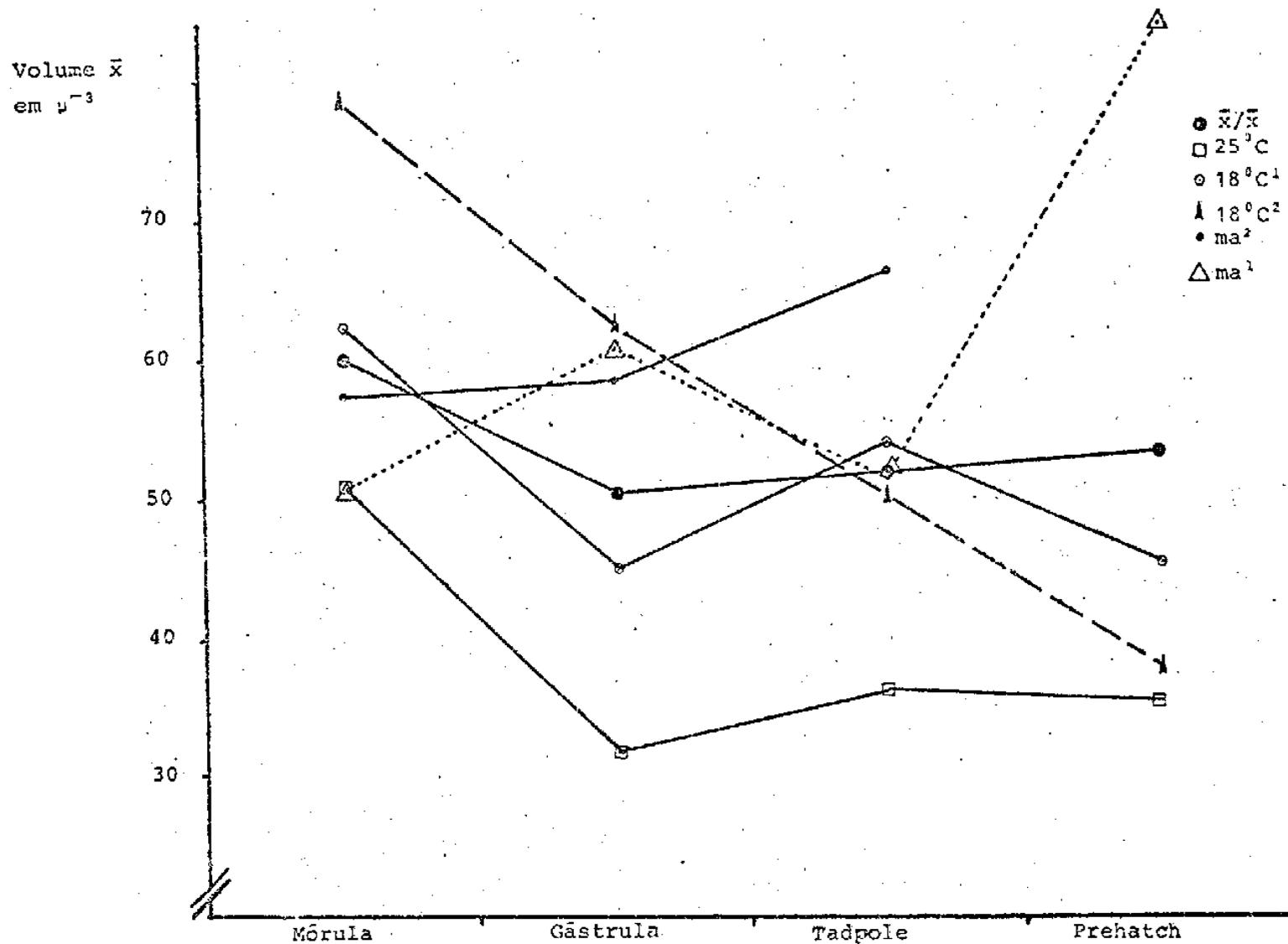


Figura 1. Volume, média e desenvolvimento de ovos de *Cooperia* spp. (95% *C. punctata*) em diversas condições de temperatura
ma = meio ambiente

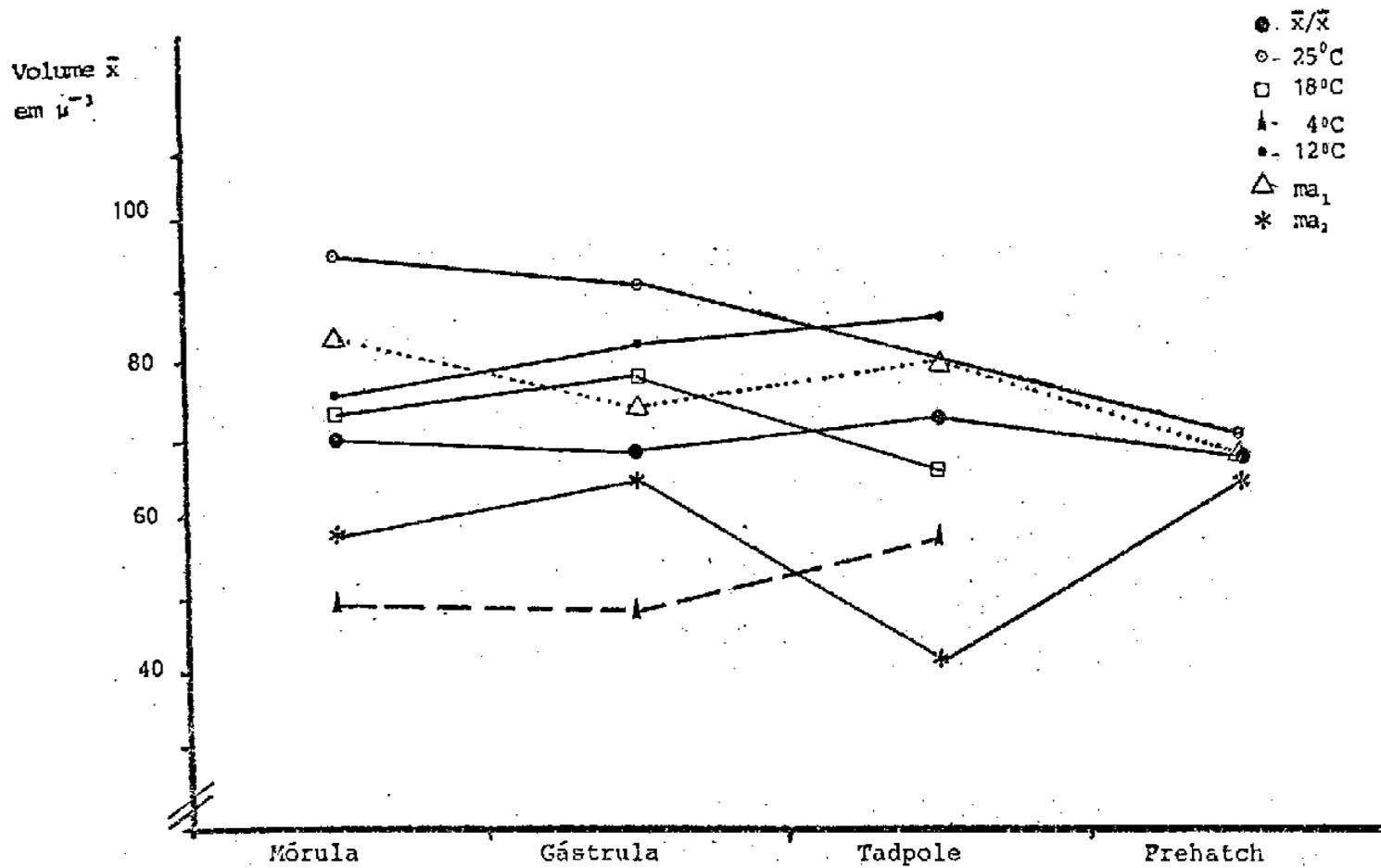


Figura 2. Volume, média e desenvolvimento de ovos de *Haemonchus contortus* em diversas condições de temperatura
ma= meio ambiente

Volume
em μ^3

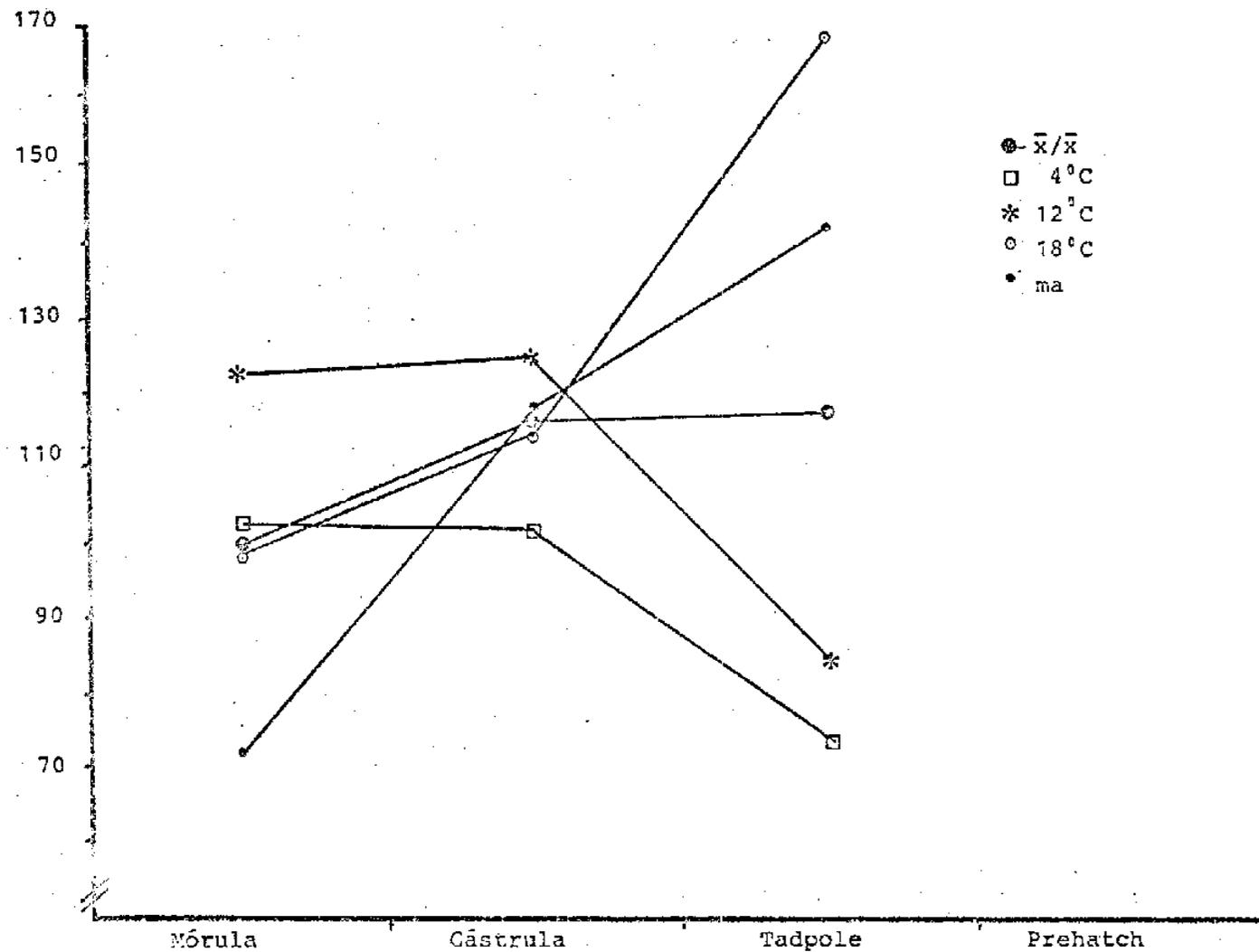


Figura 3. Volume, média e desenvolvimento de ovos de *Bunostomum phlebotomum* em diversas condições de temperatura
ma= meio ambiente

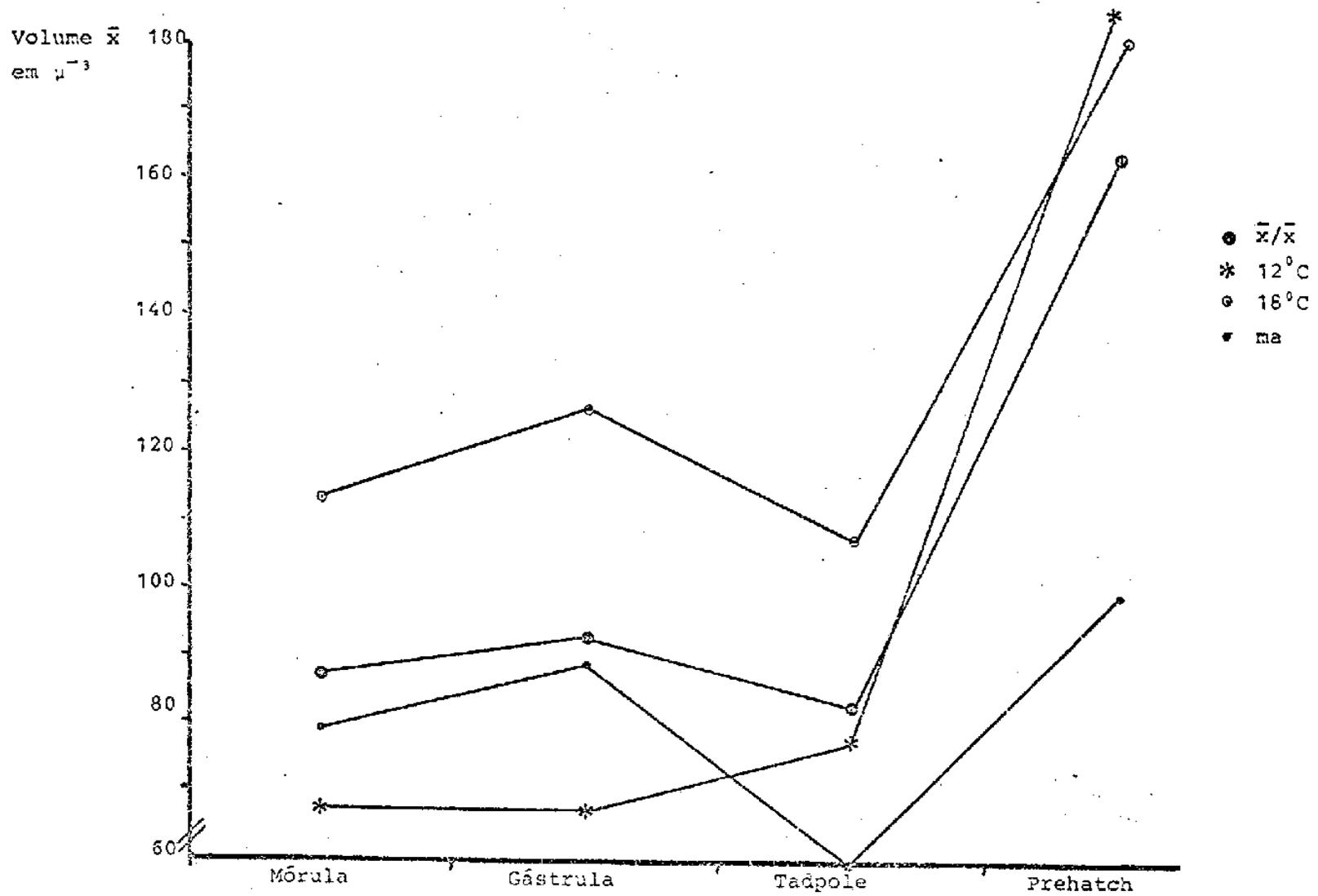


Figura 4. Volume, média e desenvolvimento de ovos de *Oesophagostomum radiatum* em diversas condições de temperatura
ma = meio ambiente

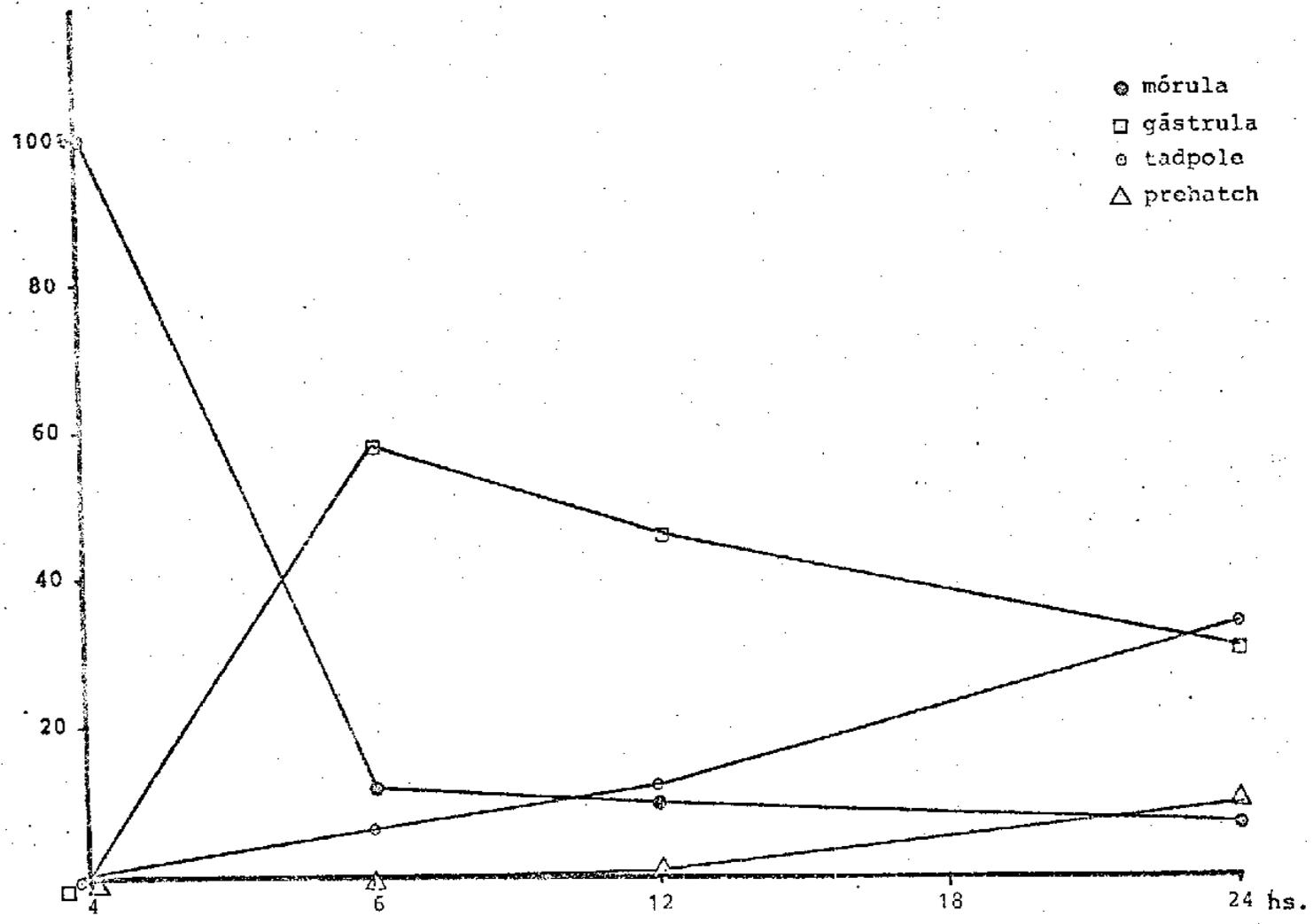


Figura 5. Desenvolvimento de ovos de *Cooperia punctata* à temperatura de 18°C (1) UR 100% em cultura "pura"

