

بررسی توانایی زنده ماندن جدایه‌های بومی قارچ آرتروبو تریس پس از عبور از لوله گوارش گوسفند برای کنترل زیستی نماتودهای گوارشی

دکتر شاهرخ رنجبر بهادری^{۱*} دکتر علی اسلامی^۲ دکتر مهدی رزاقی ابیانه^۳

دریافت مقاله: ۴ خردادماه ۱۳۸۳
پذیرش نهایی: ۲۱ دی‌ماه ۱۳۸۳

Study on the viability of native isolates of *Arthrobotrys* after passage from sheep's gastrointestinal tract for biological control of gastrointestinal's nematodes

Bahadori, Sh. R.,¹ Eslami, A.,² Razzaghi Abyaneh, M.³

*1*Department of Parasitology, Veterinary Faculty, Islamic Azad University, Garmsar Branch, Garmsar-Iran. *2*Department of Parasitology, Veterinary Faculty, Tehran University, Tehran-Iran. *3*Department of Mycology, Pasteur's Institute, Tehran-Iran.

Objective: Study on the viability and nematophagous activity of three native isolates of *Arthrobotrys* (two *A. oligospora* and one *A. cladodes var. macroides*) after passage through sheep's gastrointestinal tract.

Design: Field study.

Animals: Three sheep for each isolate.

Procedure: Three native isolates of *Arthrobotrys* (two *A. oligospora* and one *A. cladodes var. macroide*) isolated from soil of different regions of Mazandaran. Each isolate was cultured on barley and given in equal amounts to three sheep. Four and five days after administration, the faeces of sheep were recultured for isolation of *Arthrobotrys sp.* and to test their viability and nematophagous activity using faecal culture and dung pat bioassay.

Statistical analysis: Analysis of variance (ANOVA).

Results: Conidia of three native isolates of *Arthrobotrys* were reisolated from faeces of infected animals which kept their viability and showed 79.75 - 82.26% and 78.79-89.27% nematophagous activity in faecal culture and dung pat bioassay, respectively.

Clinical implications: These new isolates are significantly able to reduce the number of *Haemonchus contortus* infective larvae through oral administration and can be considered as an alternative for chemotherapy. *J.Fac. Vet. Med. Univ. Tehran. 60,3:229-233,2005.*

Keywords: *Arthrobotrys oligospora*, *A. cladodes var macroides*, gastrointestinal tract, nematophagous activity, Iran.

Corresponding author's email: bahadori_2000@yahoo.com

هدف: بررسی توانایی زنده ماندن و اثر نماتودخواری جدایه‌های بومی قارچ آرتروبو تریس پس از عبور و تحمل شرایط دستگاه گوارش گوسفند.

طرح: مطالعه میدانی.

حیوانات: سه رأس گوسفند برای هر جدایه.

روش: سه جدایه‌های بومی قارچ آرتروبو تریس شامل دو جدایه آرتروبو تریس اولیگو اسپورا و یک جدایه آرتروبو تریس کلادودس واریته ماکروئیدس جدا شده از خاک مناطق مختلف استان مازندران، پس از کشت بر روی دانه‌های جو به ۹ رأس گوسفند خورانید شد و پس از عبور از دستگاه گوارش مجدداً از جوهای موجود در مدفوع جدا گردید. سپس برای نشان دادن اثر نماتودخواری جدایه‌های مذکور پس از عبور از دستگاه گوارش، از دوروش توده مدفوع و کشت مدفوع استفاده گردید.

تجزیه و تحلیل آماری: آنالیز واریانس.

نتایج: هر سه جدایه بومی قارچ آرتروبو تریس پس از عبور از دستگاه گوارش گوسفندان مجدداً از مدفوع آنها جدا شدند و اثر نماتودخواری جدایه‌های فوق در کاهش نوزادان مرحله سوم همونکوس کونتورتوس به روش کشت مدفوع ۷۹/۷۵ درصد تا ۸۲/۲۶ درصد و به روش **Dung pat bioassay** ۷۸/۷۹ درصد تا ۸۹/۲۷ درصد تعیین گردید.

نتیجه‌گیری: سه جدایه بومی قارچ آرتروبو تریس پس از عبور از دستگاه گوارش گوسفند زنده مانده و قدرت نماتودخواری خویش را بخوبی حفظ نمودند بنابراین می‌توان با افزودن قارچ به غذای دام و پخش و گسترش کنیدیوم‌های قارچ در محیط، نماتودهای گوارشی را کنترل نمود. مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، ۱۳۸۴، دوره ۶۰، شماره ۳، ۲۳۳-۲۲۹.

واژه‌های کلیدی: جدایه‌های بومی، آرتروبو تریس اولیگو اسپورا، آرتروبو تریس کلادودس واریته ماکروئیدس، عبور از دستگاه گوارش، اثر نماتودخواری، ایران.

