



بررسی اثرات نماتودخواری جدایه‌های بومی *Arthrobotrys oligospora* قارچ در شرایط آزمایشگاهی

• شاهرخ رنجبر بهادری، استادیار دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرمسار
• علی اسلامی، استاد گروه انگل شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران
• مهدی رزاقی ایبانه، استادیار بخش قارچ شناسی انستیتو پاستور ایران
• رسول زارع، استادیار بخش قارچ‌شناسی موسسه تحقیقات آفات و بیماریهای گیاهی وزارت جهاد کشاورزی
• سعید بکائی، دانشیار بخش اپیدمیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران

تاریخ دریافت: اسفند ماه ۱۳۸۲ تاریخ پذیرش: تیر ماه ۱۳۸۳

چکیده

۱۵۰ نمونه خاک و ۱۳۶ نمونه مدفوع از دو منطقه معتدل و گرم و خشک کشور جهت حضور قارچ‌های نماتودخوار مورد بررسی قرار گرفت و سه جدایه بومی از قارچ‌های مذکور جدا و خالص سازی گردید. سپس به منظور بررسی اثر نماتودخواری جدایه‌های مذکور، غلظت‌های مختلف از کنیدیوم‌های قارچی به یک گرم مدفوع حاوی ۷۰ عدد تخم *Haemonchus contortus* در گرم مدفوع افزوده شد و کلیه نمونه‌ها به مدت ۸ روز در دمای ۲۵ تا ۲۷ درجه سانتیگراد قرار داده شد و سپس درصد نوزادان مرحله سوم به دام افتاده محاسبه گردید. با افزودن ۸۰۰۰، ۲۰۰۰۰ و ۱۰۰۰۰۰ کنیدیوم از قارچ‌های مذکور به یک گرم مدفوع آلوده به تخم *Haemonchus contortus*، میزان نماتودخواری جدایه یک به ترتیب ۱۵ / ۷۲٪ تا ۶۵ / ۹۶٪، جدایه نوزده ۶۹ / ۵۵٪ تا ۶۴ / ۹۹٪ و جدایه بومی ۴۹ نیز ۲۷ / ۶۳٪ تا ۴۶ / ۹۴٪ تعیین گردید و کاهش تعداد نوزادان در ازای افزودن غلظت‌های مختلف از کنیدیوم‌های قارچی در مقایسه با شاهد به شدت معنی‌دار بود ($p < 0.001$).

کلمات کلیدی: قارچ‌های نماتودخوار، *Arthrobotrys oligospora*، *Haemonchus contortus*، جدایه‌های بومی

Pajouhesh & Sazandegi No 64 PP: 35-40

Study on nematophagous activities of native isolates of *Arthrobotrys oligospora* in In vitro

By: S.Ranjbar Bahadori, Assistant Professor of Veterinary Collage of Garmsar Azad University

A.Eslami, Professor of Veterinary Collage of Tehran University

M. Razzaghi Abyaneh, Assistant Professor of Iran's Pasteur Institute

R.Zaree, Assistant Professor of Agriculture Ministry of Iran

S. Bokai, Associated Professor of Veterinary Collage of Tehran University

100 soil and 86 fecal samples from Mazandaran, with a humid and moderate climatic condition, and 50 soil and 50 fecal samples from Garmsar with dry and higher temperature in most months of were studied for presence of

nematophagous fungi. Three isolates of nematophagous fungi were successfully collected and purified. Then for study of nematophagous activities of these fungi, different concentration of conidia from any fungus were added to one gram of faeces (EPG=70) and all of the samples were incubated at 25-27°C for 8 days (for formation of third stage larvae). Then trapped larvae were calculated. In vitro examinations of these isolates revealed them to have good nematophagous activity and reduction in third stage larvae by addition of (8000 to 100000) conidia were: Isolate 1 (72.1% - 96.65%), Isolate 19 (55.69% - 99.64%) and Isolate 49 (63.27% - 94.46%). Statistically these findings were significant in comparison with control group ($p < 0.001$).

Key words: Nematophagous fungi, *Arthrobotrys oligospora*, *Haemonchus contortus*, Native isolates