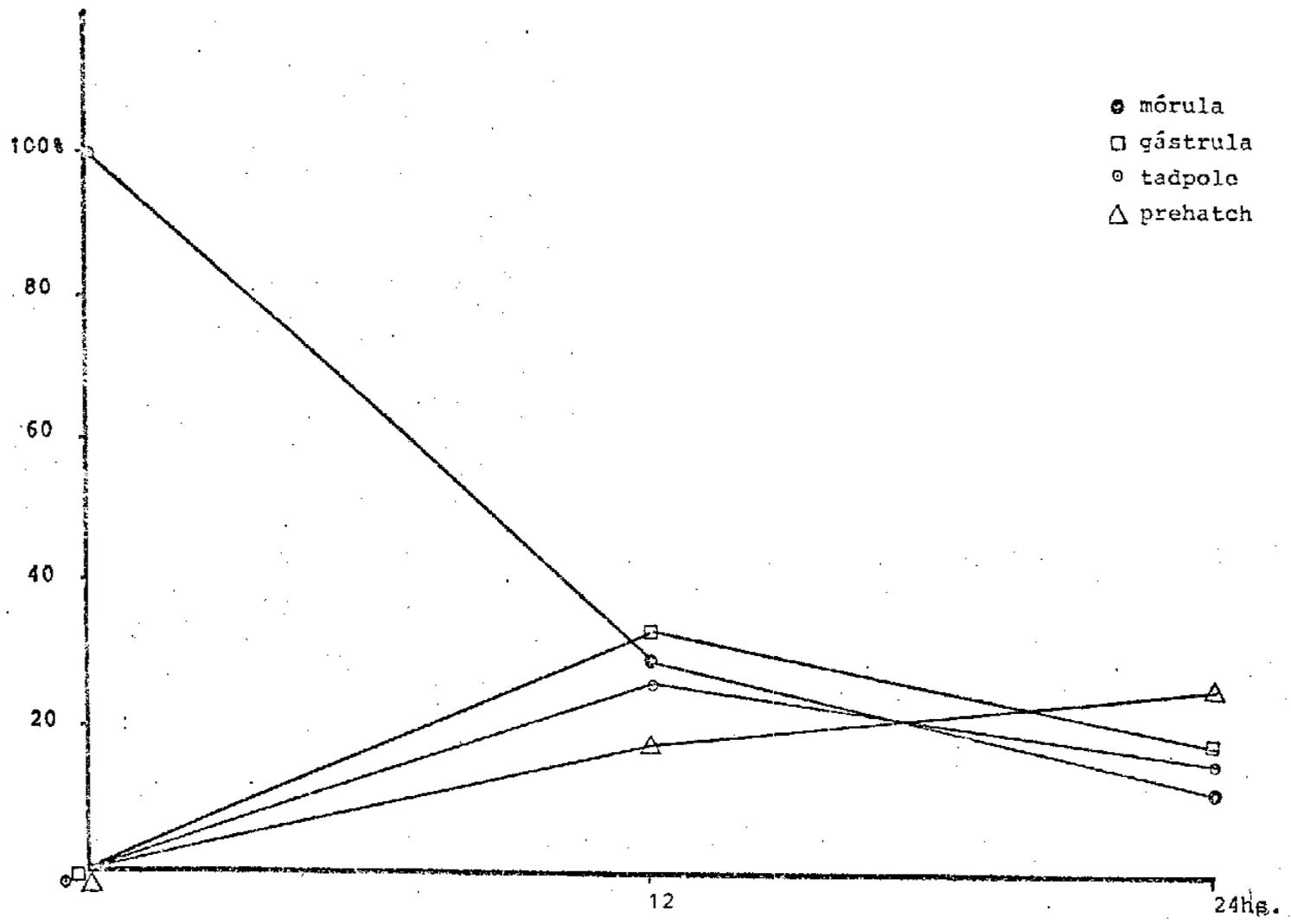


Figura 6. Desenvolvimento de ovos de *Cooperia punctata* à temperatura de 18°C (2) e UR= 100% em cultura "pura"

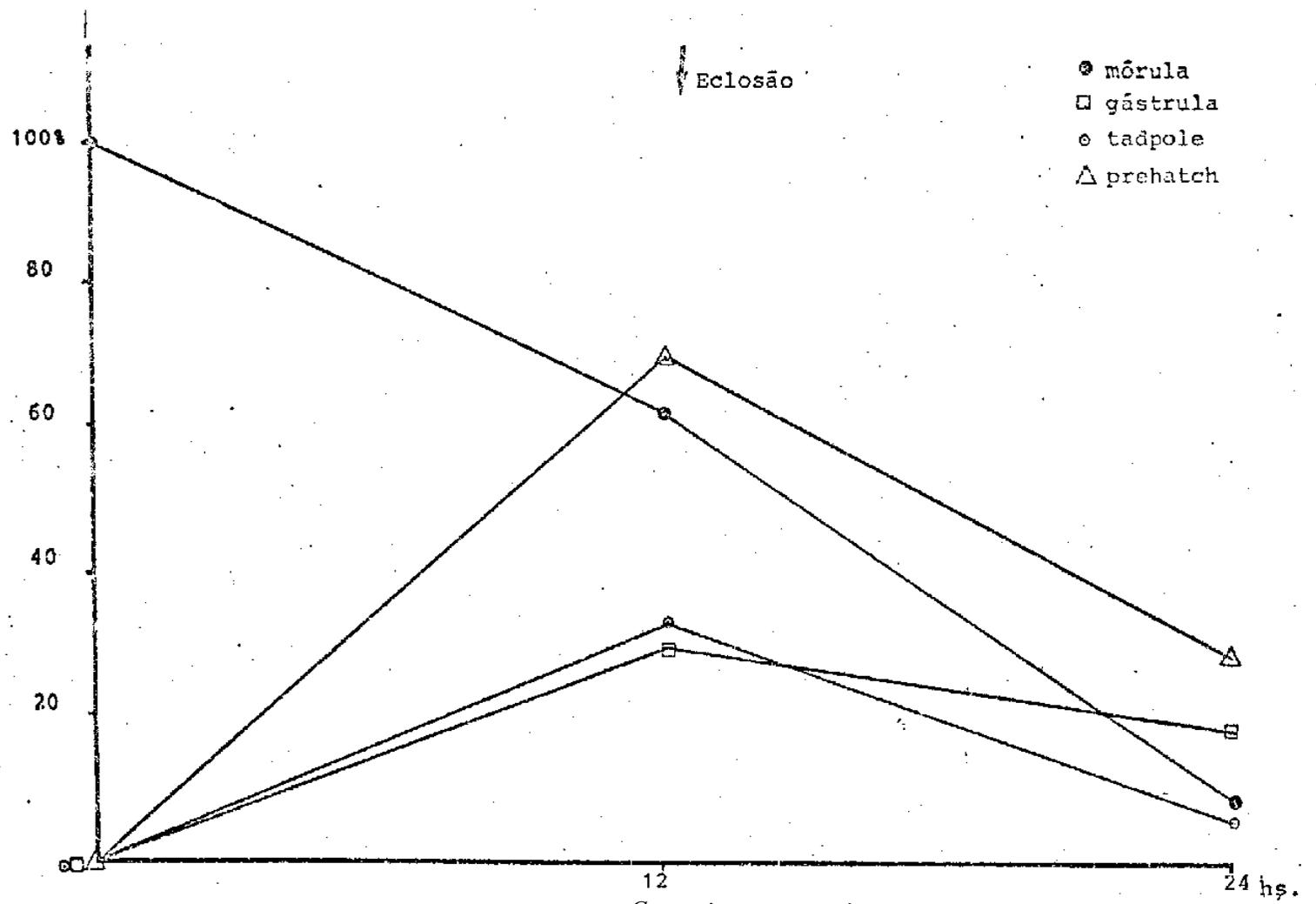


Figura 7. Desenvolvimento de ovos de *Cooperia punctata* à temperatura de 25°C e UR= 100% em cultura "pura"

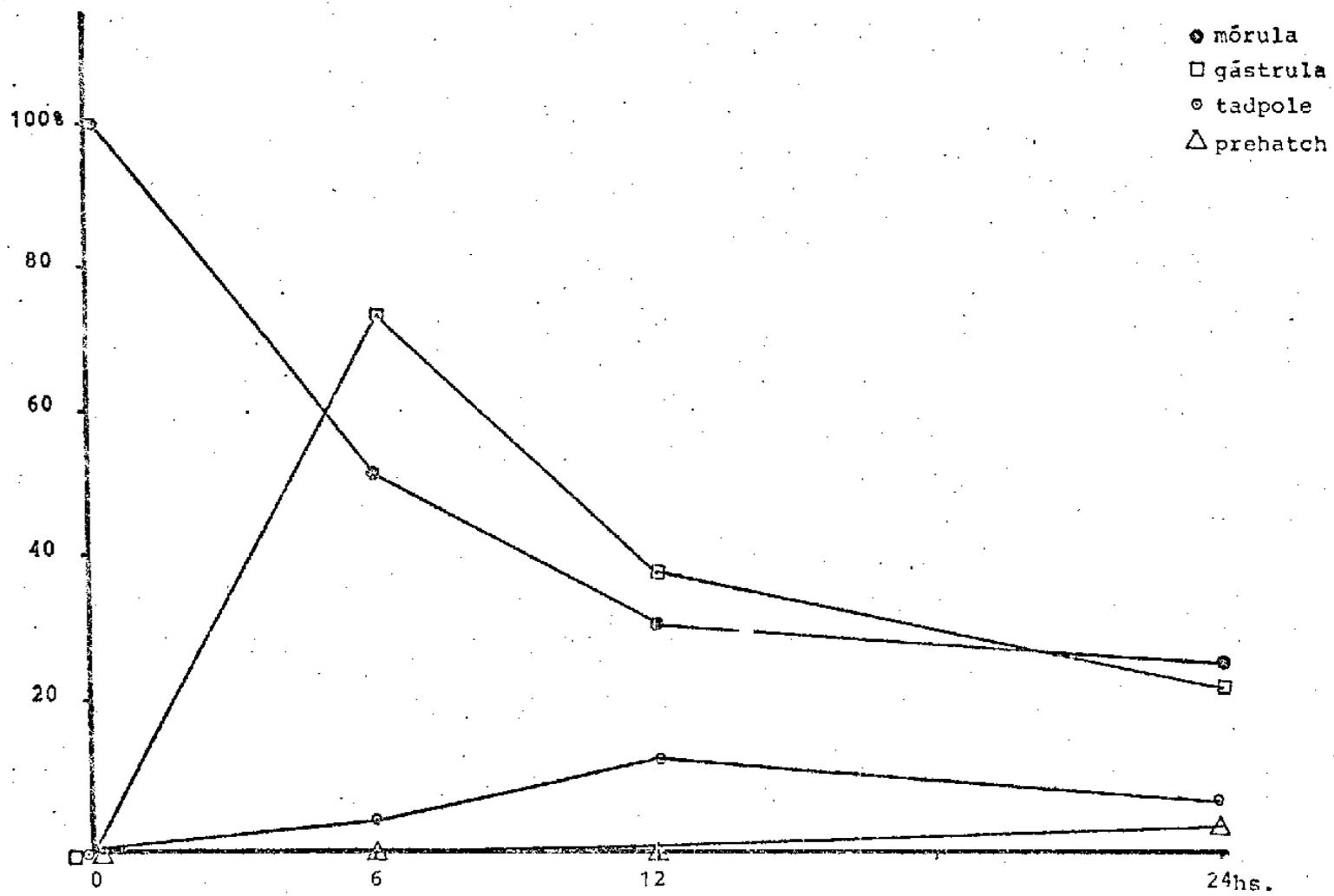


Figura 8. Desenvolvimento de ovos de *Cooperia punctata* à temperatura de ma_1 e UR = 50 - 63% em cultura "pura"

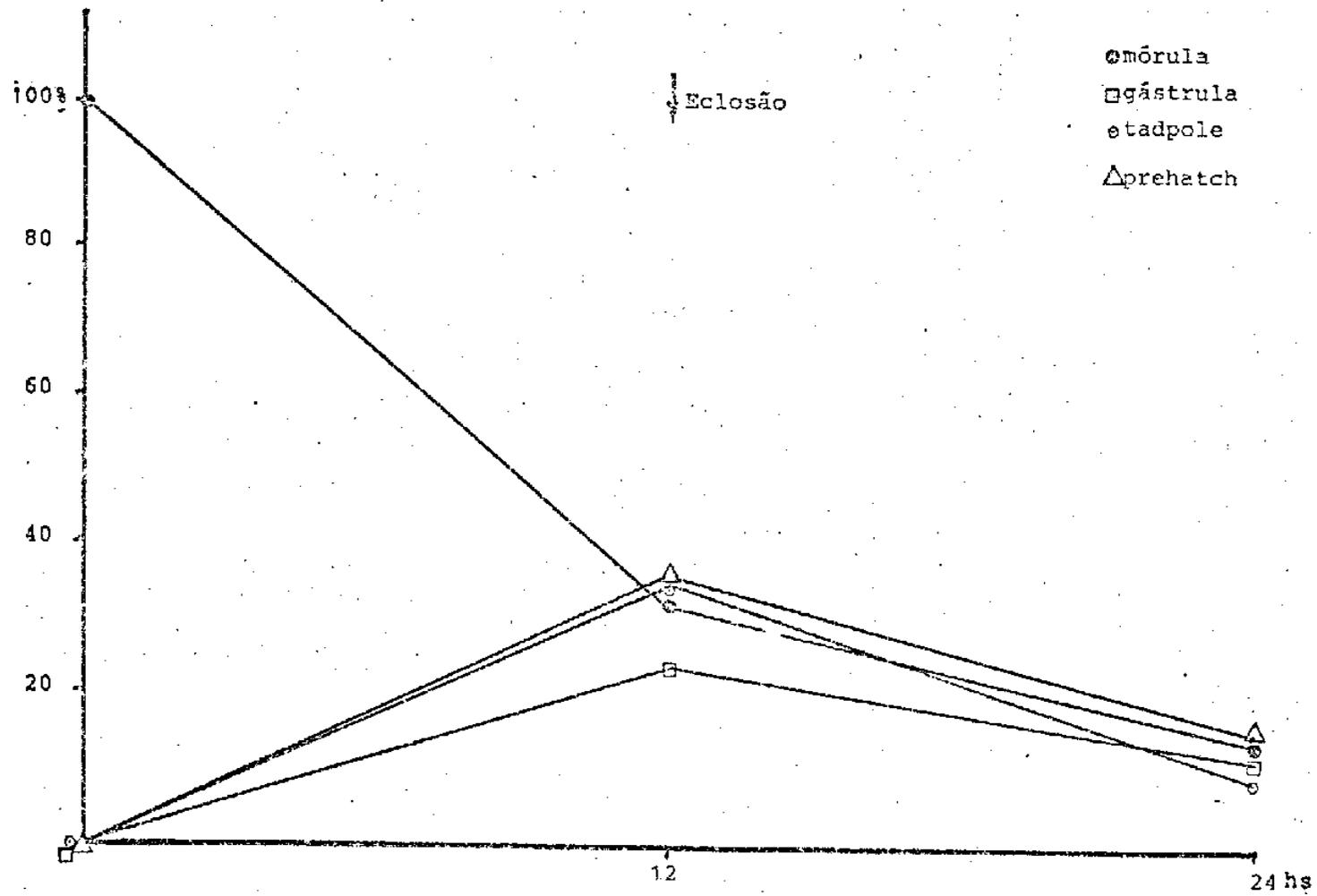


Figura 9. Desenvolvimento de ovos de *Cooperia punctata* à temperatura de ma_2 e UR = 65 - 75% em cultura "pura"

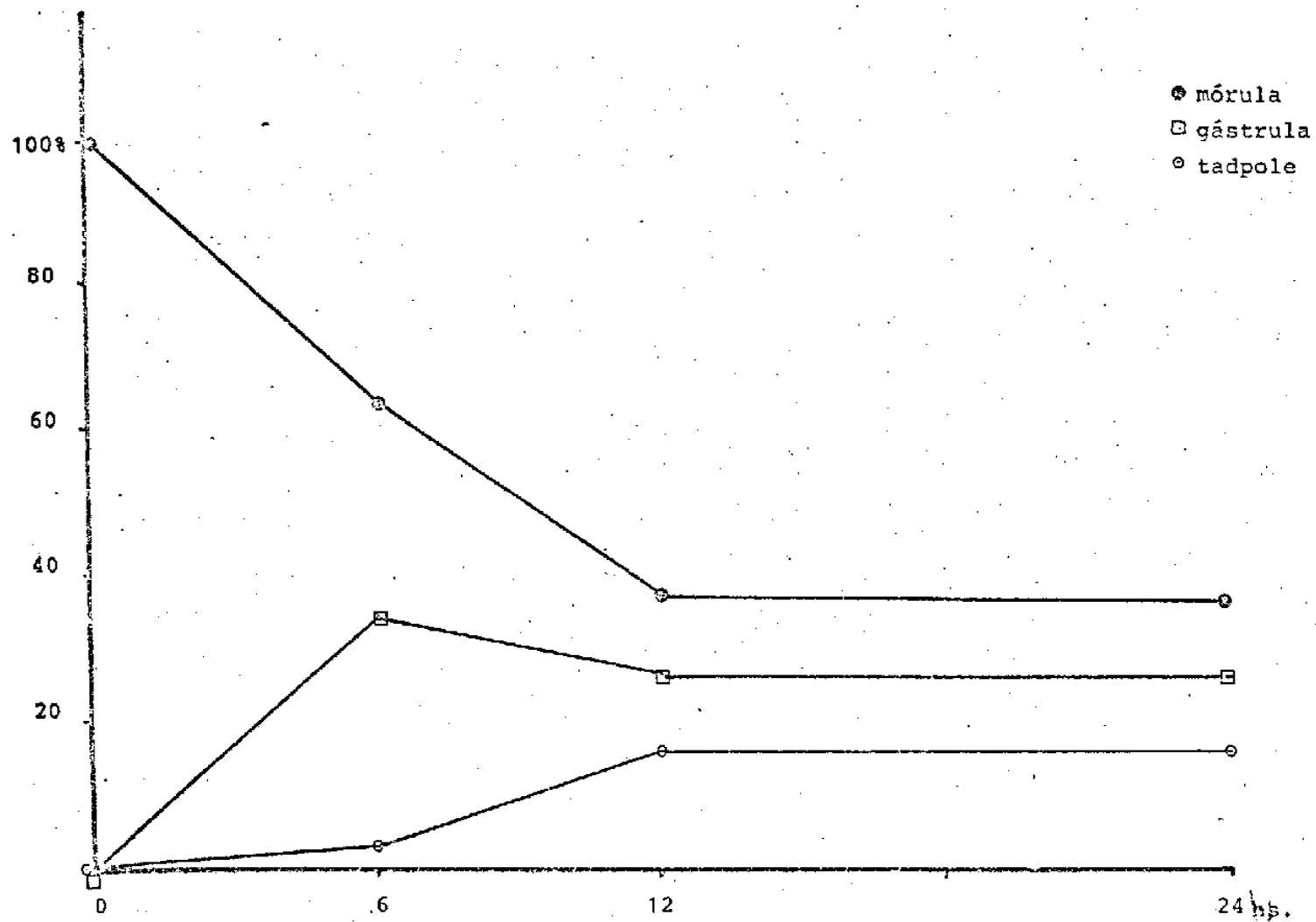


Figura 10. Desenvolvimento de ovos de *Haemonchus contortus* à temperatura de 4°C e UR = 100%