در حال حاضر یکی از مشکلات کنترل نماتودهای انگلی نشخوارکنندگان و تک‌سمیها، مقاومت آنها در برابر داروهای ضد کرمی است. در اکثر نقاط دنیا، نماتودهای لوله گوارش بویژه در نشخوارکنندگان کوچک در برابر داروهای ضد کرمی مقاوم شده‌اند (۲). علاوه بر مقاومت نسبت به داروها، بقایای دارو در تولیدات دام از جمله شیر و گوشت و خطرات بهداشتی آن برای انسان و صرف هزینه برای ساخت یا واردات دارو و یا مواد اولیه آن، در سالیان اخیر جایگزینی کنترل زیستی انگلها از جمله نماتودها را مورد توجه قرار داده است (۱). دسته‌ای

۱) گروه انگل‌شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرمسار، سمنان - ایران.

۲) گروه انگل‌شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران - ایران.

۳) گروه قارچ‌شناسی انستیتو پاستور، تهران - ایران.

* نویسنده مسئول: bahadori_2000@yahoo.com



از موجودات که در کنترل زیستی نوزاد نماتودها اهمیت دارند، قارچهای نماتودخوار هستند (۴، ۱۳). Faedo, Waller در یک بررسی ۹۴ گونه قارچ با فعالیت شناخته شده نماتودخواری را از نظر توانایی آنها برای کاهش تعداد نوزادان عفونت‌زای نماتود در گوسفند و نیز از نظر توانایی آنها برای حمله به نماتودها و تولید مواد کشنده در محیط کشت مدفوع، مورد آزمایش قرار دادند (۱۵). یکی از مشکلات عمده استفاده از قارچهای فوق به عنوان عوامل

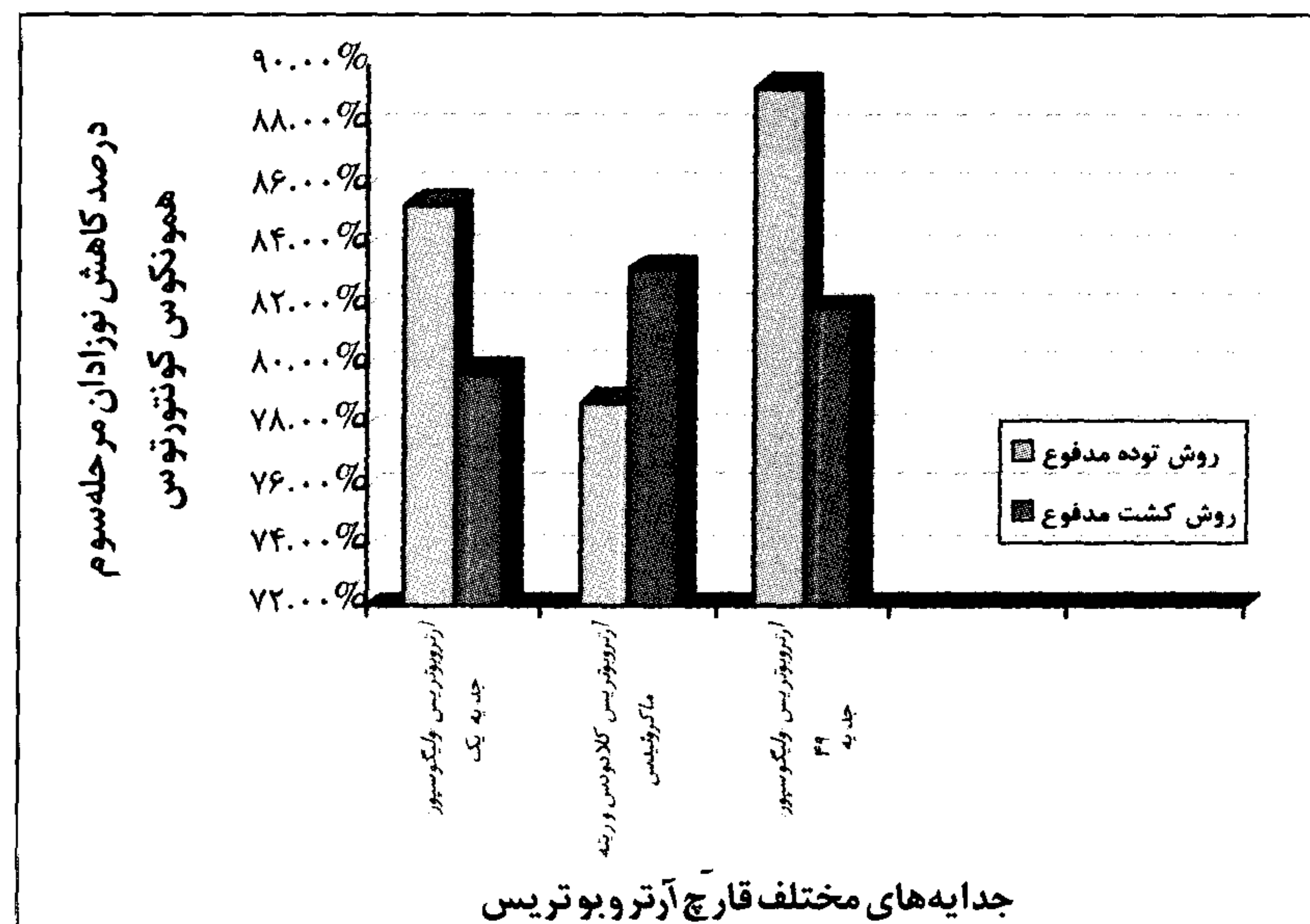
جدایه (۴۹) IRAN 678C و آرترو بوتریس کلادودس واریته ماکروئیدس نامگذاری شدند، در محیط آرد ذرت - آگار دو درصد به طور خالص کشت داده شده و به منظور کنید یوم زایی به مدت دو هفته در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد نگهداری شدند.