مواد و روش‌ها

تعداد ۱۵۰ نمونه خاک (۵۰ نمونه از منطقه گرمسار به عنوان مدلی از منطقه‌ای با آب و هوای گرم و خشک و ۱۰۰ نمونه خاک از استان مازندران به عنوان مدلی از آب و هوای معتدل و مرطوب) و ۱۳۶ نمونه مدفوع از دو منطقه فوق، در محیط‌های کشت اختصاصی شامل: ۱- محیط آرد ذرت- آگار (۴ درصد)، ۲- محیط آرد ذرت- آگار با آگار مضاعف، ۳- محیط سابورو- دکستروز- آگار، ۴- محیط سابورو به همراه کلرامفنیکل و سیکلوهگزیمید، ۵- محیط دیکلران- رزینگال- آگار به همراه کلرامفنیکل، ۶- محیط سیب‌زمینی- دکستروز- آگار به همراه کلرامفنیکل (۳/۹ درصد)، ۷- محیط سیب‌زمینی- هویج- آگار (۱/۵ درصد)، ۸- محیط آب- آگار کشت داده شد و کلیه کلنی‌های رشد نموده، جداسازی و خالص گردید. به منظور تحریک رشد قارچ‌های نماتودخوار به هر یک از محیط‌های آب- آگار و آرد ذرت- آگار، تعداد ۵۰۰۰ نوزاد مرحله سوم *H. contortus* اضافه شد. پس از ثبت مشخصات نمونه‌ها و تاریخ کشت، ظروف پتری در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد قرار گرفته و پس از گذشت ۴۸ ساعت، به طور روزانه میزان رشد قارچ ثبت شد. برای خالص سازی قارچ‌های مذکور، از روش تک ریسسه‌کردن^۲ استفاده گردید که در حاشیه کلنی‌های رشد کرده قارچ روی محیط آب-آگار، از ریسسه‌هایی که به صورت تنک رشد کرده، برداشته و به محیط کشت منتقل گردید. البته روش فوق در مورد قارچ‌های نماتودخوار که کنیدیوم‌زایی آنها با تاخیر صورت می‌گیرد مناسب می‌باشد.

پس از آن با افزودن ۸۰۰۰، ۲۰۰۰۰ و ۱۰۰۰۰۰ کنیدیوم از قارچ‌های نماتودخوار خالص شده به یک گرم از مدفوع گوسفند آلوده به ۷۰ عدد تخم *H. contortus* و کشت آن به مدت ۸ روز در دمای ۲۷-۲۵ درجه سانتیگراد، نوزادان مرحله سوم *H. contortus* به روش برمن جدا گردید و با استفاده از تست آماری One-way ANOVA و روش تکمیلی Tukey، اثرات نماتودخواری قارچ‌های مذکور روی نوزادان عفونت‌زای فوق مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج

در بین نمونه‌های خاک آزمایش شده از استان مازندران از ۱۱ نمونه، قارچ نماتودخوار جدا گردید که خالص‌سازی ۳ نمونه آنها با موفقیت همراه بود و قارچ‌های مذکور، *A. oligospora* تشخیص داده شد و پس از تأیید تشخیص در بخش قارچ‌شناسی موسسه تحقیقات آفات و بیماری‌های گیاهی، *A. oligospora* جدایه (IRAN ۶۷۹C (شکل ۱)، جدایه (IRAN ۶۷۹C (۱۹) (شکل ۲) و جدایه (IRAN ۶۷۹C (۴۹)

مقدمه

توسط Lodhe (۱۸۷۴) نخستین گزارش از یک قارچ شکارچی که *Harposporium anguillulae* بود، صورت گرفت و این قارچ از مناطق مختلفی جدا گردیده است (۱۱). Fresenius در سال ۱۸۵۰ برای اولین بار قارچ نماتودخوار *Arthrobotrys oligospora* را از راسته هایفومیستالز^۱ معرفی نمود. در سال ۱۸۷۰ Woronin دریافت که قارچ نماتودخوار *A. oligospora* تولید شبکه‌های حلقوی می‌نماید و Zopf در سال ۱۸۸۸ به توانایی آن در به دام انداختن نوزاد نماتودها پی برد (۱۰). قارچ‌های نماتودخوار بیش از ۱۵۰ گونه دارند (۱) که در سال ۱۹۶۴ Cooke و Godfrey برای اولین بار کلید شناسایی آنها را ارائه نمودند. در سال ۱۹۷۷ ویژگی‌های این قارچ‌ها توسط بارون شرح داده شد (۱). Juniper تعداد زیادی از هایفومیستها را از مدفوع انواع پستانداران جدا نمود. وی توانست گونه‌ای از قارچ آرتروبوتریس را از مدفوع گاو جدا نماید (۸). Faedo و Waller در یک بررسی ۹۴ گونه قارچ با فعالیت شناخته شده نماتودخواری را از نظر توانایی آنها برای کاهش تعداد لاروهای 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). پس از کشف قارچ‌های شکارچی در بیش از ۱۰۰ سال قبل، تلاش‌های متعددی برای استفاده از آنها به عنوان کنترل زیستی نماتودهای انگلی حیوانات و گیاهان انجام شد (۱۵). اگرچه قارچ‌های شکارچی به طور معمول در طبیعت به طور غالب یافت نمی‌شوند اما از آنها می‌توان به عنوان عوامل مؤثر در کنترل زیستی استفاده نمود (۴). در حال حاضر یکی از مشکلات کنترل نماتودهای انگلی نشخوارکنندگان و تک‌سمیها، مقاومت آنها در برابر داروهای ضد کرمی بوده و علاوه بر آن، بقایای داروها در تولیدات دام از جمله شیر و گوشت و خطرات بهداشتی آن برای انسان و صرف هزینه‌های ریالی و ارزی برای واردات دارو و یا مواد اولیه دارو، این روش مبارزه را دارای جایگاهی خاص و ممتاز نموده است. لازم بذکر است که در ایران تا به حال هیچگونه تحقیقی در این زمینه انجام نگرفته است.