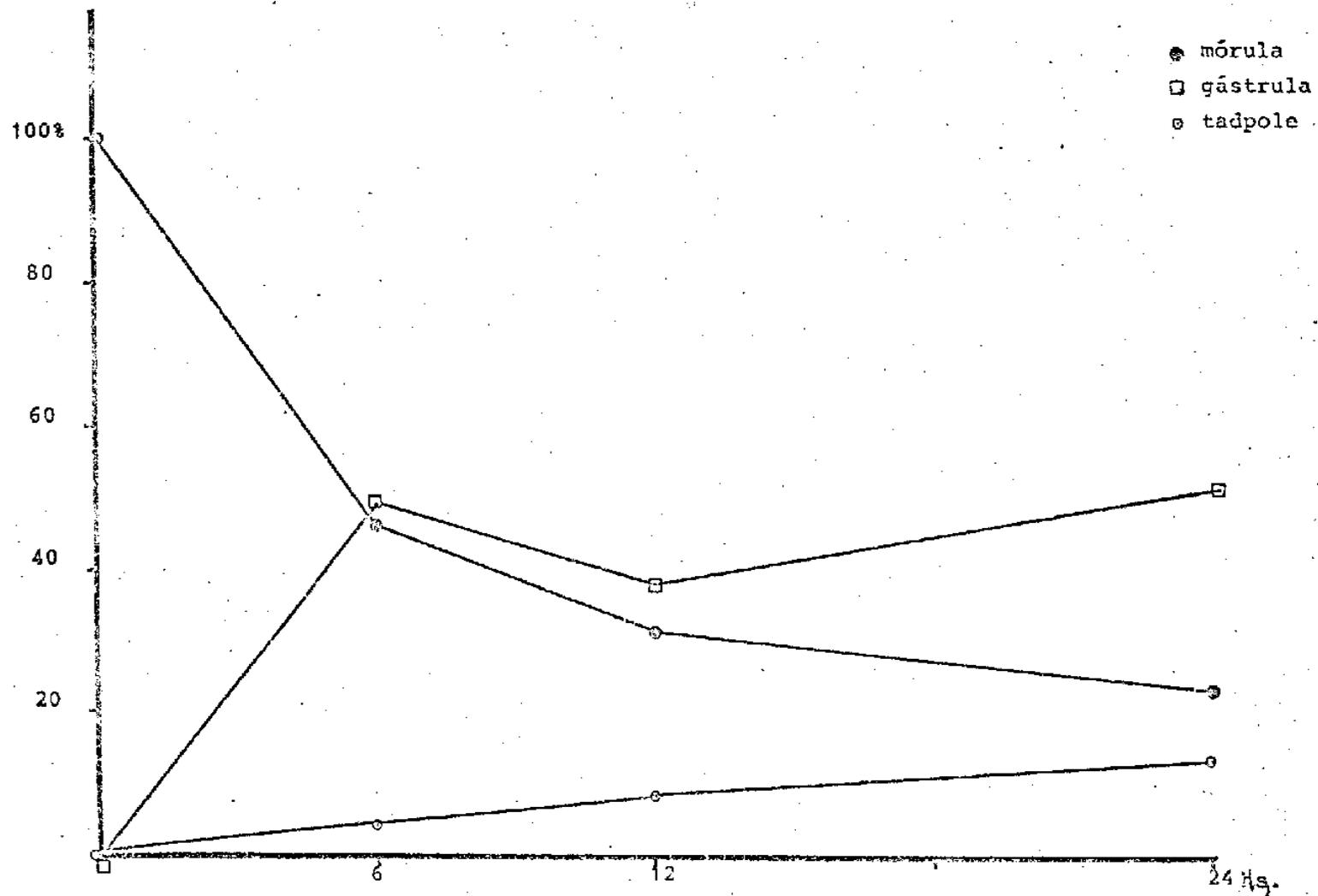


Figura 11. Desenvolvimento de ovos de *Haemonchus contortus* à temperatura de 12°C e UR= 100%, em cultura "pura"

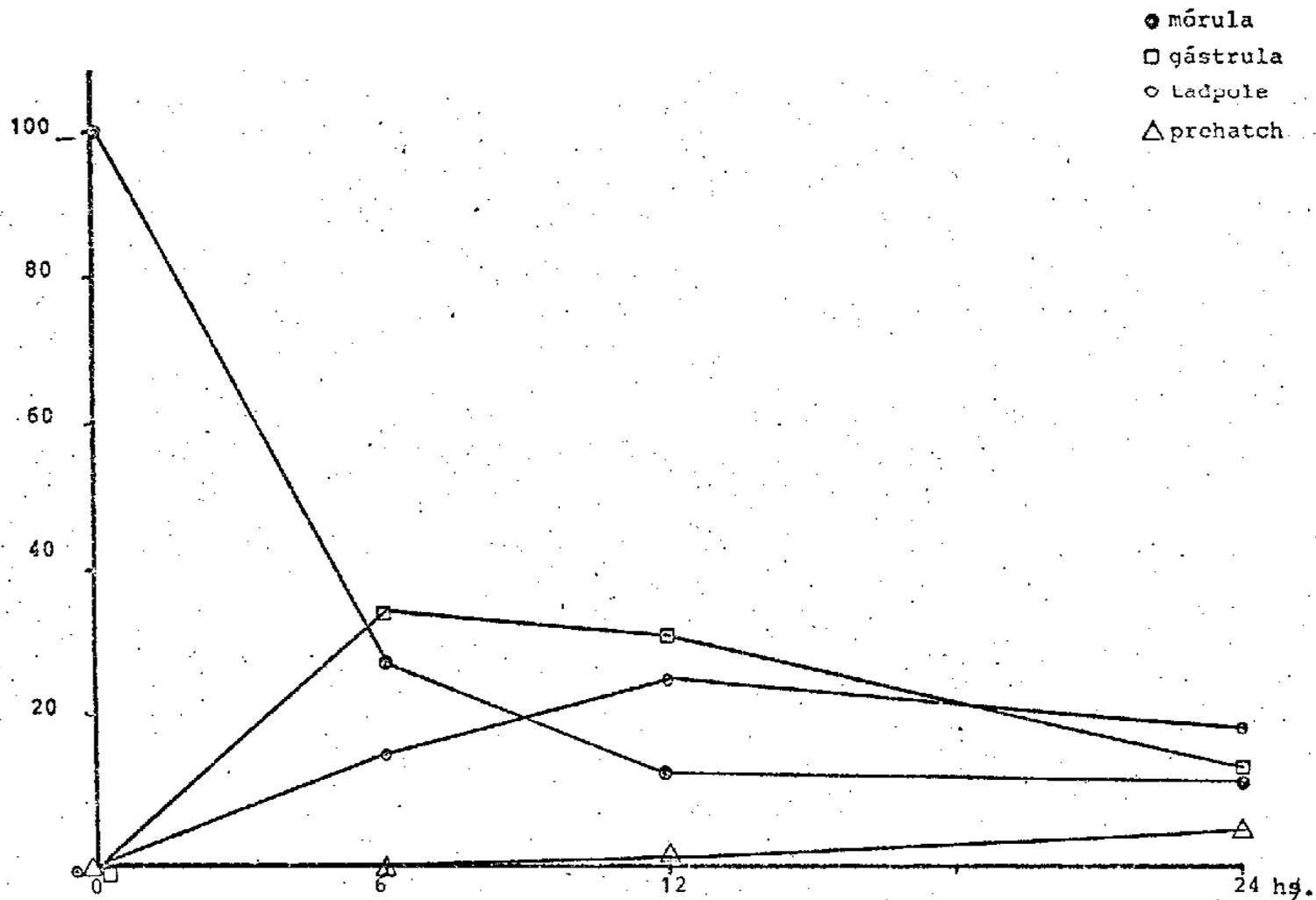


Figura 12. Desenvolvimento de ovos de *Haemonchus contortus* à temperatura de 18°C e UR= 100% em cultura "pura"

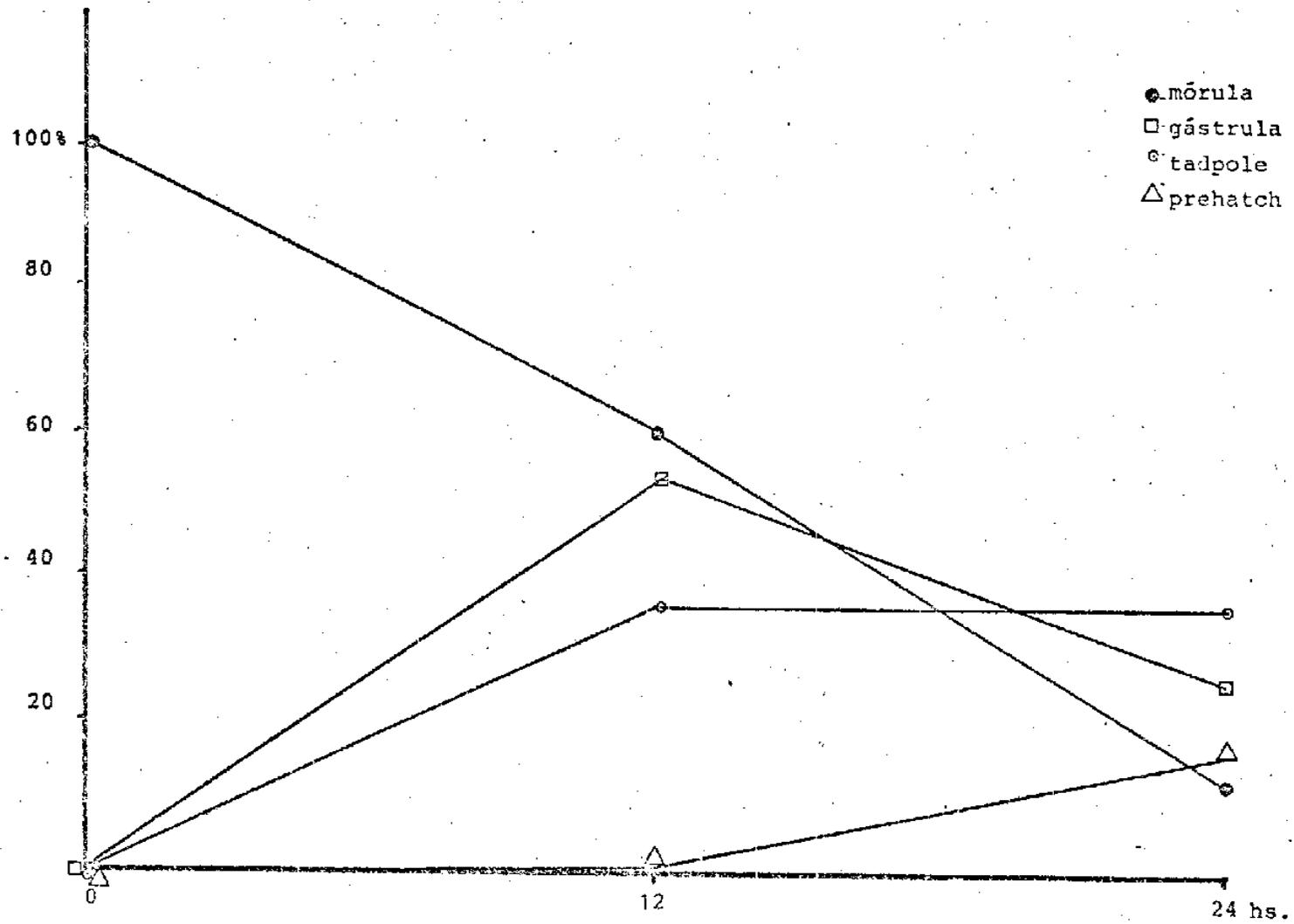


Figura 13. Desenvolvimento de ovos de *Haemonchus contortus* à temperatura de 25°C (com luz) e UR= 100% em cultura "pura"

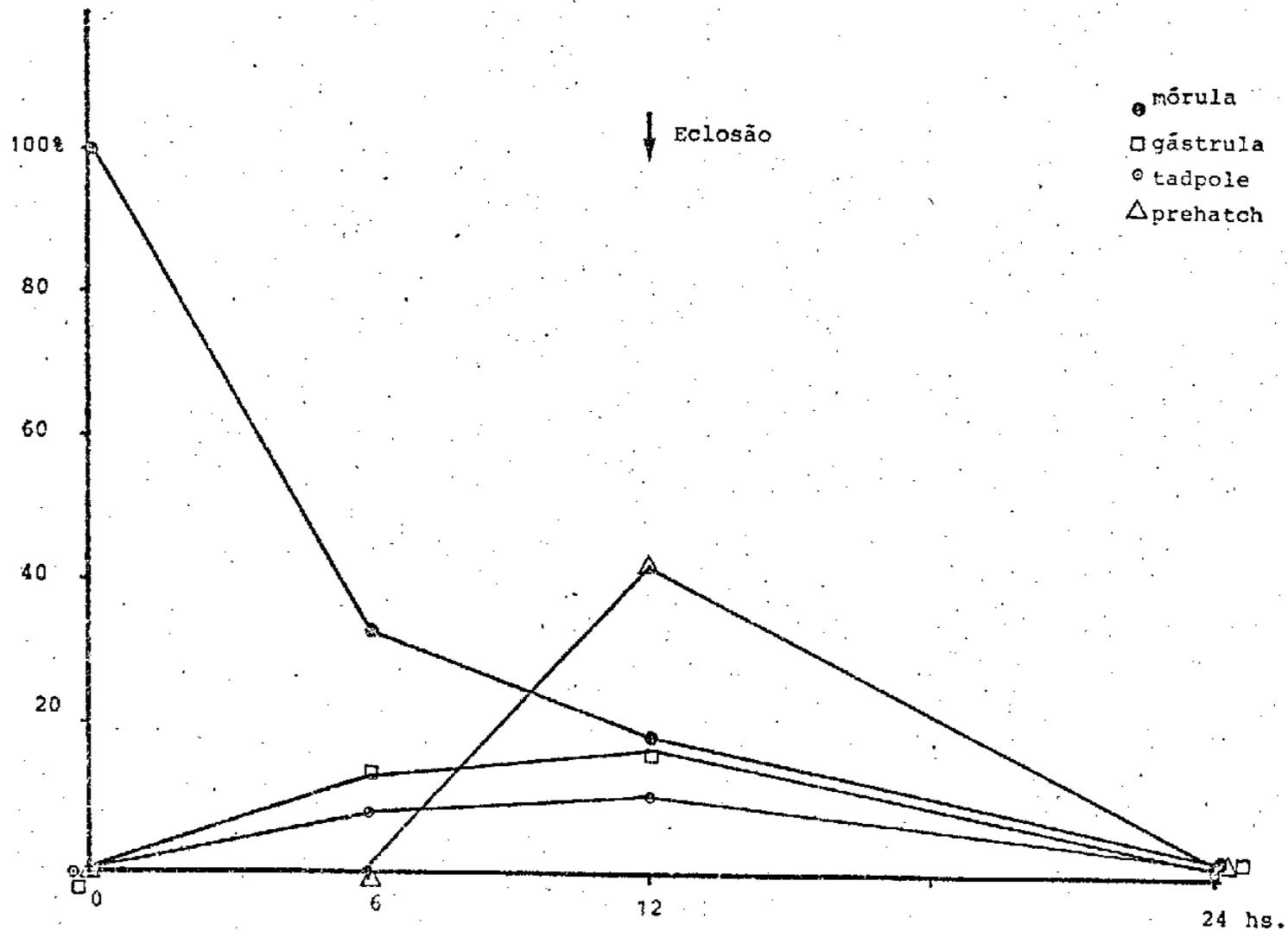


Figura 14. Desenvolvimento de ovos de *Haemonchus contortus* à temperatura de ma e UR = 50 - 63% em cultura "pura"

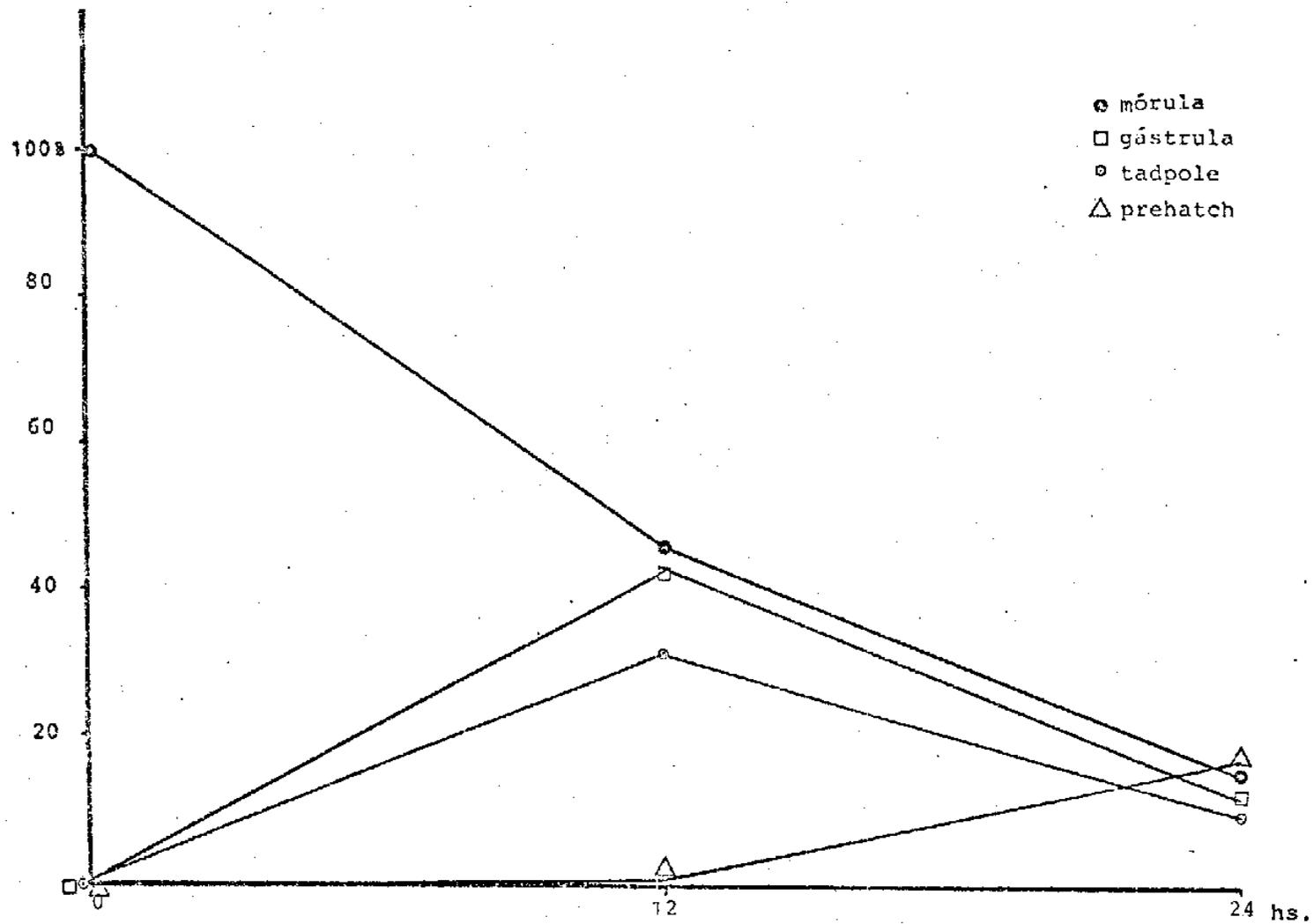


Figura 15. Desenvolvimento de ovos de *Haemonchus contortus* à temperatura de ma e UR = 60 - 75%, em cultura "pura"