ب - آماده سازی دامها: برای هر جدایه سه رأس گوسفند با سن حدود دوازده ماه و با وزن تقریبی ۱۸-۱۰/۵ کیلوگرم که همگی در فضای بسته نگهداری شده و با یونجه تغذیه می شدند، با آلبندازول (۵ میلی گرم به کیلوگرم) درمان شدند. عدم آلودگی آنها به نماتودهای دستگاه گوارش با آزمایشات مکرر در طول یک هفته اثبات گردید. به منظور اطمینان از عدم حضور قارچهای نماتود خوار در مدفوع آنها، ۱۵ روز پس از درمان ضد کرمی، کشت روزانه مدفوع بر روی محیط آرد ذرت - آگار دو درصد انجام گردید.

ج - روش کشت و جداسازی قارچ: ۲۰۰ گرم دانه جو به مدت ۳۰ دقیقه در یک ظرف ارلن مایر با محلول ده درصد پراکسید هیدروژن مخلوط شد، پس از سه بار شستشو در آب استریل، با ۲۰۰ میلی لیتر آب مخلوط و اتوکلاو گردیدند. بعد از استریل نمودن به هر ظرف حاوی جو ۵-۳ قطعه (به اندازه ۵×۵ میلی متر) از محیط کشت خالص از یک جدایه بومی قارچ نماتود خوار آرترو بوتریس (با سن کمتر از دو هفته بر روی محیط کشت آرد ذرت - آگار دو درصد) افزوده شد. ظروف مذکور به مدت دو هفته در دمای اتاق (۲۲-۲۰ درجه سانتیگراد) قرار گرفت. بهتر است که به منظور رشد بهتر و یکنواخت قارچها بر روی دانه های جو، ظروف فوق راد و تاسه بار در هفته بخوبی تکان داد.

د - خوراندن دانه های جو حاوی دو جدایه قارچ آرترو بوتریس اولیگوسپورا و یک جدایه آرترو بوتریس کلادودس واریته ماکروئیدس: بدین منظور ۲۱ روز پس از درمان ضد کرمی، به مدت چهار روز و به میزان دو بار در روز (پیش از تغذیه صبح و بعد از ظهر) دانه های جو آلوده به قارچهای نماتود خوار خورانده شد و مدفوع دامها در روز چهارم (صبح و بعد از ظهر) و روز پنجم (فقط صبح) جمع آوری گردید. ه - جداسازی مجدد قارچها از مدفوع: برای جداسازی مجدد سه جدایه قارچ از مدفوع گوسفندان تحت آزمایش، مدفوع گرفته شده از دامها با استفاده از الک معمولی آشپزخانه شسته شدند و جوهایی که قبلا با پراکسید هیدروژن ثابت شده بودند و بنابراین بدون هضم شدن با مدفوع خارج شده بودند، جدا گردیدند و برای هر جدایه سه پتری دیدش حاوی محیط کشت آب - آگار به همراه کلرید تتراسیکلین (Tetracycline Chloride Water Agar (TCC-WA)) در نظر گرفته شد. در هر پتری دیدش پنج دانه جو تلقیح شد و پس از نگهداری در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد و افزودن تعداد ۵۰۰ عدد نوزاد مرحله سوم همونکوس کونتور توس، به مدت یک هفته رشد مجدد سه جدایه قارچ نماتود خوار بررسی شد. این بررسی بر پایه نوزادان بدام افتاده در ساختمان حلقه ای شکل تله ها و شکل کنیدیوم های قارچی انجام پذیرفت.

و - بررسی اثر نماتود خواری: ۱- و - روش توده مدفوع (Pat Bioassay (Dung): چهار گروه پنج تایی مدفوع توده وار گوسفند به وزن ۱۲۵ گرم و ارتفاع ۳ سانتیمتر و قطر ۸ سانتیمتر، آلوده به تخم همونکوس کونتور توس با میانگین ۱۹۰۰ تخم در گرم مدفوع انتخاب شدند. به هر یک از دو گروه پنج تایی اول مدفوع،



نمودار ۱- درصد کاهش نوزادان مرحله سوم همونکوس کونتور توس توسط جدایه های مختلف قارچ آرترو بوتریس اولیگوسپورا و آرترو بوتریس کلادودس واریته ماکروئیدس به دو روش کشت مدفوع و توده مدفوع.

کنترل زیستی چگونگی و نحوه مجاور کردن آنها با مدفوع حاوی نوزادان انگلی است و عملی ترین روش، افزودن قارچها به غذای حیوانات است که در این حالت قارچ باید بدون از دست دادن قدرت زیستی و نماتود خواری از دستگاه گوارش دامها عبور نمایند (۱). هدف از بررسی حاضر نشان دادن عبور زنده و حفظ قدرت نماتود خواری کنیدیومهای دو جدایه بومی قارچ آرترو بوتریس اولیگوسپورا و یک جدایه آرترو بوتریس کلادودس واریته ماکروئیدس پس از عبور از دستگاه گوارش گوسفند می باشد.

مواد و روش کار

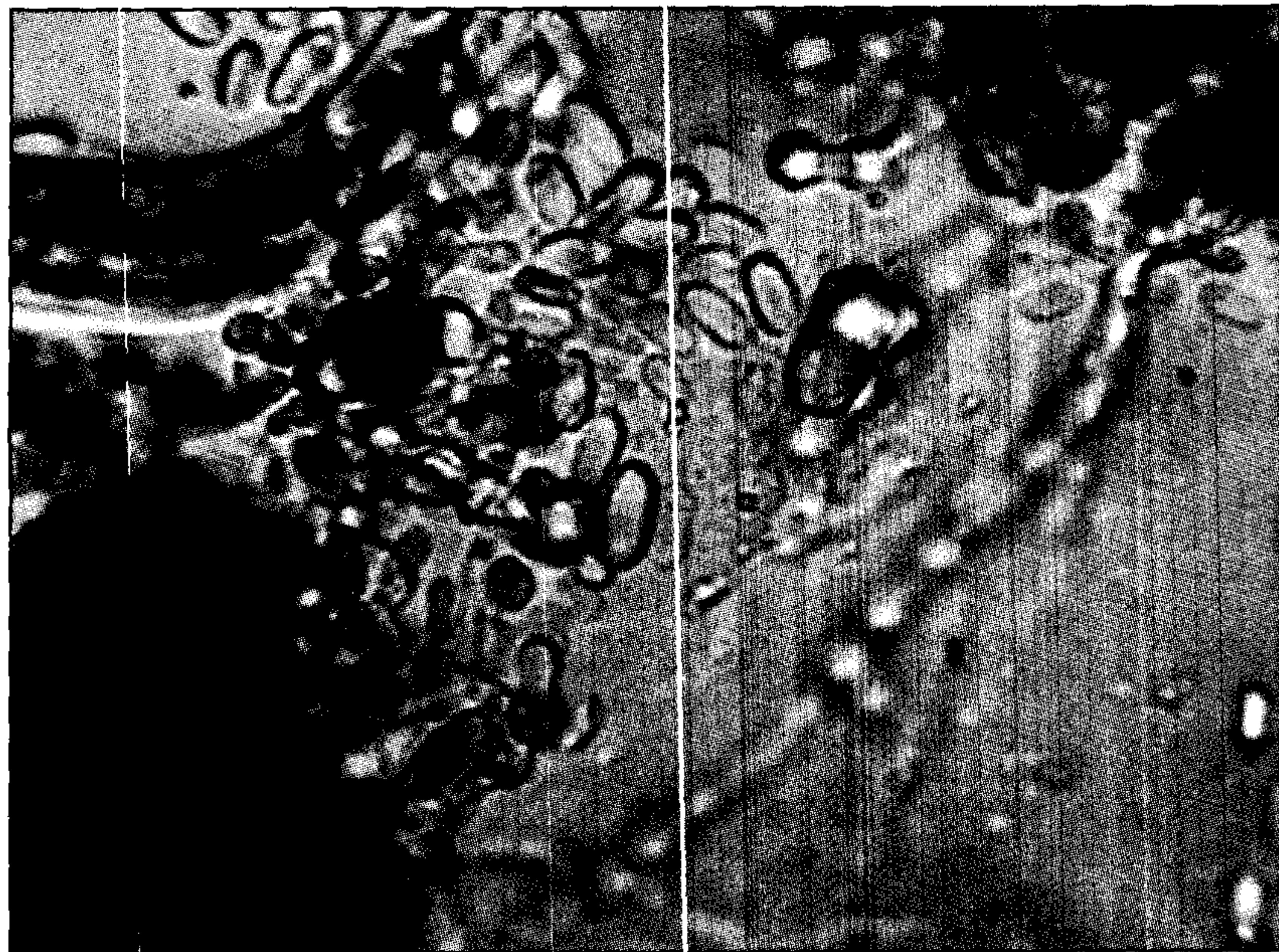
الف - قارچ: دو جدایه بومی قارچ آرترو بوتریس اولیگوسپورا و یک جدایه آرترو بوتریس کلادودس واریته ماکروئیدس که از خاک مخلوط با مدفوع (کمپوست) مناطق مختلف استان مازندران جدا گردیده بود و پس از تأیید تشخیص در بخش قارچ شناسی موسسه تحقیقات آفات و بیماریهای گیاهی و CBS هلند تحت عنوان آرترو بوتریس اولیگوسپورا جدایه (۱) IRAN 679C،