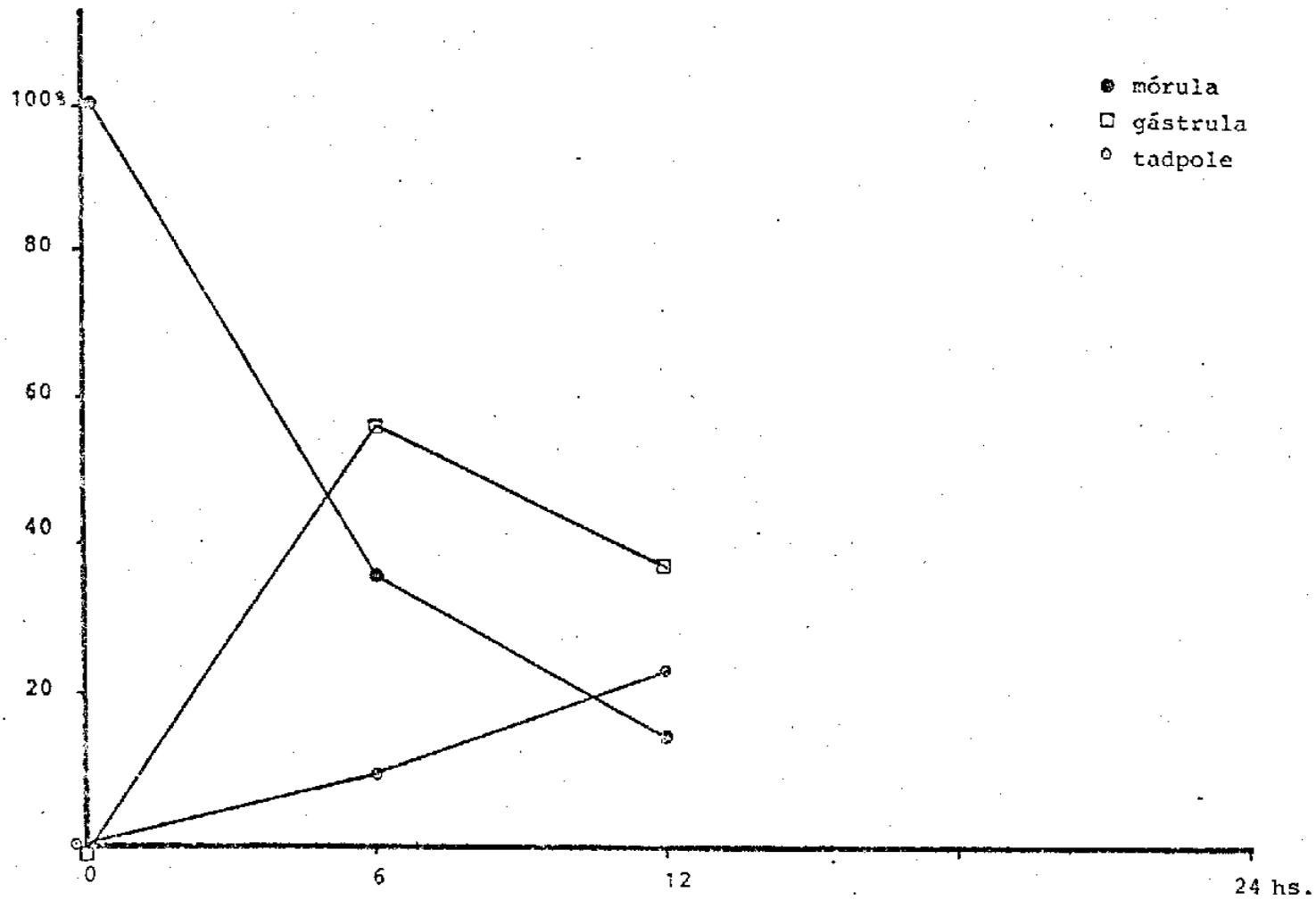


Figura 16. Desenvolvimento de ovos de *Bunostomum phlebotomum* à temperatura de 4°C, UR= 100% em cultura "pura"

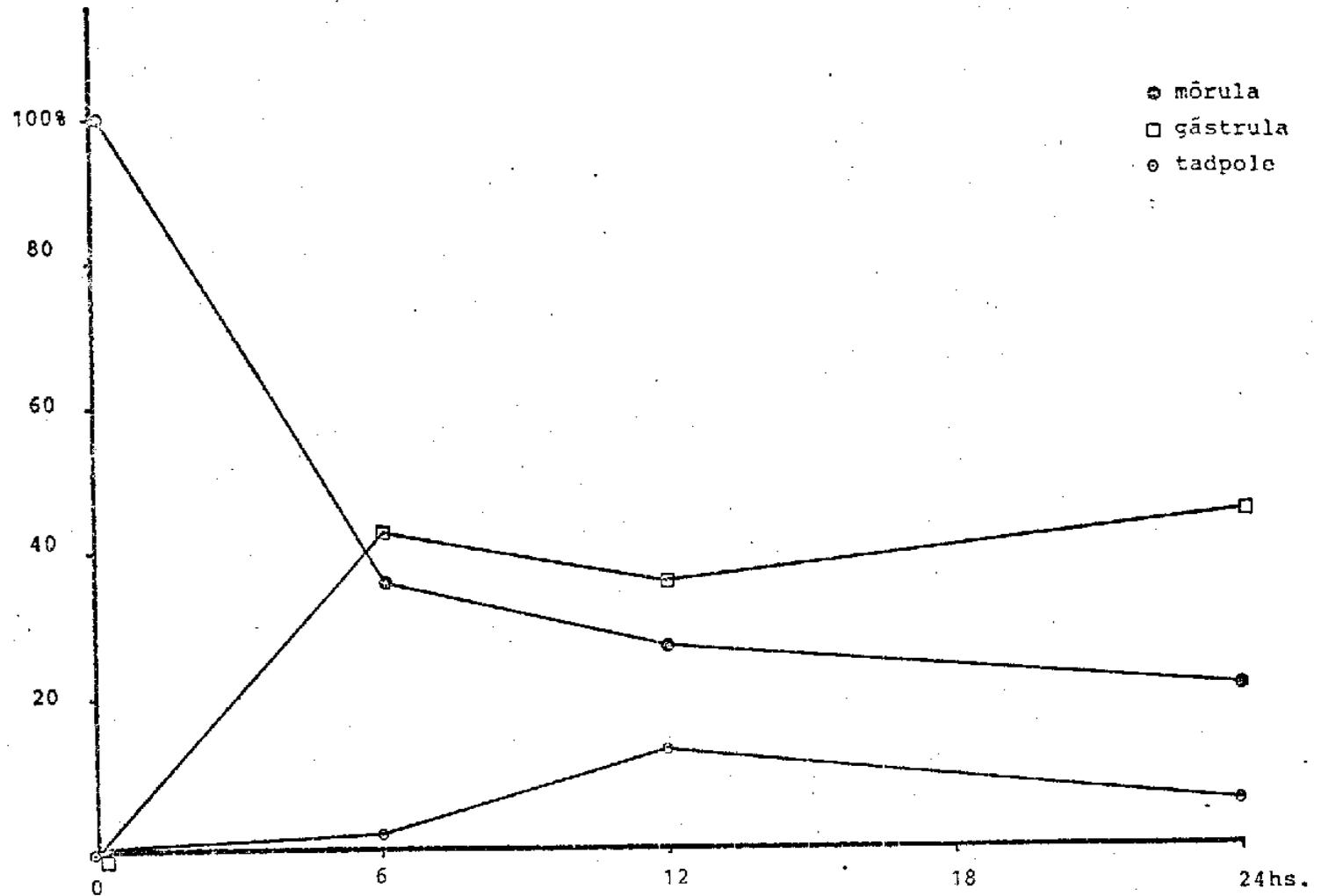


Figura 17. Desenvolvimento de ovos de *Bunostomum phlebotomum* à temperatura de 12°C, UR = 100% em cultura "pura"

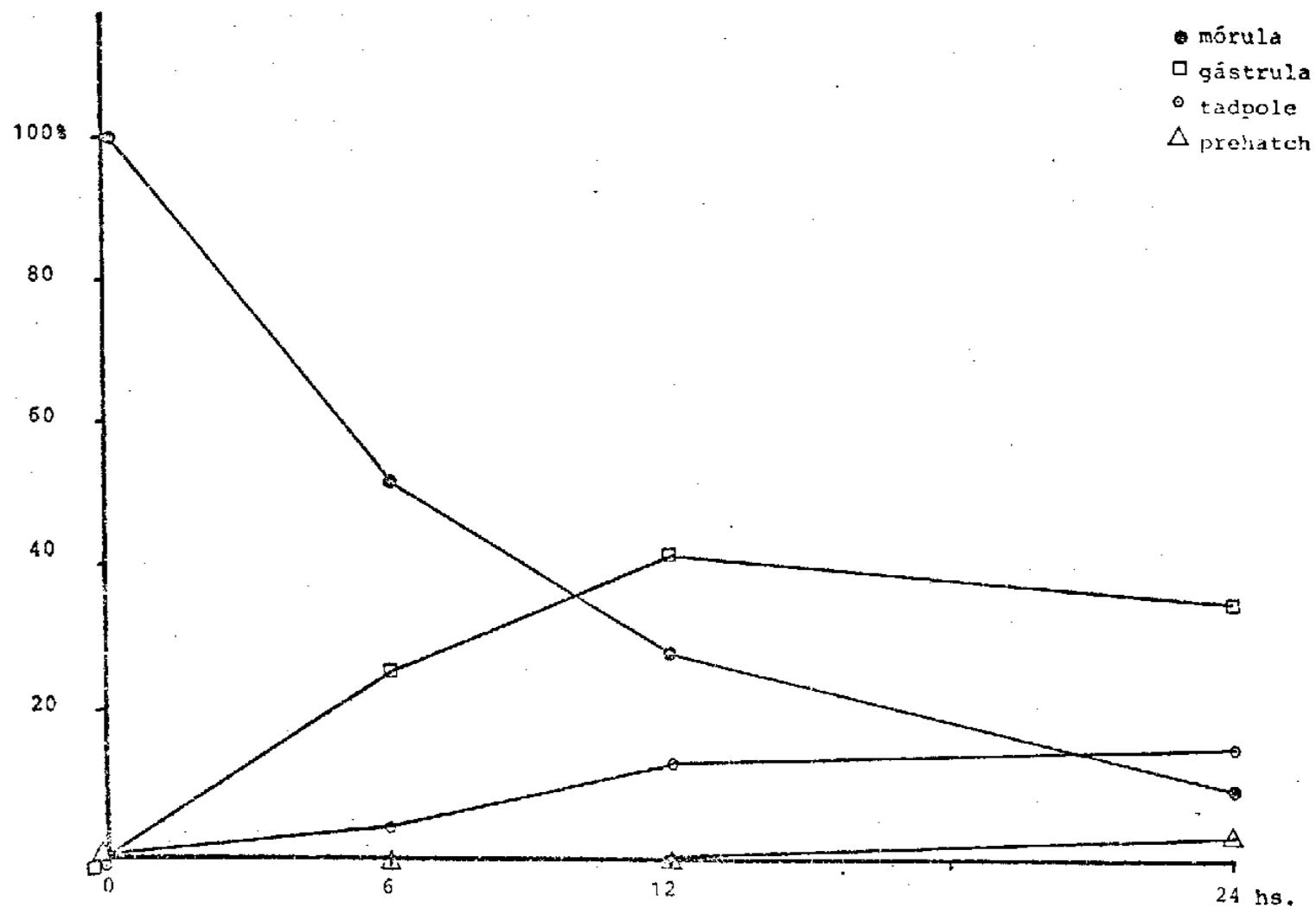


Figura 18. Desenvolvimento de *Bunostomum phlebotomum* à temperatura de 18°C, UR= 100% em cultura "pura"

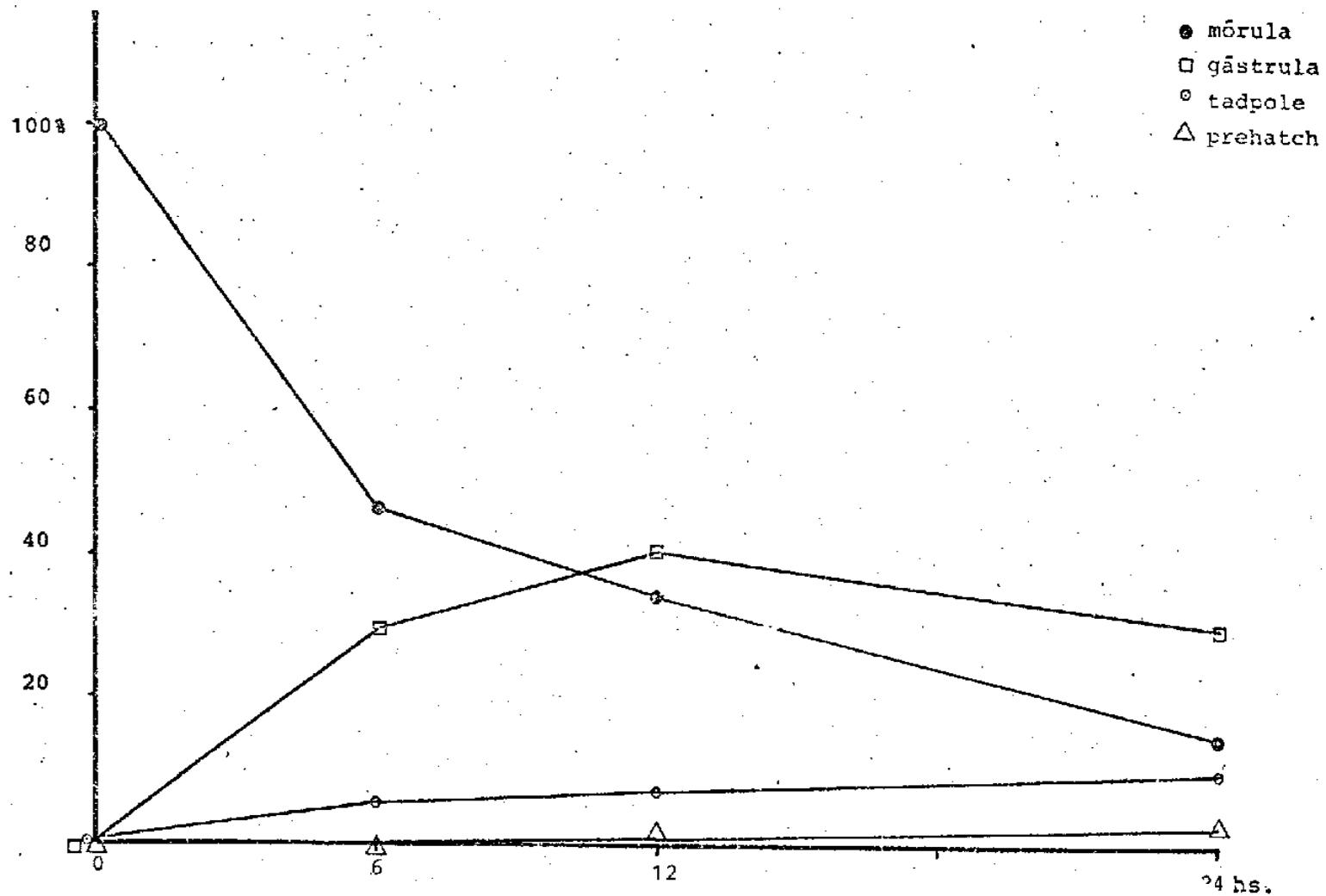


Figura 19. Desenvolvimento de ovos de *Bunostomum phlebotomum* à temperatura de ma, UR = 50 - 63% em cultura "pura"

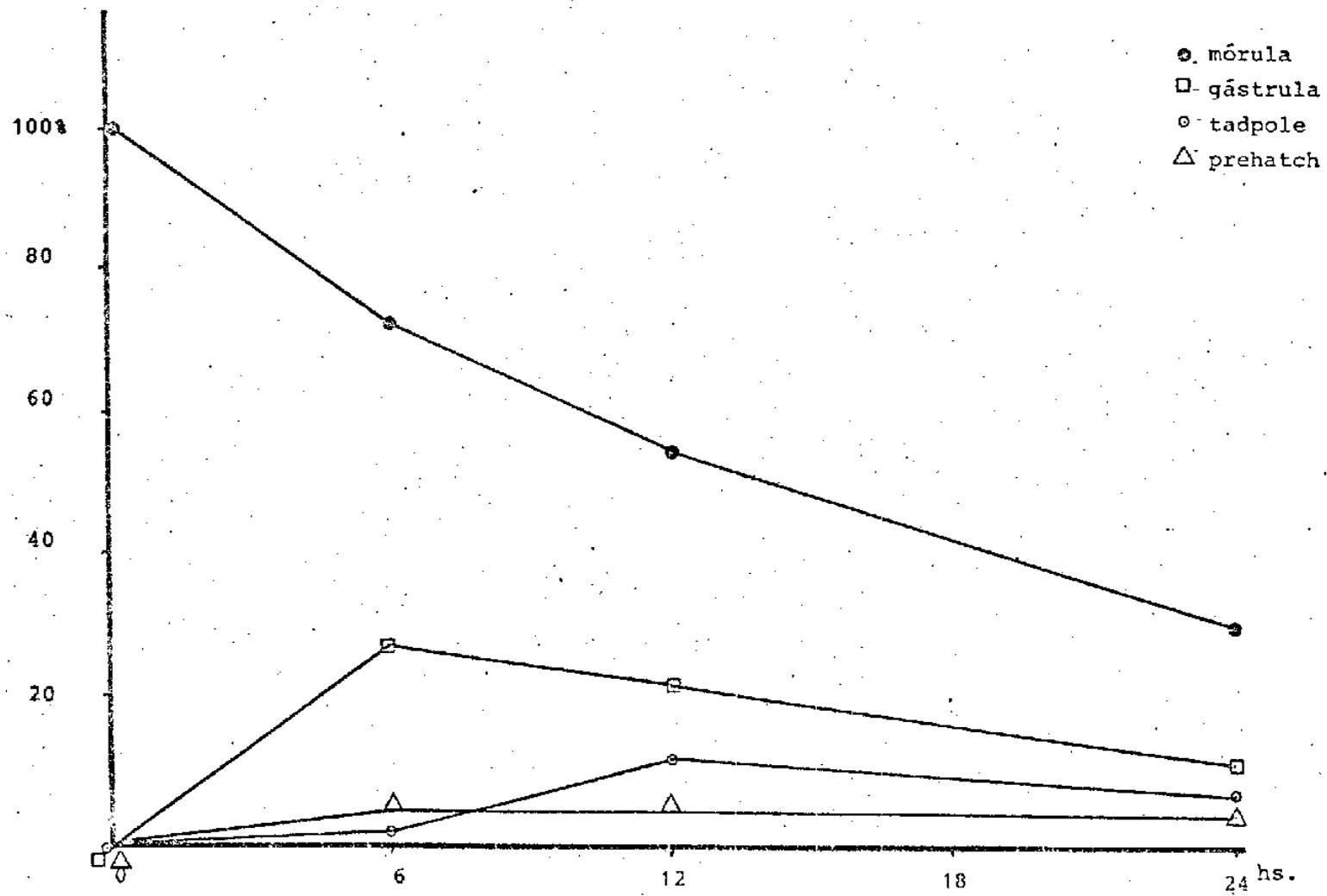


Figura 20. Desenvolvimento de ovos de *Oesophagostomum radiatum* à temperatura de 4°C, UR= 100% em cultura "pura"

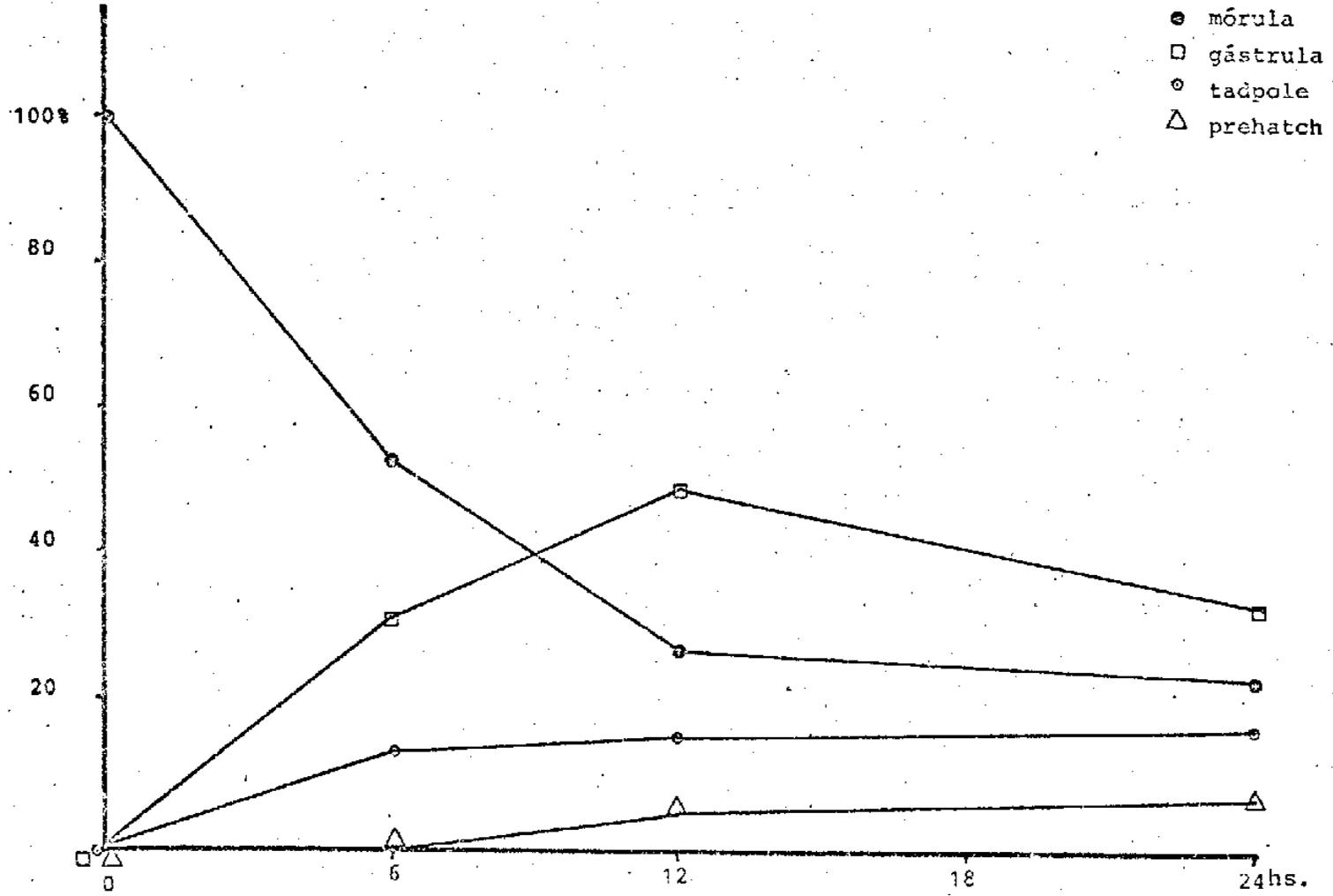


Figura 21. Desenvolvimento de ovos de *Oesophagostomum radiatum* à temperatura de 12°C, UR = 100% em cultura "pura"