جدول ۱- جداسازی مجدد جدایه های آرترو بوتریس از مدفوع دام و بررسی اثر نماتود خواری آنها روی نوزاد مرحله سوم همونکوس کونتور توس پس از عبور از دستگاه گوارش.

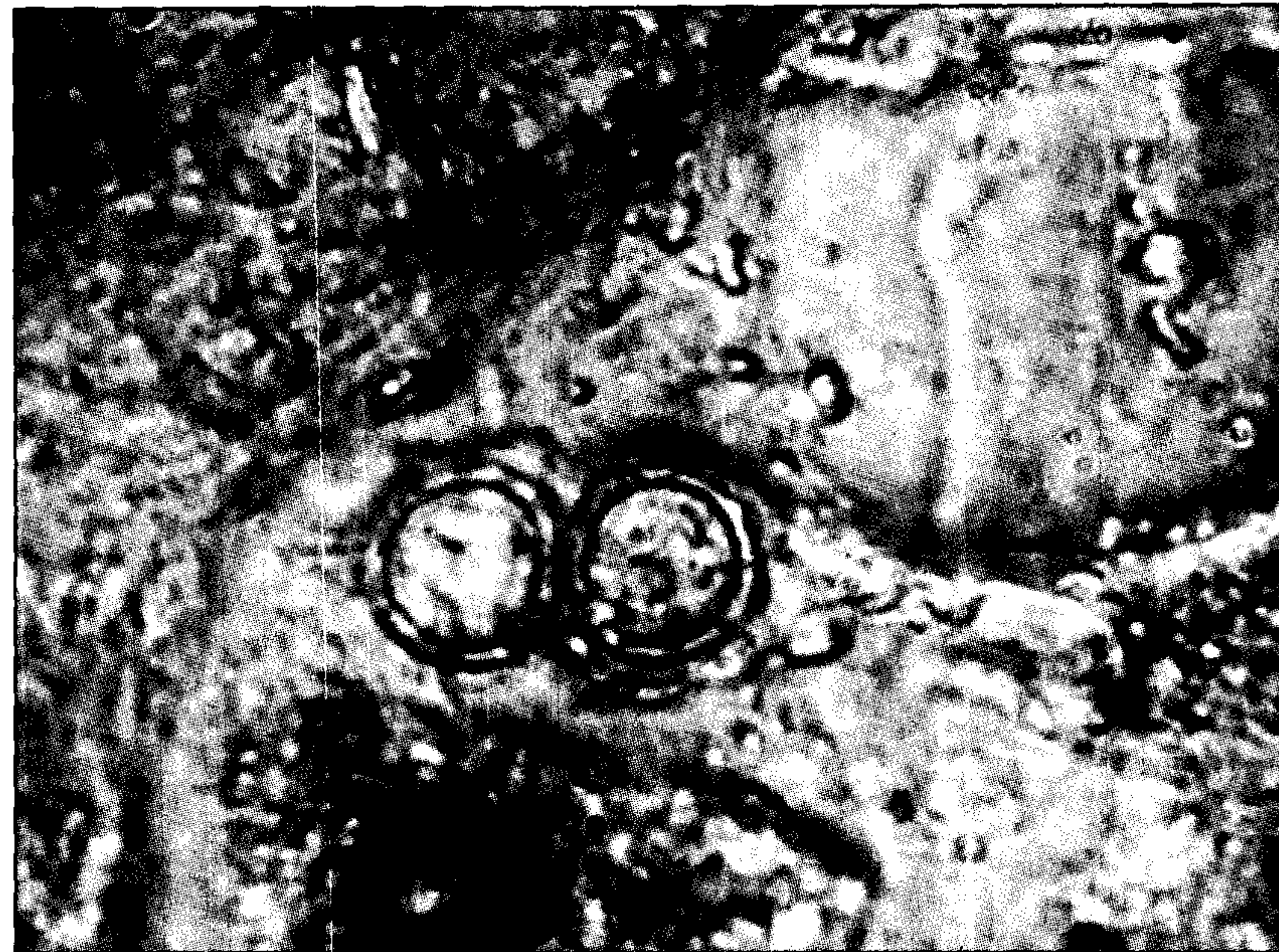
جدایه	جداسازی مجدد قارچ از مدفوع	میانگین نوزادان مرحله سوم جدا شده توسط روش توده مدفوع	درصد کاهش آماری	بررسی	میانگین نوزاد مرحله سوم جدا شده توسط روش کشت مدفوع	درصد کاهش آماری	بررسی
جدایه (۱) IRAN 679C	+	۲۲۸±۲۲	۸۵/۴۱	**	۳۱۱±۱۷	۷۹/۷۵	**
آرترو بوتریس کلادودس واریته ماکروئیدس	+	۳۴۶±۱۵	۷۸/۷۹	**	۲۵۷±۲۷	۸۳/۲۶	**
جدایه (۴۹) IRAN 678C	+	۱۷۵±۲۸	۸۹/۲۷	**	۲۷۸±۱۸	۸۱/۹۰	**
شاهد	----	۱۶۳۲±۱۹	-----	---	۱۵۳۶±۲۱	-----	---

* P<0.01, ** P<0.001.





تصویر ۲- کنیدیوم بیضی شکل و دوسلولی قارچ آرتروبوتریس موجود در مدفوع گوسفند پس از عبور از دستگاه گوارش گوسفند (بزرگمایی ۱۰).



تصویر ۱- حلقه‌های ایجاد شده توسط هایف قارچ آرتروبوتریس پس از عبور از دستگاه گوارش در مدفوع گوسفند (عدسی شیئی ۱۰).

تمامی ساختمانهای قارچی شامل کنیدیوم‌ها، تله‌های ایجاد شده و همچنین نوزادان مرحله سوم به دام افتاده رویت گردید. لازم بذکر است که نتایج به دست آمده توسط هر دو روش توده مدفوع و کشت مدفوع کاملاً با یکدیگر همخوانی داشتند.

بحث

یکی از مشکلات عمده استفاده از قارچهای نماتود خوار به عنوان عوامل کنترل زیستی، چگونگی و نحوه مجاور کردن آنها با مدفوع حیوانات حاوی نوزادان انگلی و آزادی است. عملی ترین راه، افزودن قارچها به غذای حیوانات است که در این حالت قارچ باید بدون از دست دادن قدرت بقا از دستگاه گوارش دامها عبور نمایند. در بررسی arsen. و همکاران تعدادی از قارچهای نماتود خوار استرالیایی توانستند پس از عبور از مجرای دستگاه گوارش زنده بمانند که اولین گونه گزارش شده دادینگتونیا فلگرنس بود (۹). مطالعات اخیر در دانمارک توانایی زنده ماندن بهتر قارچ دادینگتونیا فلگرنس را نسبت به جنسهای دیگر قارچهای نماتود خوار مانند جنس آرتروبوتریس، هم در شرایط آزمایشگاهی (۱۰) و هم در محیط زنده (۱۱) نشان داد و دلیل زنده ماندن این قارچ دیواره ضخیم کلامیدوسپورهای دادینگتونیا می باشد. در صورتی که کنیدیومهای آرتروبوتریس اولیگوسپورا دیواره با زکی داشته و تعداد آنها نیز اندک است و این مسئله با مقایسه بین ۸-۹ جدایه متفاوت دادینگتونیا فلگرنس و آرتروبوتریس اولیگوسپورا قطعی شده است. البته لازم بذکر است که قارچ آرتروبوتریس اولیگوسپورا نیز می تواند کلامیدوسپور ایجاد نماید اما تعداد آنها خیلی کم می باشد و تنها در کشتهای قدیمی (کشتهای یک تا دو ماهه) تولید می شوند و به صورت منفرد و یا به ردیفهای سه تا پنج تایی، متورم و سلولهای بادبوزه ضخیم و مقدار کمی رنگدانه قرمز مایل به زهوه‌ای هستند (۱۶، ۵). در بررسی Sanial تنها دادینگتونیا فلگرنس به طور کامل موفقیت آمیز از دستگاه گوارش عبور نمود و هیچ کنیدیوم آرتروبوتریس اولیگوسپورا از کشت مدفوع جدا نشد (۱۴). احتمالاً کنیدیومها هنگام عبور از دستگاه گوارش نشخوارکنندگان تخریب شدند (۷). در

یک جدایه بومی آرتروبوتریس اولیگوسپورا و به گروه سوم مدفوع یک جدایه آرتروبوتریس کلادودس واریته ماکروئیدس حاوی هایف و کنیدیوم اضافه گردید. گروه چهارم (شاهد) حاوی تخم همونکوس و فاقد قارچ نماتود خوار بود. توده‌های مدفوع در ۲۲ درجه سانتیگراد و رطوبت نسبی ۸۰-۶۰ درصد قرار داده شدند. پس از ۴ هفته کلیه مدفوعها در دستگاه برمن کشت داده شدند تا نوزادان عفونتزای همونکوس آنها جدا گردد.