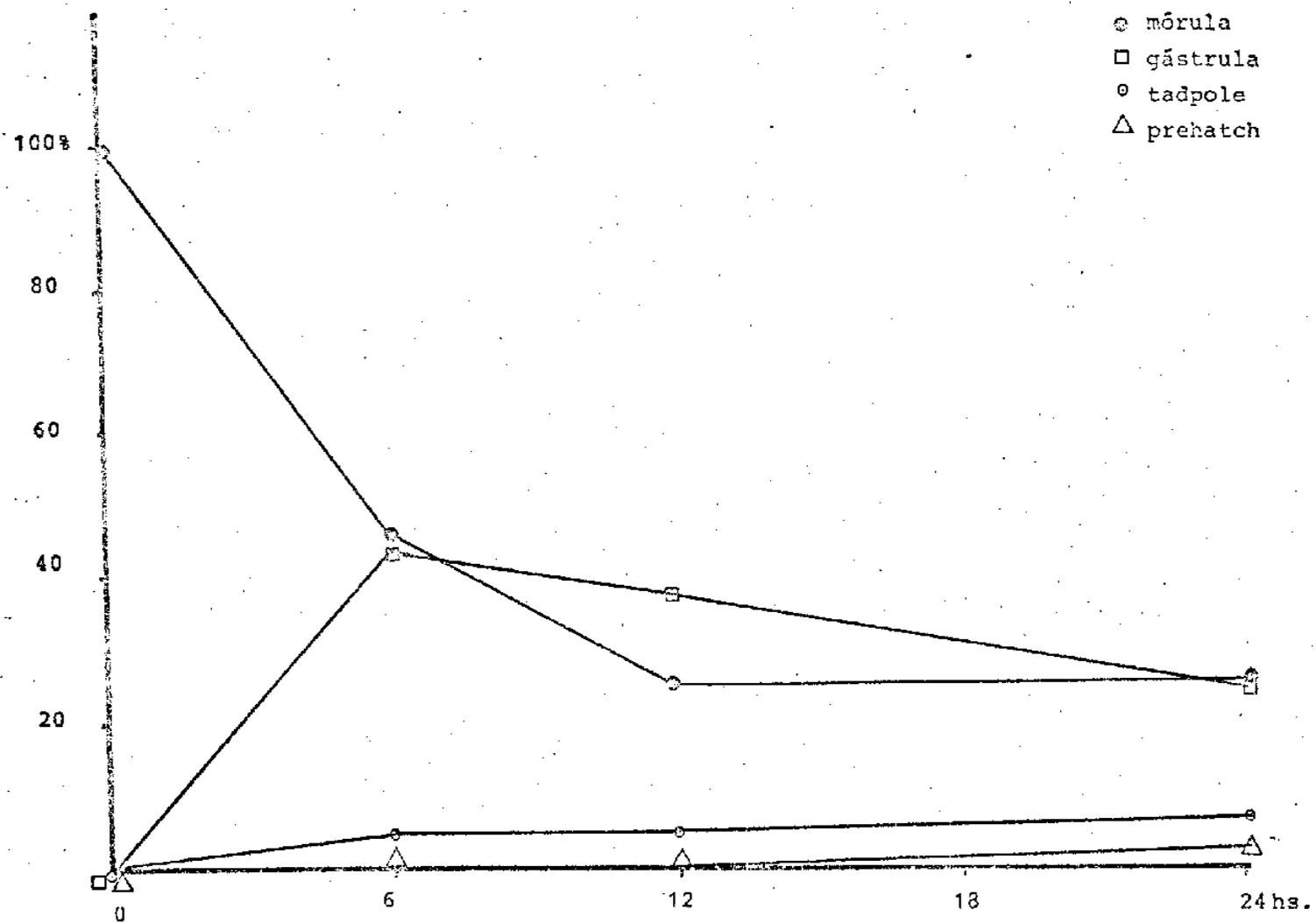


Figura 22. Desenvolvimento de ovos de *Oesophagostomum radiatum* à temperatura de 18°C e UR = 100% em cultura "pura"

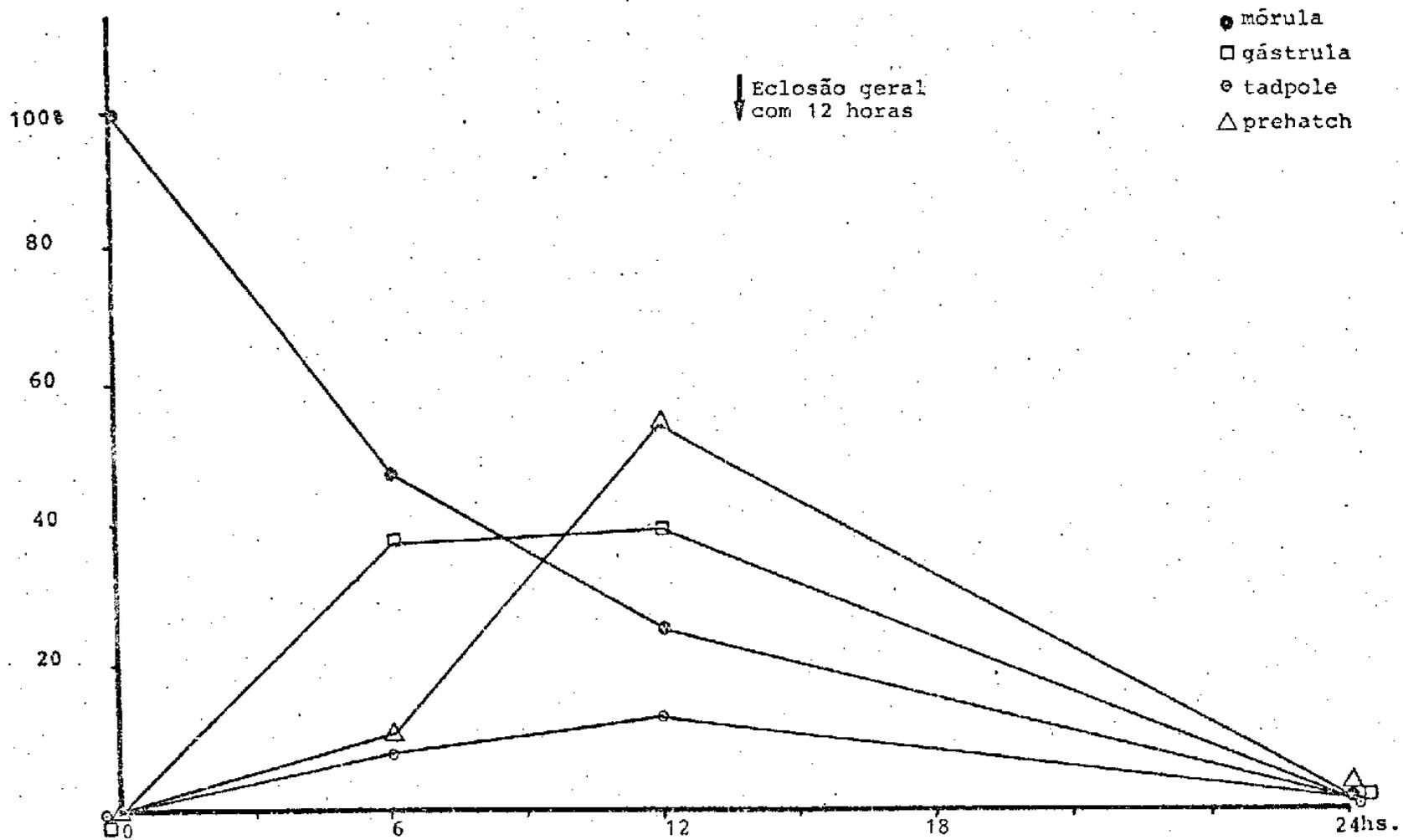


Figura 23. Desenvolvimento de *Oesophagostomum radiatum* à temperatura de ma e UR= 50 - 63% em cultura "pura"

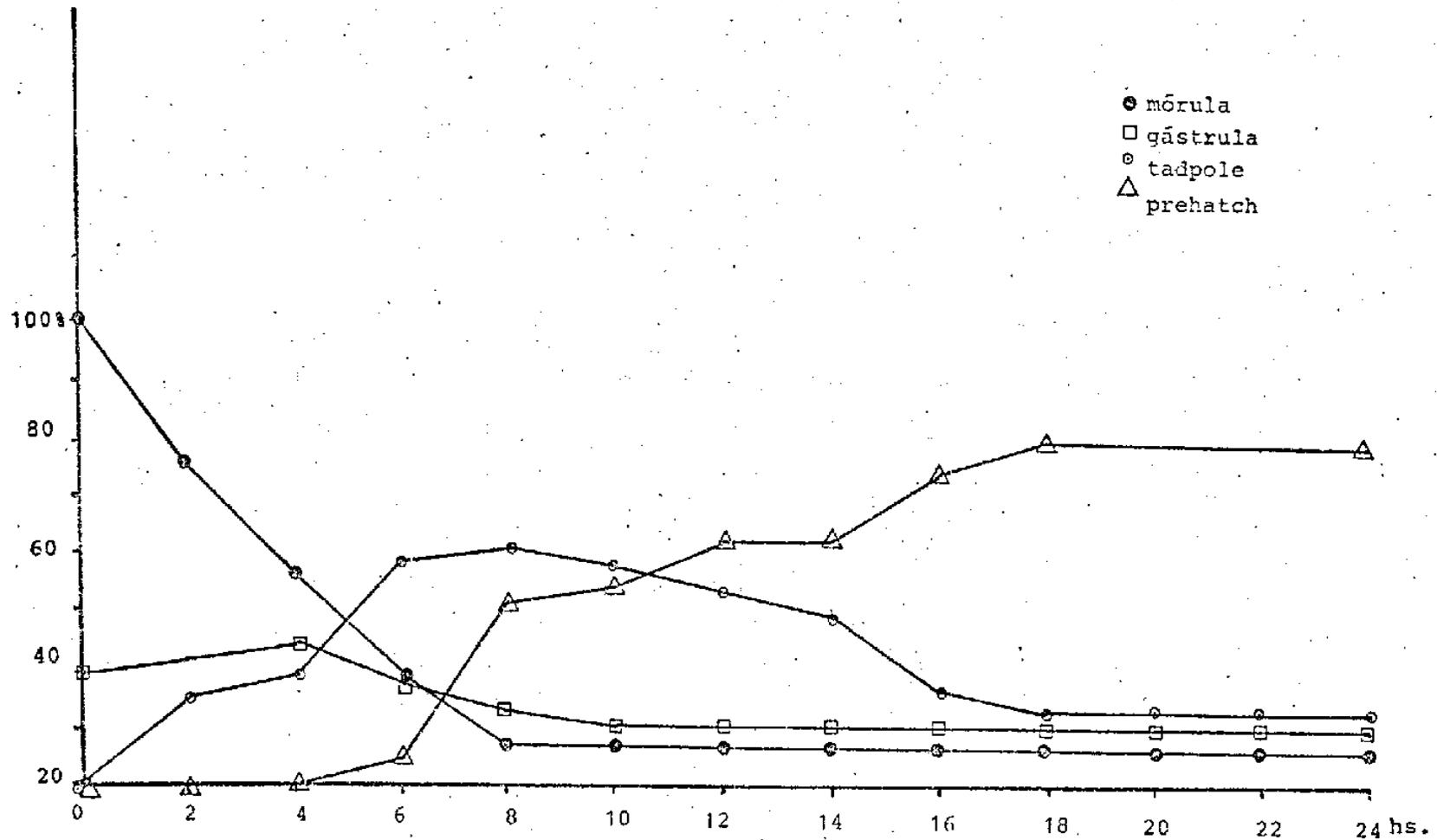


Figura 24. Desenvolvimento de ovos de *Cooperia* spp. (95% *C. punctata*) à temperatura de 4°C, UR = 100% em cultura "mista"

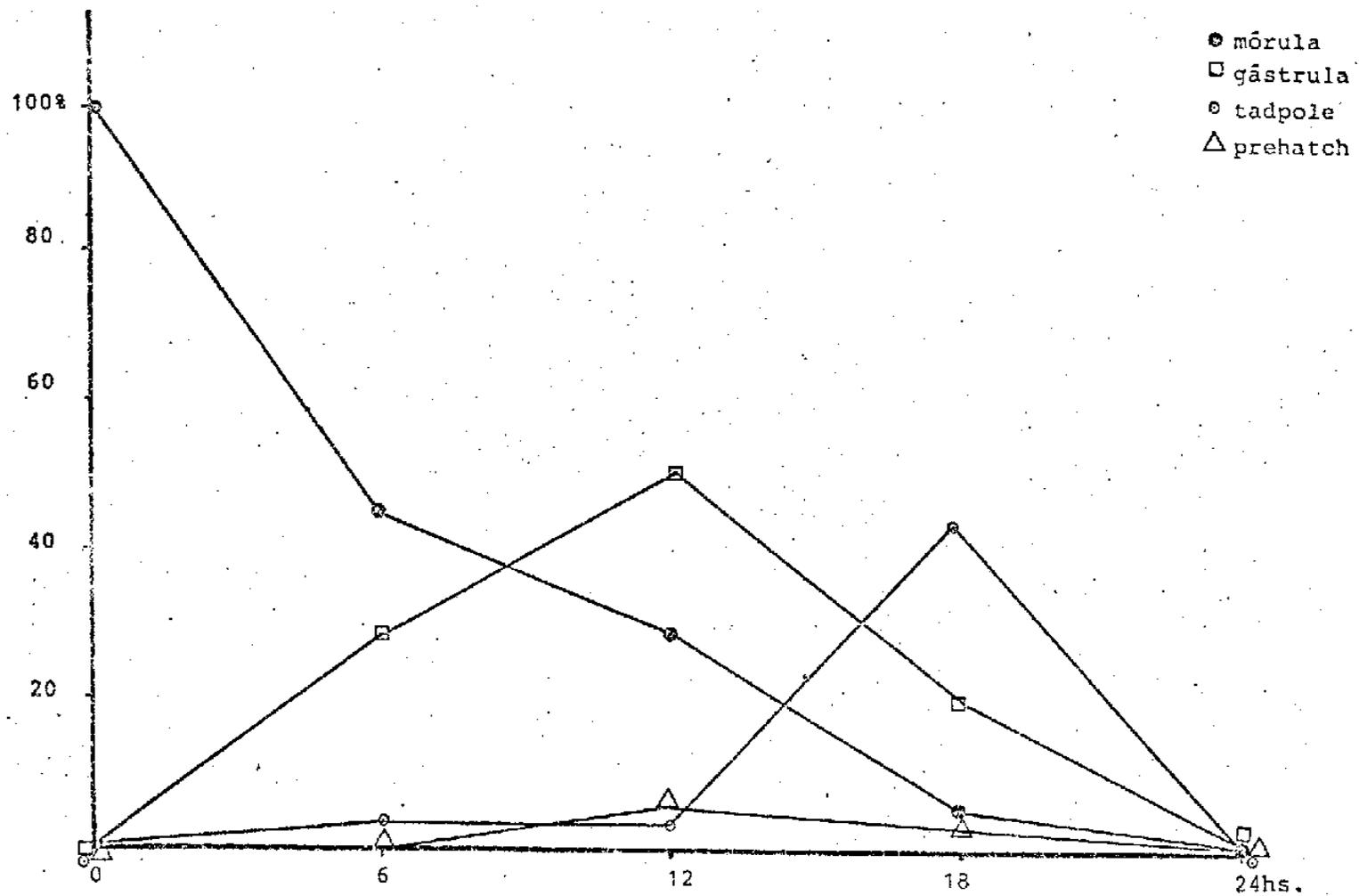


Figura 25. Desenvolvimento de *Cooperia* spp (95% *C. punctata*) à temperatura de 12°C (sem luz) UR = 100% em cultura "mista"

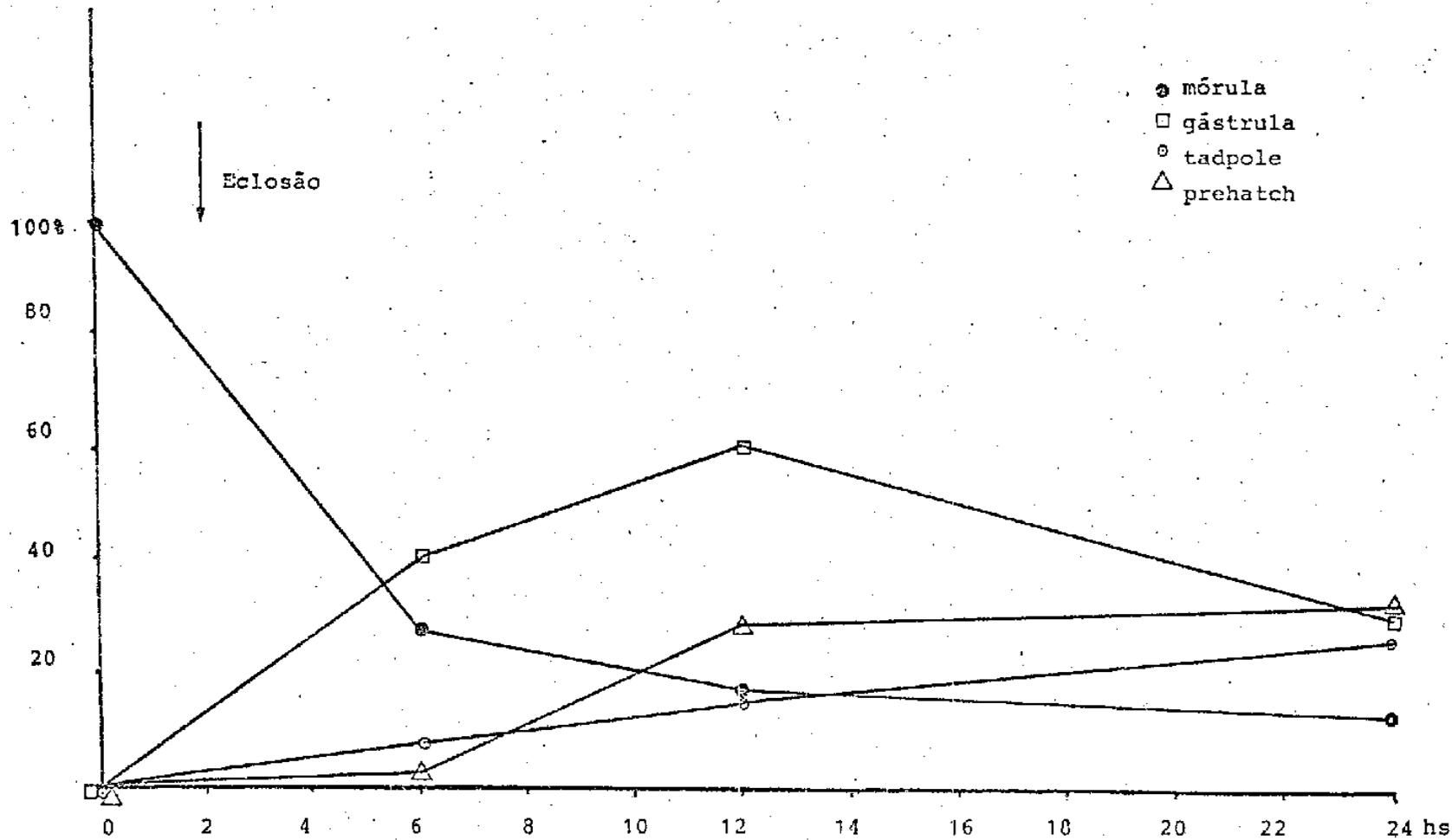


Figura 26. Desenvolvimento de ovos de *Cooperia* spp (95% *C. punctata*) à temperatura de 18°C (com luz); UR = 100% em cultura "mista"

Obs. Larvas de *T. axei*, após 2 horas de experimento.

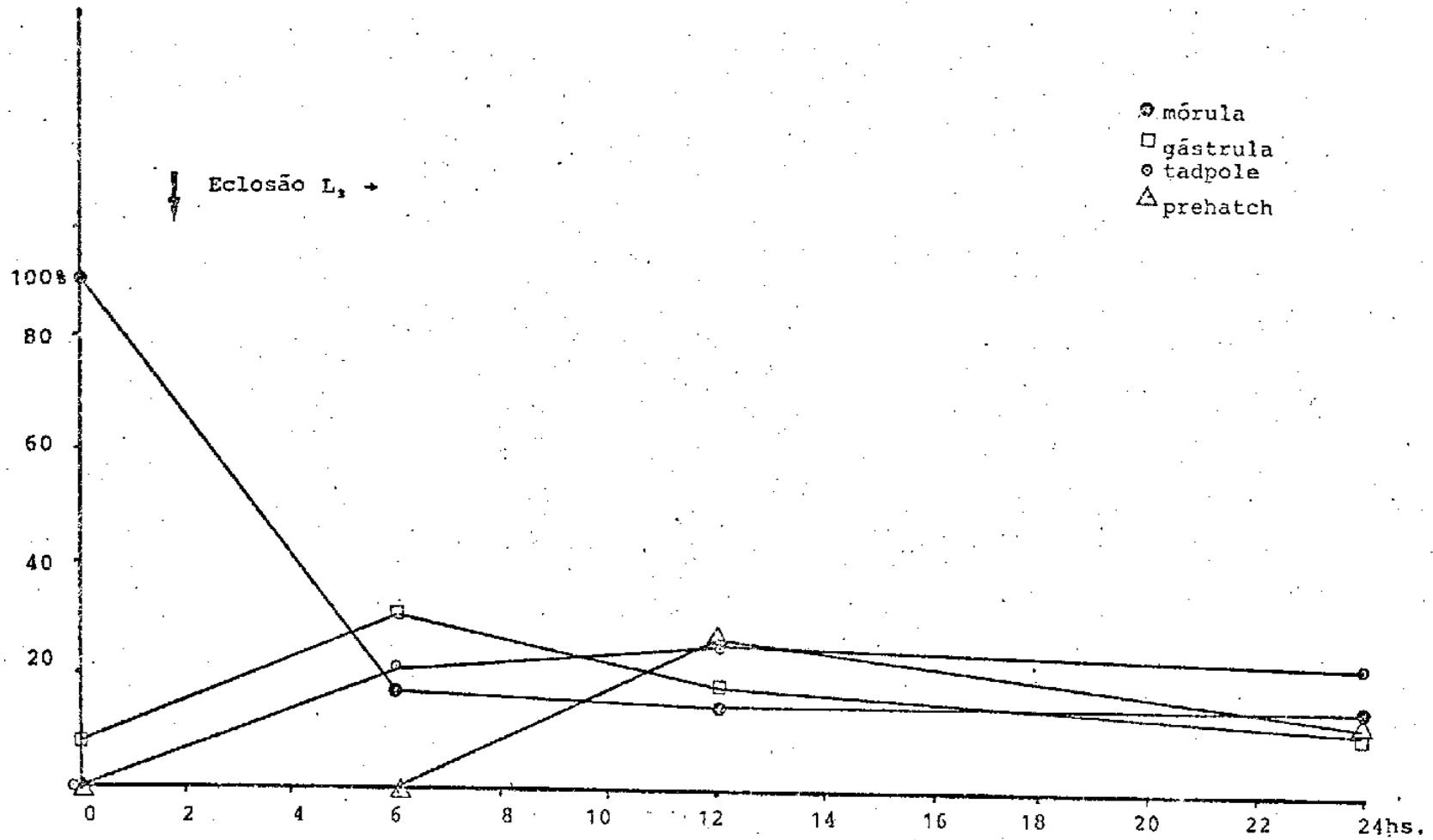


Figura 27. Desenvolvimento de ovos de *Cooperia* spp. (95% *C. punctata*) à temperatura de 25°C (sem luz); UR = 100% em cultura "mista"

Obs. Larvas de *T. axei*, após 2 horas de experimento.

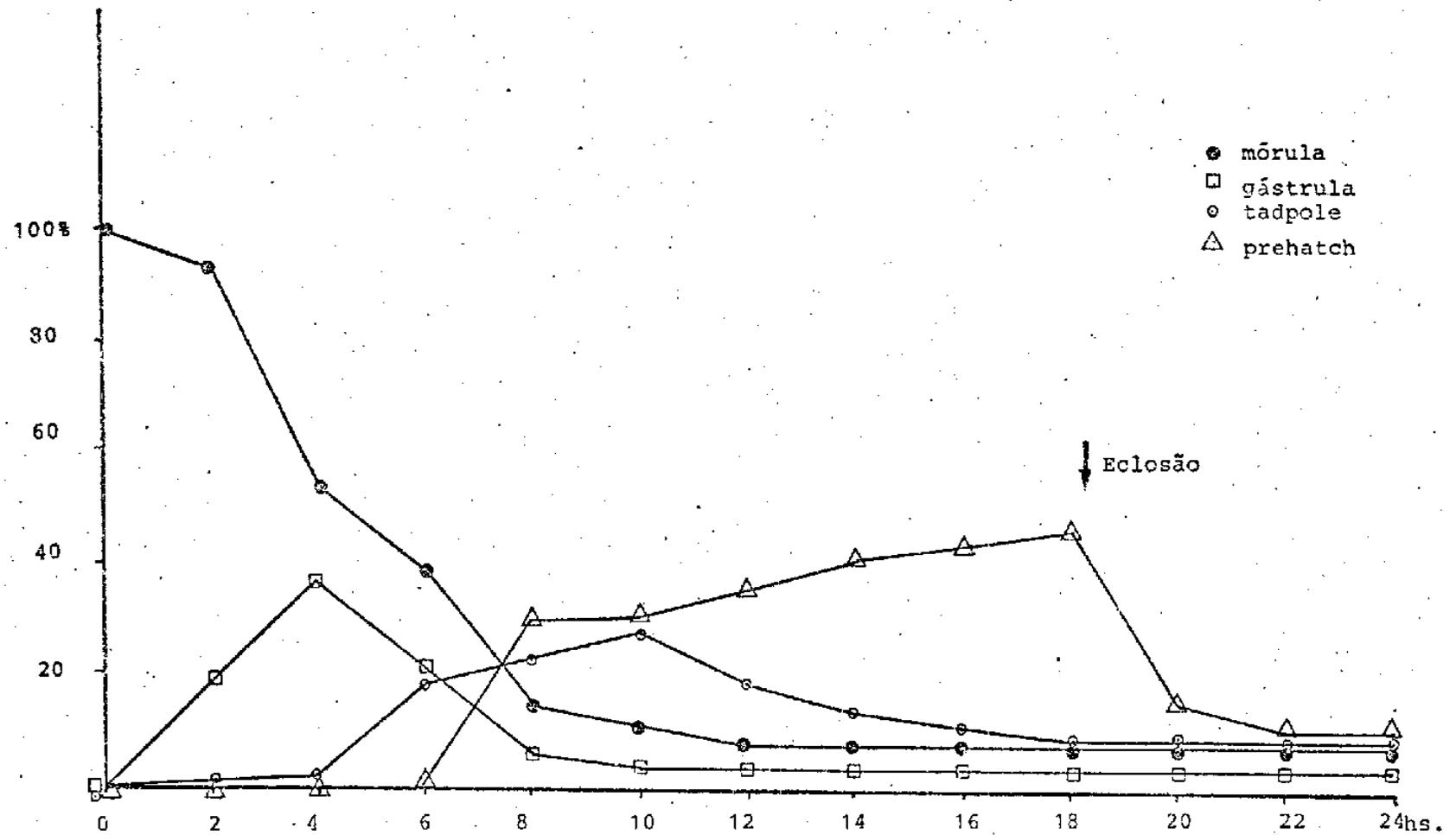


Figura 28. Desenvolvimento de ovos de *Cooperia* spp. (95% *C. punctata*) à temperatura de 39°C; UR = 100% em cultura "mista"

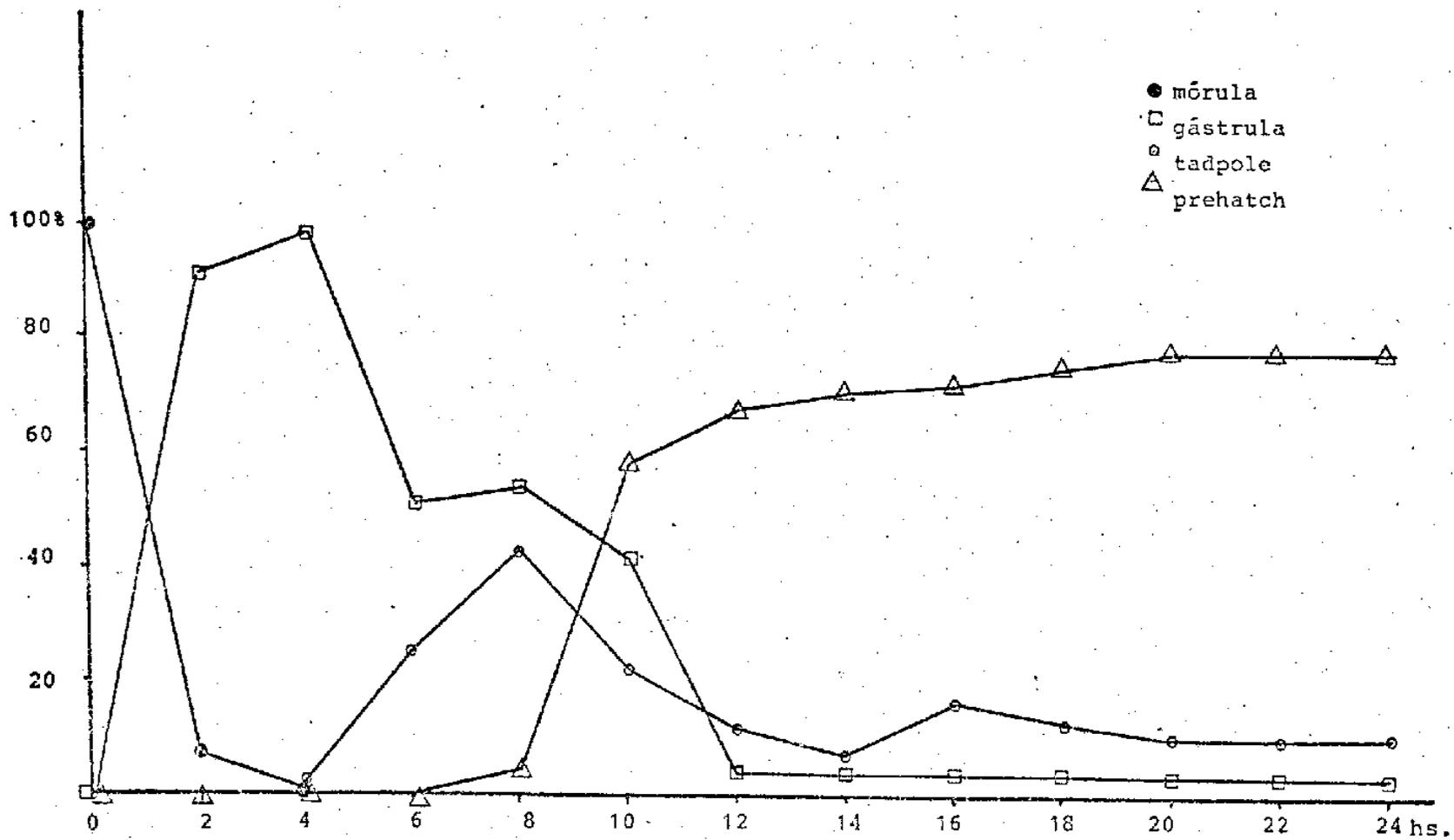


Figura 29. Desenvolvimento de ovos de *Cooperia* spp. (95% *C. punctata*) à temperatura de 40°C; UR = 100%, em cultura "mista"

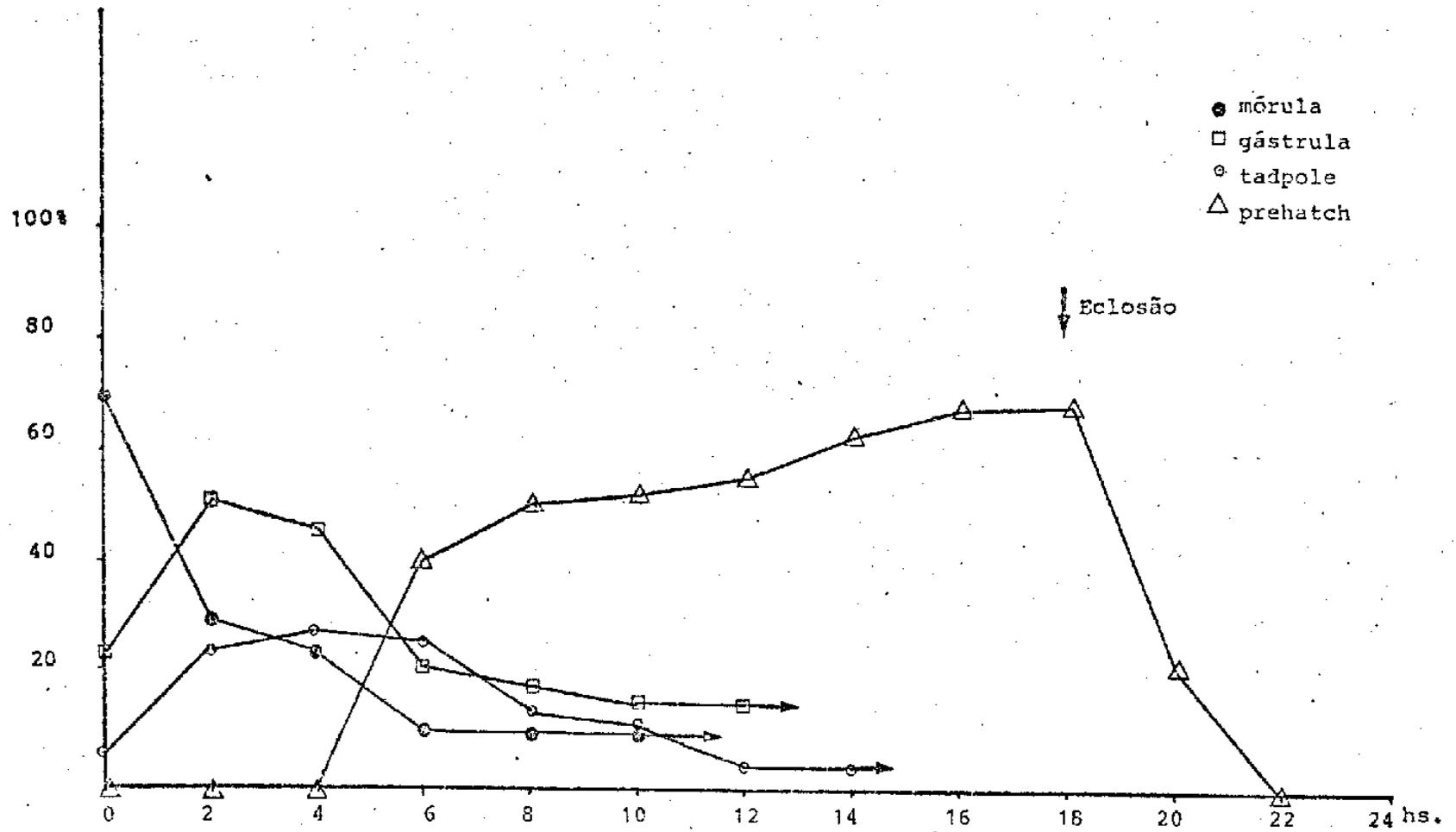


Figura 30. Desenvolvimento de ovos de *Cooperia* spp (95% *C. punctata*) à temperatura de ma_1 ; UR= 51 - 75% em cultura "mista"

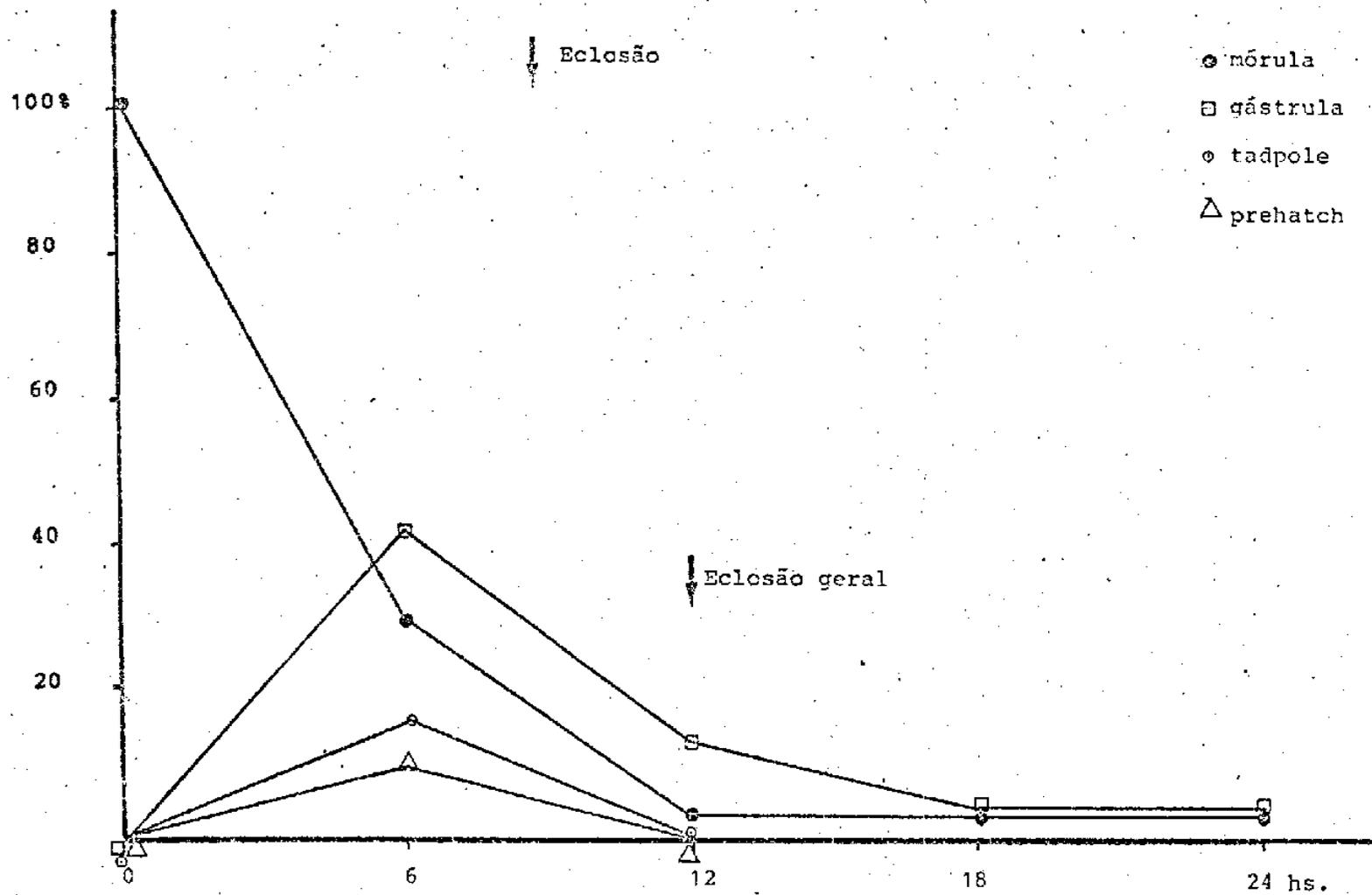


Figura 31. Desenvolvimento de ovos de *Cooperia* spp (95% *C. punctata*) à temperatura de ma_2 em cultura "mista"; UR= 51 - 75%