۲- و- روش کشت مدفوع (Faecal Culture): سه گروه پنج تایی ده گرمی مدفوع (مخلوط با ۴ گرم ورمیکولات و ۸ میلی لیتر آب مقطر) برای دو جدایه بومی قارچ آرتروبوتریس اولیگوسپورا و یک جدایه آرتروبوتریس کلادودس واریته ماکروئیدس حاوی قارچ و تخم همونکوس کونتور توس تهیه گردید. گروه پنج تایی چهارم نیز حاوی تخم همونکوس اما فاقد قارچ (شاهد) بود. کلیه گروهها به روش ۱- و کشت داده شدند. پس از نگهداری در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد به مدت ۸ روز با استفاده از روش برمن، نوزادان مرحله سوم ایجاد شده جدا و شمارش گردید.

ز- روش آماری: اختلاف بین تعداد نوزادان مرحله سوم جدا شده از نمونه‌های حاوی سه جدایه قارچ بومی و نمونه‌های شاهد، با روش آماری آنالیز واریانس بررسی گردید.

نتایج

دو جدایه بومی قارچ آرتروبوتریس اولیگوسپورا و یک جدایه آرتروبوتریس کلادودس واریته ماکروئیدس پس از عبور از دستگاه گوارش گوسفندان مجدداً از مدفوع آنها جدا شدند. اثر نماتود خواری جدایه‌های بومی قارچ آرتروبوتریس اولیگوسپورا و آرتروبوتریس کلادودس واریته ماکروئیدس در کاهش نوزادان مرحله سوم همونکوس کونتور توس به روش کشت مدفوع ۷۹/۷۵ درصد تا ۸۲/۲۶ درصد و به روش توده مدفوع ۷۸/۷۹ درصد تا ۸۹/۲۷ درصد تعیین گردید. در هر دو روش مورد استفاده جهت بررسی اثر نماتود خواری جدایه‌های مذکور،



References

1. رنجبر بهادری، ش. (۱۳۸۲): کنترل زیستی همونکوس کونتورتوس توسط قارچ نماتودخوار آرتروبوتریس اولیگوسپورا. پایان نامه درجه دکتری تخصصی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، شماره ۱۵۶.
2. Barron, G. L. (1977): The nematode-destroying fungi. Topics in Mycology No. 1, Guelph, Ontario, Canada.
3. Chandrawathani, P., Holland, J., Waller, P. J. and Jamnah, O. (2001): Prospects for controlling small ruminant nematodes by Predacious fungi: survey, isolation and identification of a Malaysian isolate for biological control of helminthes. 2nd International Congress/13TH VAM Congress and CVA-Australia/Oceania Regional Symposium, 27-30 August 2001, Kuala Lumpur, 125-126.
4. Cooke, R. C., Godfrey, B.E.S. (1964): A key to the nematode-destroying fungi. Trans. Brit. Mycol. Soc. 47(1), 61-74.
5. Faedo, M., Waller, P. J. and Larsen, M. (1997): The potential of nematophagous fungi to control the free-living stages of nematode parasites of sheep: Comparison between Australian isolates of *Arthrobotrys* spp. and *Duddingtonia flagrans*. Vet. Parasitol. 72, 149-155.
6. Gronvold, J., Henrikson, S. A., Nansen, P., Wolstrup, J. and Thylin, J. (1989): Attempts to control infection with *Ostertagia ostertagi* (Trichostrongylidae) in grazing calves by adding mycelium of the nematode-trapping fungus *Arthrobotrys oligospora* (Hyphomycetales) to cow pats. J. Helminthol. 63, 115-126.
7. Gronvold, J., Wolstrup, J., Larsen, M., Henriksen, S. A. and Nansen, P. (1993): Biological control of *Ostertagia ostertagi* by feeding selected nematode-trapping fungi to calves. J. Helminthol. 67, 31-36.
8. Hashmi, H. A., Connan, R. M. (1989): Biological control of ruminant Trichostrongylids by *Arthrobotrys oligospora*, a predacious fungus. Parasitology Today, 5, 28-30.
9. Larsen, M., Faedo, M. and Waller, P. J. (1994): The potential of nematophagous fungi to control the free-living stages of nematode parasites of sheep: survey for the presence of fungi in fresh faeces of grazing livestock in Australia. Vet. Parasitol. 53, 275-281.