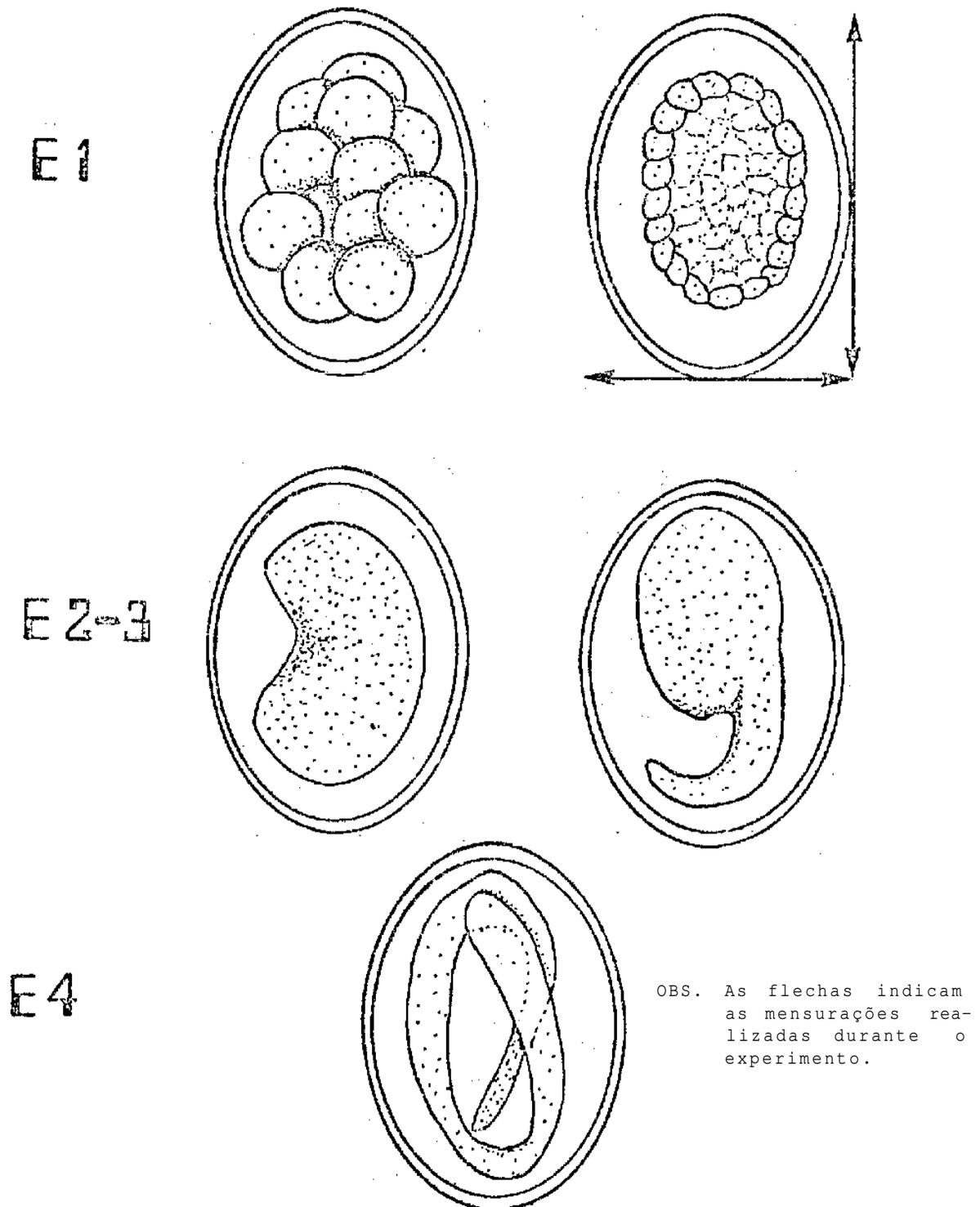


Figura 32. Esquema das fases de desenvolvimento de ovos de nematódeos utilizadas no texto.
 E₁ - Mórula - Gástrula; E_{2,3} - "Tadpole" ou girino;
 E₄ - "Prehatch"

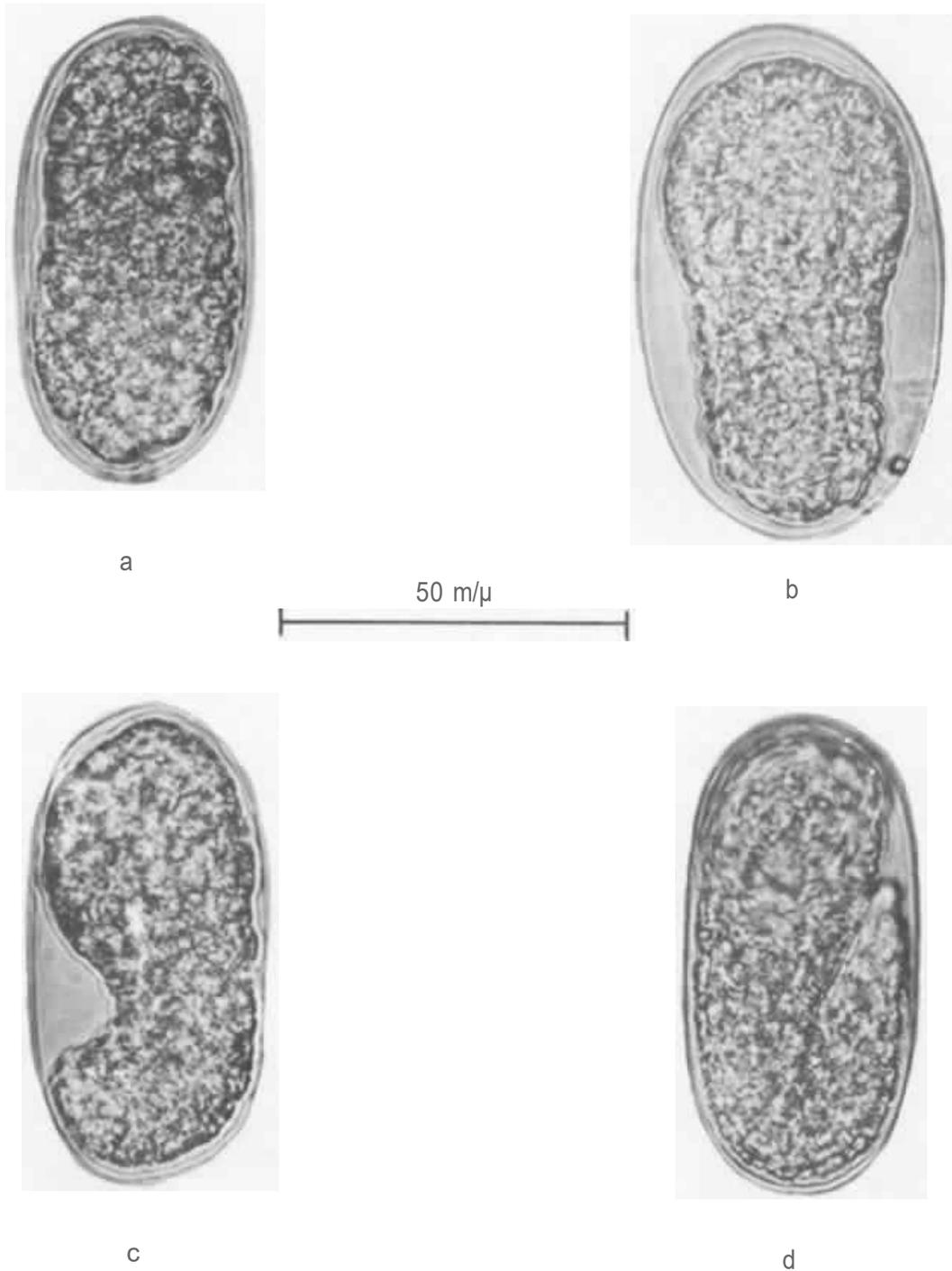


Figura 33. Fases do desenvolvimento de ovos de nematódeos estudadas no texto: a = mórula; b = gástrula; c = "tadpole" (girino); d = "pre-hatch" (fase pre-eclosão).

Espécie fotografada: *Cooperia punctata*.

(Fotografias feitas com Microscópio M20 Wild; filme Kodak (TRI X PAN com filtro verde Izumar XO)

V. DISCUSSÃO

A. MENSURAÇÃO DOS OVOS

A metodologia desenvolvida por WHITLOCK & CROFTON, (1959), CROFTON & WHITLOCK, (1965) e LE JAMBRE & WHITLOCK, (1973), está bem padronizada, envolvendo a tiragem de séries de fotografias de um campo microscópico durante o período de observação. Após concluído este período, os ovos nas fotografias foram classificados nas respectivas fases de desenvolvimento e medidos. Em seguida, calculado o volume, sendo que WALLER e DONALD (1972) utilizaram estas medidas para calcular também a superfície do ovo.

Devido a técnica dispendiosa utilizada pelos referidos autores, envolvendo centenas de fotografias optamos para medir os ovos visualmente durante o experimento, embora seja possível que as medidas tenham sido afetadas devido ao extenso período de cada experimento, no entanto, a maioria de nossas observações confirmam o maior tamanho do ovo.

O erro inerente ao cálculo do volume dos ovos, provavelmente está relacionado com o tipo do ovo. No presente trabalho, os ovos da espécie *H. contortus* foram o que nos forneceram resultados mais fáceis de interpretar, devido a sua maior simetria.

WHITLOCK & CROFTON (1959), CROFTON & WHITLOCK (1965a) ressaltaram uma possível fonte de erros nos cálculos do volume dos ovos, sendo que eles testaram os ovos como esferóides, sem especificarem como foram procedidos os cálculos.

Em nosso trabalho, presumimos que uma elipse alongada seja a forma mais correta, embora enfatizemos que esta aproximação seja mais válida para um tipo de ovo do que para outro.

Todos os trabalhos mencionados permitiram aos autores chegarem a uma conclusão; que os ovos menores desenvolvem-se até a fase de "prehatch" mais rápidos do que os ovos maiores, isto porque os ovos menores tem um menor conteúdo informacional e uma superfície relativa menor, permitindo o desenvolvimento num período mais curto.

Além do mais estes trabalhos foram realizados principalmente com *H. contortus* ou diversas cepas desta espécie, infreqüentemente com *Trichostrongylus colubriformis* (WALLER E DONALD, 1972) ou com *Cooperia curticei* (AHULUWALIA & CHARLESTON,

1974).

Os ovos de *H. contortus* encontrados por nós apresentam maiores dimensões do que a maioria daqueles citados na literatura. Isto poderia ser devido ao fato dos exemplares utilizados possuírem origem bovina, além disso, após as considerações sobre a maneira como foi achado o volume dos ovos, podemos observar que somente em alguns casos se torna válida a teoria de que os ovos nas fases finais de desenvolvimento sejam menores (Tabelas 1 - 4).

Em muitos casos, e especialmente nas observações de *B. phlebotomum* e *O. radiatum*, ocorreu um aumento do volume do ovo na fase final.

No caso de *B. phlebotomum*, o volume do ovo na fase de "tadpole" (lembrando que não houve suficiente desenvolvimento para a fase "prehatch" a ser utilizado) parece estar relacionado à temperatura usada. Nas temperaturas altas (18°C e meio ambiente) há um aumento de volume, nas temperaturas baixas (4°C e 12°C) há uma diminuição do volume na fase "tadpole". *O. radiatum* apresenta uma mudança brusca entre as fases "tadpole" e "prehatch", com um aumento muito grande no volume do ovo na fase final. Embora este ovo seja provavelmente mal descrito como uma elipse, observamos que este aumento no volume ocorreu nas duas condições de temperatura controlada, menos na situação do meio ambiente, mesmo assim, a forma do gráfico é semelhante.

B. MUDANÇAS NO VOLUME DOS OVOS EM CONDIÇÕES
DO MEIO AMBIENTE

Examinando as Figuras 1 - 4, observamos a tendência para um aumento de volume dos ovos em condições do meio ambiente, com exceção de uma vez para *H. contortus*, na direção da fase "prehatch". Este resultado não foi superado uma vez que, toda literatura aparentemente dá apoio a teoria dos ovos menores. Verificamos no entanto, que experimentos sobre o desenvolvimento de ovos deixados no meio-ambiente não foram feitos e que possivelmente as observações de DINNIK & DINNIK (1961), sejam válidas aqui, sendo que as flutuações diurnas da temperatura, são importantes no desenvolvimento dos ovos de nematódeos em condições de campo. Estas condições talvez proporcionem maior desenvolvimento mediante um aumento no volume do ovo (maiores larvas) do que em condições de temperatura/umidade fixas. É possível elaborar experimentos replicados para a análise deste aspecto para estudar diferença do tamanho, taxa de desenvolvimento e rapidez de eclosão em condições naturais durante um ano. SILVERMAN & CAMPBELL (1959) observaram que o desenvolvimento dos ovos de *Ostertagia*, *Trichostrongylus* e *Oesophagostomum* foi bem mais lento do que para *H. contortus*, observação esta, não confirmada por nós, nestes experimentos, nem por RODRIGUES (1980) e nem por BRAGA (1980) em nosso meio.

C. OCORRÊNCIA DE ECLOSÃO DOS OVOS

Segundo a conhecida lei de Van't Hoff e Arrhenius, processos químico-biológicos duplicam a velocidade das reações para cada aumento de 10°C na temperatura. Precisamente, a relação Q_{10} é: $Q_{10} = \frac{k_1}{k_2} 10^{10/(t_1 - t_2)}$, onde k_1 e k_2 são constantes proporcionais as velocidades de reação encontradas às temperaturas t_1 e t_2 , sendo que o valor de Q_{10} é o previsto no aumento da velocidade para cada aumento de 10°C na temperatura.

A maioria das reações biológicas estudadas mostram um valor de Q_{10} entre 2 e 3, embora o valor real do Q_{10} possa variar com a temperatura.

O cálculo das velocidades segundo a lei de Van't Hoff Arrhenius (a chamada "eficiência térmica") é feito em termos da velocidade da reação a 4,5°C que equivale à velocidade unitária. A temperatura de 14,5 assim é igual a 2, sendo que a velocidade da reação nesta temperatura é o dobro da velocidade à 4,5°C.

As temperaturas utilizadas por nós foram de 4°C, 12°C, 18°C e 25°C (= velocidade unitária de 4,5°C) cujas velocidades calculadas são:

temperatura °C	velocidade relativa à 4,5°C
4.0	-
12.0	1,682
18.0	2,550
25.0	4,141

Era esperada então que a taxa de desenvolvimento fosse esta relação linear entre a temperatura e velocidade ($r=0,9973$, $Y=3.9696 + 5.1501X$) mas como observamos na Tabela 7, somente *C. punctata* se desenvolveu até o estágio de eclosão em condições controladas, não chegando a eclosão durante 24 horas à $18^{\circ}\text{C} + 100\%$ UR e chegando à eclosão em 12 horas numa temperatura de $25^{\circ} + 100\%$ UR com uma diferença relativa nas velocidades de desenvolvimento de 1,63 vezes. Este valor observado está um pouco a baixo em termos do valor esperado segundo a lei de Van't Hoff-Arrhenius ($X^2=0,377 - 0,75 < P < 0,90$) mas não significativamente.

Não podemos testar a validade da relação entre a temperatura e velocidade de desenvolvimento em condições do meio ambiente, como também um caso adicional de *C. punctata* (ma_2), o que indica que haja um outro fator (ou fatores) responsável pelo maior desenvolvimento.

Uma possível solução deste problema pode-se buscar num conceito análogo aos "graus-dia" na bioclimatologia vegetal. Sabe-se que diversas plantas requerem uma soma de temperatura diárias (constantes térmicas) para maturação (trigo= 2000°C , milho= 2500°C - MOTA 1976) e seria possível que o conceito de "graus-horas", ou a soma das temperaturas durante o período disponível para o desenvolvimento, seja mais importante do que uma temperatura constante.

Os nossos dados apoiam este conceito: desenvolvimento até a eclosão foi mais comum nas condições "flutuantes" do

meio-ambiente do que em condições controladas (3/4 casos).

Quando somamos as temperaturas ambientais durante as 24 horas de cada experimento do meio ambiente obtivemos os seguintes resultados: a) $\Sigma t^{\circ}=736.20^{\circ}\text{C} \rightarrow 738.40^{\circ}\text{C}$ = não houve eclosão; b) $\Sigma t^{\circ}=760.20^{\circ}\text{C} \rightarrow 764.0^{\circ}\text{C}$ = houve eclosão de *C. punctata*, *H. contortus* e *O. radiatum*.

Estas duas faixas de temperatura aparentemente oferecem condições diferentes para as espécies estudadas, com exceção de *B. phlebotomum* cujas exigências de desenvolvimento são inteiramente diferentes. Embora é claro que o número de observações é muito pequeno para tirar conclusões bem definidas, é possível que esta técnica de "graus-horas" em condições melhores definidos dê uma solução para as diferenças no desenvolvimento entre as diversas espécies de nematódeos no meio-ambiente.

Devemos ressaltar que ainda temos um fator (ou fatores) não incluído nessa discussão: a soma dos "graus-horas" para uma temperatura fixa de $25^{\circ}\text{C} = 600^{\circ}\text{C}$, quando ocorreu eclosão, no caso (somente) de *C. punctata*, o que é significativamente baixo em relação a faixa de $760 - 764^{\circ}\text{C}$. Uma diferença óbvia neste caso é a ausência de luz (nota-se que *H. contortus* nesta mesma temperatura ($25^{\circ} + \text{luz}$) não eclodiu, mas sim em meio ambiente). Como funciona a luz na influência da eclosão nestas condições é difícil explicar.

As condições experimentais de CROFTON (1965) umidade relativa constante à 100% e temperaturas diferentes controladas

são muito semelhantes às nossas. No entanto os resultados são bem diferentes, *H. contortus* (cepa não especificada) eclodiu em temperaturas entre 9° e 36°C, com um período até a eclosão de 13 horas à 36°C. A eclosão sempre ocorreu em menos de 24 horas em temperaturas acima de 25°C. Temperaturas de 10-11°C permitiram alguns ovos eclodirem após 7 dias. Os nossos resultados indicaram não haver nenhuma eclosão em temperaturas entre 4 - 25° C dentro de 24 horas; somente no meio ambiente (760°C) ocorreu eclosão dentro de 12 horas. Os resultados de CROFTON (1965) indicaram uma soma acumulativa mínima de 552,0°C indicando que a cepa usada por este autor (provavelmente cepa de (Bristol") tenha exigências diferentes para o seu desenvolvimento.

Bunostomum trigonocephalum, testado por CROFTON (1965) chegou à eclosão em 24 horas à 23°C. mas em temperaturas mais baixas (15-16°C), sete dias foram necessário; à temperatura de 17°C, 48 horas foram necessárias.