مطالعات مختلف نیز اشاره شده است که برخی جدایه‌های قارچ آرتروبوتریس اولیگوسپورا هنگام عبور از لوله گوارش در اسب و خوکچه هندی، گاو، بز و خوک زنده نمی‌مانند (۷) در حالی که جدایه‌های دیگر قارچ مذکور و گونه‌های مختلف قارچی دیگر می‌توانند پس از عبور از لوله گوارش گوسفند (۱۶) و گاو (۸) زنده بمانند. البته برخی از محققین نیز قارچ آرتروبوتریس اولیگوسپورا را شایعترین قارچ نماتودخوار موجود در مدفوع دانسته‌اند (۶). Chandrawathani و همکاران در یک بررسی در طول چهار سال ۲۸۰۵ نمونه مدفوع از حیوانات مختلف و نمونه‌های خاک همراه با مدفوع را از نظر وجود قارچهای نماتودخوار بررسی نمودند و قارچهای نماتودخوار مانند آرتروبوتریس اولیگوسپورا را از بیست درصد نمونه‌ها جدا نمودند که نخستین گزارش از جدایه‌های مالزیایی قارچهای نماتودخوار بود (۳). Manuelli و همکاران ۲۵۰۰ نمونه مدفوع از رکتوم گوسفند و بز از ۲۶ مزرعه در چهار جزیره فیجی را بررسی و از نمونه‌های فوق ۲۳ نمونه قارچ نماتودخوار به دست آوردند که از بین آنها ۱۲ جدایه خالص (همگی از جنس آرتروبوتریس) به دست آمد و جالب اینکه قارچهای نماتودخوار همگی از مدفوع گوسفند جدا گردید (۱۲). بنابراین با توجه به گزارشات مذکور، جداسازی قارچ آرتروبوتریس اولیگوسپورا از مدفوع نشاندهنده عبور زنده و موفقیت آمیز آن از شرایط دستگاه گوارش دام می‌باشد و شاید علت عدم جداسازی آن استفاده از روشها و تکنیکهای نامطمئن بوده است که تحقیقات بیشتر در این زمینه ضروری به نظر می‌رسد.

در بررسی حاضر نیز توانایی زنده ماندن و حضور اثرات نماتودخواری دو جدایه بومی قارچ آرتروبوتریس اولیگوسپورا و یک جدایه آرتروبوتریس اولیگوسپورا اواربته ماکروئیدس پس از عبور از دستگاه گوارش گوسفند مطالعه شد و همان طور که مشاهده گردید کنیدیوم‌های هر سه جدایه بومی مجدداً زنده از مدفوع جدا گردید و قادر به رشد در محیط کشت بودند. به منظور بررسی اثر نماتودخواری آنها نیز از دو روش کشت مدفوع و توده مدفوع استفاده گردید و مشاهده شد که جدایه‌های مذکور پس از گذر از دستگاه گوارش گوسفند و تحمل شرایط آن، در بدام انداختن نوزادان مرحله سوم همونکوس کونتورتوس کاملاً موفقیت آمیز عمل نمودند. بنابراین تحقیق فوق نشان داد که این جدایه‌ها قادر به عبور از دستگاه گوارش نشخوارکنندگان و تحمل شرایط فوق بوده و می‌توان آنها را به منظور کنترل زیستی نماتودهای دستگاه گوارش نشخوارکنندگان به خوراک دام افزود تا خود حیوان به عنوان یک چالش‌گر مهم قارچ در طبیعت محسوب گردد.

10. Larsen, M., Wolstrup, J., Henrikson, S. A., Dackman, C., Gronvold, J. and Nansen, P. (1991): In vitro stress selection of nematophagous fungi for biocontrol of parasitic nematodes in ruminants. J. Helminthol. 65, 193-200.
11. Larsen, M., Wolstrup, J. and Nansen, P. (1992): In



- vitro passage through calves of nematophagous fungi selected for biocontrol of parasitic nematodes. *Vet. parasitol.* 66, 137-141.
12. Manuelli, P. R., Waller, P. J., Faedo, M. and Mahommed, F. (1999): Biological control of nematode parasite of livestock in Fiji: screening of fresh dung of small ruminant for the presence of nematophagous fungi. *Vet. Parasitol.* 81(1), 39-45.
 13. Pandey, V. S. (1973): Predatory activity of nematode trapping fungi against the larvae of *Trichostrongylus axei* and *Ostertagia ostertagi*: A possible method of biological control. *J. Helminthol.* 47(1), 35-48.
 14. Sanial, P. K. (2000): Screening for Indian of predacious fungi for use in biological control against nematode parasites of ruminants. *Vet. Res. Commun.* 24, 55-62.
 15. Waller, P. J. and Faedo, M. A. (1996): The prospects for biological control of the free-living stages of nematode parasites of livestock. *Int. J. Parasitol.* 26, 915-925.
 16. Waller, P. J., Larsen, M., Faedo, M. and Hennessy, D. R. (1994): The potential of nematophagous fungi to control the free-living stages of nematode parasites of sheep. In vitro and in vivo studies. *Vet. Parasitol.* 51, 289-299.