Dentro das condições de nosso experimento não podíamos esperar eclosão. CROFTON (1965) não conseguiu eclosão com *O. venulosum* em nenhuma das condições controladas testadas durante 2 anos, confirmando os nossos resultados; o experimento em condições do meio ambiente (764.0°C) mostrou no entanto, eclosão.

Embora trabalhando com duas espécies do gênero *Coope-ria*, CROFTON (1965) obteve resultados semelhantes eclosão de *C. curticei* e *C. oncophora* à 25°C em 24 horas condições idênticas às nossas.

No trabalho de CROFTON acima citado, o autor não testou condições do meio ambiente as quais aparentemente oferecem um conjunto de condições mais favoráveis para o desenvolvimento e eclosão dos ovos de nematódeos testados por nós.

D. ECLOSÃO DOS OVOS: AVALIAÇÃO DOS RESULTADOS

Não somente o comportamento dos ovos em termos de volume, mas também a ocorrência ou não de eclosão é notável. Confirmamos as observações de ROSS & GORDON (1936) de que ovos de *Trichostrongylus spp.* podem desenvolver e eclodir em temperaturas extremamente baixas (Figura 27), embora o nosso pouco material não nos permita outras conclusões. Resultados interessantes são os dados na Tabela 6, onde verificamos que a situação "meio-ambiente" é a mais favorável para o desenvolvimento e eclosão dos ovos das espécies estudadas. No entanto, observamos variações entre os diferentes experimentos "meio-ambiente" que podem ser resumidos assim:

1) Com temperatura $\pm 30^{\circ}\text{C}$ num tempo de 12 horas, após o começo do experimento, ovos de *H. contortus* e *O. radiatum* eclodiram, enquanto que ovos de *C. punctata* não;

2) com temperatura $\pm 27 - 28^{\circ}\text{C}$, ovos de *C. punctata* começaram a eclodir com 8 horas no entanto ovos de *H. contortus* ou *O. radiatum* não eclodiram;

3) com temperatura fixa (Figura 7) de 25°C , ovos de *C. punctata* eclodiram e nas outras temperaturas controladas também não houve eclosão das outras espécies, embora fosse possível o desenvolvimento.

Com estas observações podemos fazer uma tentativa de definir a faixa de temperatura para desenvolvimento e eclosão de ovos de *H. contortus* em nosso meio como sendo $\pm 30^{\circ}\text{C}$. O mesmo para *O. radiatum*. A faixa para *C. punctata* é claramente um pouco mais baixa; não temos suficiente dados para *B. phlebotomum* para que possamos tirar conclusões.

Estes dados embora não concordando com os dados da literatura de áreas temperadas ou frias, confirmam outras já feitas em nosso meio, tais como PIMENTEL NETO (1970) que mostrou a importância da combinação da temperatura com a chuva para o desenvolvimento de hemonose em bezerros, BRAGA (1980) que observou menor desenvolvimento de sobrevivência para *Oesophagostomum* spp. e *Trichostrongylus* sp. do que para *Haemonchus contortus*; RODRIGUES (comm. pessoal, 1981) observou maior desenvolvimento e eclosão dos ovos de diversas espécies de nematódeos em condições do meio-ambiente do que em condições controladas.

DINNIK & DINNIK (1961) não observaram desenvolvimento de *H. contortus* no campo, quando as flutuações diurnas estavam entre $11,1^{\circ}\text{C}$ e $21,1^{\circ}\text{C}$, enfatizando a diferença entre esta cepa e a estudada por DINABURG (1944). GORDON (1948) transferiu as observações de DINABURG (1944) para as condições da Austrália, mas agora sabemos que existem muitas cepas diferentes no mundo; a cepa estudada em nosso meio, morfológicamente indistinguível de *H. contortus* no sentido clássico de TURNER & KATES (1954) veja MIRANDA (1981), aparentemente também exige temperaturas mais altas para chegar a eclosão, embora não tão alta como a cepa

descrita por LE JAMBRE & WHITLOCK (1973), onde desenvolvimento e eclosão somente ocorre com + 40°C.

Bunostomum phlebotomum é uma espécie muito diferente e também muito pouco estudada. Nos estudos de BRAGA (1980) e SOARES (1981) sobre larvas infectantes quase não se encontrou L₃ desta espécie. Nas nossas observações também enfatizamos diversas diferenças; além do problema do volume dos ovos, foram encontradas poucas formas na fase "prehatch" e nenhuma eclosão, mesmo nas condições do meio-ambiente. Esta espécie obviamente precisa de muito mais observações; no momento os nossos resultados e a falta de observação desta espécie em outros experimentos fortaleceram o enunciado de REINECKE (1970) de que a epidemiologia da bunostomose é um assunto diferente do que o do tristrongilose.

Oesophagostomum spp. não foi estudado anteriormente da mesma maneira. As nossas observações confirmam as de BRAGA (1980) e SOARES (1981) sobre o fato que a espécie é bem adaptada no nosso meio e acreditamos que maior atenção deveria ser dada, devido também aos seus efeitos patogênicos. É interessante observar que a eclosão ocorre concomitante com *Haemonchus* em temperaturas altas, normalmente, considere-se a espécie como uma das condições mais frias, sugerindo mais uma vez uma adaptação local.

REINECKE (com. pessoal) acredita em variações locais dentro da República da África do Sul, o que torna importante, estudos básicos locais, também no Brasil.

E. EPIDEMIOLOGIA DAS INFECÇÕES: AVALIAÇÃO DOS RESULTADOS

A sugestão de CROFTON & WHITLOCK (1965) de que seria possível fazer uma previsão da duração da fase de desenvolvimento conhecendo-se o volume menor e maior do ovo de uma espécie, por cálculo direto, provavelmente é válida somente para os tricostrongilídeos e dentre estes provavelmente para *H. contortus* a espécie mais estudada. Os resultados de WALLER & DONALD (1972) indicam a possibilidade de semelhança entre *T. colubriformes* e *H. contortus* o que não poderia ser confirmada por nós. Já está evidente que o comportamento epidemiológico de *Cooperia punctata* é bastante diferente. Além das observações já citadas anteriormente, indicando que é a espécie mais comum em termos de extensidade e intensidade de infecção observamos que, com uma faixa de temperatura um pouco mais baixa para o seu desenvolvimento é possível uma maior ocorrência. Na Tabela 8 apresentamos os valores médios para a nossa faixa de temperatura, umidade relativa e insolação durante o período de 1942-1979 (38 anos), quando observamos que, se a espécie *H. contortus* exhibe preferências por temperaturas mais altas, a taxa média de eclosão seria nos meses de dezembro, janeiro, fevereiro e março também período chuvoso. PIMENTEL NETO (1976) verificou que são estes meses os de menor taxa de hemocose em bezerros no Estado do Rio de Janeiro, e BRAGA (1980) num estudo extenso da sobrevivência das larvas infectantes na pastagem, observou que este período é o pior para *H. contortus*. Podemos então pensar num mecanismo compensatório: quando as temperaturas são altas, é possível uma

taxa mais alta de eclosão, mas com menor sobrevivência. Para *C. punctata*, com maior sobrevivência nos estudos de BRAGA (1980) postulamos menor adaptação devido a ocorrência de temperaturas mais favoráveis durante muito tempo.

Adicionalmente as observações feitas por MIRANDA (1981) e PALOSCHI (1980) que a Fazenda Santa Mônica (CMPGL/ EM-BRAPA) não seria área adequada para estudos de hemoncose, sim para cooperiose, estão ligadas muito mais as condições ambientais, do que ao manejo extensivo apontado por estes autores. Sugerimos portanto uma outra análise neste sentido dos dados disponíveis.

VI. CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos, pode-se chegar as seguintes conclusões:

1) As nossas observações com ovos *H. contortus*, *C. punctata*, *B. phlebotomum* e *O. radiatum*, não confirmam a teoria do "menor ovo". Somente a primeira espécie aproxima-se desta teoria, a qual foi desenvolvida principalmente com *H. contortus*;

2) as condições do meio ambiente foram mais favoráveis do que qualquer conjunto de condições controladas para o desenvolvimento dos ovos destas quatro espécies, sendo que a eclosão dos ovos ocorreu também nas condições ambientais com maior frequência;

3) os ovos da espécie *B. phlebotomum* não eclodiram em nenhum conjunto de condições estudadas;

4) os ovos de *B. phlebotomum* e *O. radiatum* aumentam de volume durante o desenvolvimento em todas as condições estudadas;

5) a previsão da dinâmica de desenvolvimento epidemiológico de uma infecção por nematódeos sugerida por LE JAMBRE & WHITLOCK (1973) não é muito indicada na base de nossas observações; no entanto essas explicam em parte a epidemiologia destas infecções em nosso meio.

Sugerimos portanto um trabalho posterior com a mesma linha de estudos aqui desenvolvida em regiões diferentes do Brasil, com a finalidade de se fazer um mapa epidemiológico das helmintoses mais comuns, visando um plano de controle mais objetivo e eficiente do rebanho brasileiro.

VII. RESUMO

Foram feitos estudos em condições controladas e de meio ambiente sobre o desenvolvimento e eclosão dos ovos dos nematódeos gastrintestinais de bovinos: *Haemonchus contortus*, *Cooperia punctata*, *Oesophagostomum radiatum* e *Bunostomum phlebotomum*. Os ovos foram obtidos ou pela dissecação de fêmeas previamente identificadas (culturas "puras") ou de fezes de animais infectados (cultura "mistas"). Foram calculados os volumes dos ovos nas fases de desenvolvimento durante 24 horas ou até a eclosão. As observações não confirmam a teoria segundo a qual os ovos menores desenvolvem e eclodem primeiro.

B. phlebotomum não eclodiu nas condições de 4°C + 100% UR, 12°C + 100% UR, 18°C + 100% UR ou meio ambiente. *O. radiatum* nestas condições eclodiu somente no meio ambiente. Nas mesmas condições, *H. contortus*, também eclodiu somente no meio ambiente enquanto *C. punctata* eclodiu a 25°C + 100% UR e meio ambiente. Concluimos que as espécies estudadas são bastante diferentes entre si e as da literatura quanto as condições para desenvolvimento e eclosão.

VIII. SUMMARY

The development and hatching of the eggs of the bovine gastrointestinal nematodes *Haemonchus contortus*, *Cooperia punctata*, *Oesophagostomum radiatum* and *Bunostomum phlebotomum* was studied under controlled and environmental conditions. Eggs were obtained either by the dissection of previously identified females ("pure" cultures) or from faeces of infected animals ("mixed" cultures). The volume of the eggs was calculated during 24 hours or to hatching and these observations do not confirm the theory that the smallest eggs develop and hatch first.

Eggs of *B. phlebotomum* did not hatch under the controlled conditions of 4°C + 100% RH, 12°C + 100% RH, 18°C + 100% RH or under environmental conditions. Under the same conditions, *O. radiatum* hatched only in the environment, as did *H. contortus*, while *C. punctata* hatched at 25°C + 100 + RH and those of the environment. It was concluded that the species studied are quite different amongst themselves, and with regard to the literature, as far as the conditions necessary for development and hatching.

IX. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AHLUWALIA, J.S. & CHARLESTON, W.A.C., (1974). Studies on the free living stages of *Cooperia curticei*. *N. Z. Vet. J.* 22:191-195.
- ANDREWS, J.S., (1939). Life history of nematode *Cooperia curticei* and development of resistance in sheep. *J. Agric. Res.* 58: 771-778.
- BIRD, A.F., (1971). The Structure of nematodes. Academic Press, N. Y., U.S.A. 318 p.
- BRACA, R.M. (1979). *Desenvolvimento e sobrevivência de ovos e larvas de nematodeos gastrintestinais de bovinos, sob condições naturais.* Tese de Mestrado, UFRRJ. 82 p.p.
- CHITWOOD, L.M. & CHITWOOD, M.B., (1974). Introduction to nematology. *University Park Press, Baltimore,* 364 p.

- CHRISTIE, M. & JACKSON, F. (1982) Specific identification of strongyle eggs in small samples of sheep faeces. *Research in veterinary Science* 1982, 32, 113-117.
- CROFTON, H.D. (1965). Ecology and biological plasticity of sheep nematodes I. The Effect of temperature on the hatching of eggs of some nematode parasites of sheep. *Cornell Vet.* 55, 242.
- CROFTON, H.D. and WHITLOCK, J.H. (1965). Ecology and biological plasticity of sheep nematodes. II Genetic x enviromental plasticity in the *Haemonchus contortus* (Rud. 1803). *Cornell Vet.* 55, 251.
- CROFTON, A.D. and WHITLOCK, J.H. (1965a). Ecology and biological plasticity of sheep nematodes Studies with *Ostertagia circumcinctax* (Stadlmann) 1894. *Cornell Vet.* 55, 259.
- CROFTON, H.D. and WHITLOCK, J.H. (1965b). Ecology and biological plasticity of sheep nematodes. IV The biological significance of temperature x time hatching curves for eggs of sheep nematodes. *Cornell Vet.* 55, 263.
- CROFTON, H.D. and WHITLOCK, J.H. (1965c). Ecology and biological plasticity of sheep nematodes. The relationship between egg volume and hatching time. *Cornell Vet.* 55, 274.
- CUNLIFFE, G. & CROFTON, H.D. (1954). Egg size and diferential egg

- counts in relation to sheep nematodes. *Parasitology* 43: 275-286.
- DINABURG, A.G. (1944). Development and survival under outdoor conditions of eggs and larvae of the common ruminant stomach worm, *Haemonchus contortus*. *J. Agric. Res.* 69:421-433.
- DINNIK, J.A. & DINNIK, N.N., (1961). Observation on the longevity of *Haemonchus contortus* larvae on pasture herbage in the Kenya highlands. *Bull Epiz. Dis. Afr.*, 9:193-208.
- GOLDBERG, A. (1951). Life history of *Oesophagostomum venulosum* a nematode parasite of sheep and goats. *Proc. Helm. Soc. Wash.* 18(1):36-47.
- GORDON, H. McL. & WHITLOCK, H.V., (1939). A new technique for counting nematodes eggs in sheep faeces. *J. Council Scient Indust. Res. Australia*, 12:50-52.
- GORDON, H. McL. (1948). The epidemiology of parasitic disease, with special reference to studies with nematode parasites of sheep. *Austr. Vet. J.* 24-17.
- GORDON, H. McL. (1967). The diagnosis of helminthosis in sheep. *Vet. Med. Rev.* 263:140-168.
- ISENSTEIN, E; R.S. 1963. The life history of *Cooperia onchopho-*

- ra. (Railliet, 1898) Ranson, 1907, a nematode parasite of cattle. *J. Parasit.* 49:235-240.
- KATES, K.C. & SHORB, O.A., (1943). Identification of eggs nematodes parasitic in domestic sheep. *Am. J. Vet. Res.* 4:54-60.
- KHAN, Z.I. & DORSMAN, W. (1978). *Trichostrongylus colubriformis* cultivation of the free-living stages. *J. Parasit.* 64:1024-1027.
- KRUG, E.S. & MAYHEW, R.L., (1949). Studies on bovine gastro-intestinal parasite. XIII Species diagnosis of nematode infections by egg characteristics. *Trans. Am. Micro. Soc.* 68: 236-239
- LE JAMBRE & WHITLOCK (1973). Optimum temperature for egg development of phenotypes in *Haemonchus contortus cayugensis* as determined by Arrhenius diagrams and Sacher's entropy function. *Inter. J. Parasit.* 3:299-310.
- LEVINE, N.D., MEHRA, K.N., CLARCK, D.T. & AVES, J. (1960). A Comparison of nematode egg counting techniques for cattle and sheep feces. *Am. J. Vet. Res.*, 511-515.
- LINSTOW, O. von (1907). Neue und bekannte Nematoden. *Ctbl. Bakt. I Orig.* 44(3), 265-267.
- MIRANDA, M.A. (1981). *Aspectos Biométricos de alguns caracteres*

- morfológicos de duas espécies do gênero Haemonchus Cobb*, 1898. Tese de Mestrado. Univ. Fed. Rural. do Rio de Janeiro, 78 pp.
- MONNIG, H.O. (1926). The life-histories of *Trichostrongylus instabilis* and *T. rugatus* of sheep in South Africa. 11/12. th. Rep. Vet. Res. S. Afr., 221-251.
- MONNIG, H.O. (1931). The specific diagnosis of nematode infestation in sheep. 17 th. Rep. Vet. Res. Un. S. Afr. 221-251.
- PALOSCHI, C.G. (1981) *Relação da carga média, razão fêmea/macho e número de ovos por fêmeas de populações de Cooperia spp. em bezerros HVB e Mestiços HVB x Guzerá*. Tese de Mestrado. Univ. Fed. Rural do Rio de Janeiro. 91 p.
- PIMENTEL, M.N. (1976). *Epizootiologia da haemoncose em bezerros de gado de leite no Estado do Rio de Janeiro*. Tese de Mestrado. Univ. Fed. Rural do Rio de Janeiro. 57 p.
- RAILLIET, A. (1900). Observation sur quelques sclerostomiens des ruminants. *Ann. Par.* 3(1)82-95.
- REINECKE, R.K. (1970). Helminth diseases in domestic animals in relation to their environment. *S. Afr. J. Sci.* 66:192-198.
- RODRIGUES, M. de L.A. (1980) *Modificação da técnica de Whitlock (1959), para o diagnóstico de Nematodeos Gastrintestinais de*

- Bovinos*. Tese de Mestrado. Univ. Fed. Rural do Rio de Janeiro. 70 p.
- RUDOLPHI, C.A. (1803) Neue Beobachtungen über die Eingeweidewürmer, *Zool. u. Zoot.* 3(2):1-32.
- SOUZA SOARES, J.C.R. (1980). *Estudo em condições naturais da migração vertical e disponibilidade das larvas infectantes de nematódeos Strongyloidea, parasitos de bovinos, no Estado do Rio de Janeiro*. Tese de Mestrado. Fundação Oswaldo Cruz, 71 p.
- SHORB, D.A. (1939). Differentiation of eggs of various genera of nematodes parasitic in domestic ruminants in the United States. *Tech. Bull. U.S. Dept. Agric.* 694.
- SHORB, D.A. (1940). A comparative study of the eggs of various species of nematodes parasitic in domestic ruminants. *J. Parasitol.* 26:223-231.
- SILVERMAN, P.H. & CAMPBELL, J.A. 1959. Studies on parasitic worms, of sheep in Scotland. I. Embryonic and larval development of *Haemonchus contortus* at constant conditions. *Parasitology*, 49(1/2):23-28.

- TETLEY, J.H., (1941). *Haemonchus contortus* eggs: Comparison of those in utero with those recovered from feces, and a statistical method for identifying *H. contortus* in mixed infections. *J. Parasitology*, 27:433-463.
- TETLEY, J.H. (1950). The differentiation of the eggs of *Haemonchus contortus* and *Ostertagia* species of sheep and a note on the relative generic egg-laying rates. *Parasitology*, 40: 273-275.
- TODD, K.S., LEVINE, N.D. & BOATMAN, P.A. (1976). Effect of temperature on survival of free-living stages of *Haemonchus contortus* *J. Parasitology*, 25:352-355.
- VEGLIA, F. (1915). The anatomy and life-history of the *Haemonchus contortus* (Rud). *Union So. Afri. Dept. Agric. Dir. Vet. Res. Dept.* 3(4):349-500.
- VON EHRENSTEIN, G. & SCHIEREMBERG, E. (1980) Nematodes as Biological Models. Vol. 1 New York and London, *Academic Press*. pp. 2-68.
- WALLER & DONALD (1970). The response to desiccation of eggs of *Trichostrongylus columbriformis* and *Haemonchus contortus* (Nematoda: Trichostrongylidae). *Parasitology* 61:195-204.
- WALLER & DONALD (1972). Effects of changes in temperature and saturation deficit on the survival of eggs of *Trichostrongylus columbriformis* (Nematoda: Trichostrongylidae). *Inter. J. Parasitology*, 1972. Vol. 2 pp. 439-447.

YAMAGUTI, S. (1961). *Systema Helmintum*. Vol. III. The nematodes of vertebrates. Part. I e II, Interscience publishers, Inc. New York. 824 p.