شکل ۱- کنیدیومهای موجود روی
کنید یوفور قارچ *A. oligospora*
جدایه بومی (۱) روی محیط کشت آب-
آگار (عدسی شیئی ۱۰۰)

IRAN ۶۷۸C (شکل ۳) نامگذاری شدند. از ۵۰ نمونه خاک تهیه شده از منطقه گرمسار و همچنین از مدفوع‌های آزمایش شده در هر دو منطقه هیچگونه قارچ نامتودخواری جدا نگردید. افزودن ۱۰۰-۸ هزار کنیدیوم از سه جدایه بومی قارچ *A. oligospora* جدا شده از خاکهای استان مازندران باعث کاهش تعداد نوزادان موجود در مدفوع بین ۶۹ / ۵۵٪ تا ۶۵ / ۹۶٪ می‌شود (نمودار ۱). حداکثر تاثیر با افزودن ۱۰۰ ۰۰۰ کنیدیوم مشاهده گردید که میزان این کاهش در سه جدایه ۱، ۱۹ و ۴۹ به ترتیب ۶۵ / ۹۶٪، ۶۴ / ۹۴٪ و ۹۴ / ۹۶٪ بود (جدول ۱). کاهش تعداد نوزادان در مقایسه با شاهد با افزودن ۸۰۰۰، ۲۰ ۰۰۰ و ۱۰۰ ۰۰۰ کنیدیوم از هر سه جدایه قارچهای بومی به شدت معنی‌دار بود ($p < 0.001$) ولی در مورد مقایسه اثر نامتودخواری جدایه‌های بومی با یکدیگر به ازای افزودن ۸۰۰۰، ۲۰ ۰۰۰ و ۱۰۰ ۰۰۰ کنیدیوم، اختلاف معنی‌داری بین سه جدایه فوق مشاهده نگردید (ns).

بحث

در سالهای اخیر به دلیل مشکلات استفاده از داروهای شیمیایی برای کنترل نماتودهای لوله گوارش نشخوارکنندگان، کنترل زیستی این نماتودها با استفاده از قارچهای فرصت طلب موجود در خاک و مدفوع مورد توجه قرار گرفته است. در بررسیهای انجام گرفته در دنیا نیز قارچهای نامتودخوار مختلف معرفی گردیده‌اند. Waller و Faedo جنسهای متعددی از قارچها را که در منابع مختلف برای آنها اثرات نامتودخواری ذکر نموده‌اند را نام برده‌اند (۱۴). 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 نامتودخوار بررسی نمودند و تعدادی از قارچهای نامتودخوار از جمله *A. oligospora* را از بیست درصد نمونه‌ها جدا نمود (۲). در بررسی مانوتلی و همکاران نیز از ۲۵۰۰ نمونه مدفوع از رکتوم گوسفند و بز، ۲۳ نمونه قارچ نامتودخوار بدست آمد که از بین آنها ۱۲ جدایه (همگی از جنس آرتروپوتریس) خالص گردید (۹). در بررسی فوق نیز از یازده درصد نمونه‌های خاک مازندران، قارچ *A. oligospora* جدا گردید اما از هیچیک از نمونه‌های خاک تهیه شده از گرمسار به عنوان یک منطقه گرم و خشک قارچ مذکور جدا نگردید که علت آن می‌تواند شرایط نامساعد برای رشد قارچ باشد. Sanial و Pandey نیز بهترین دما برای حداکثر



شکل ۲- کنیدیومهای ایجاد شده روی
کنید یوفور توسط قارچ *A. oligospora*
جدایه بومی (۱۹) روی محیط کشت
آب-آگار (عدسی شیئی ۴۰).

شکل ۳- کنیدیومهای تخم‌مرغی
شکل قارچ *A. oligospora*
جدایه بومی (۴۹) روی محیط کشت
آب-آگار (عدسی شینی ۴۰).



۲۰ و ۱۰۰۰۰۰۰ کنیدیوم از جدایه‌های بومی در مقایسه با شاهد به شدت معنی‌دار بود ($p < 0.01$). اما بین اثر نماتودخواری جدایه‌ها با یکدیگر اختلاف محسوسی مشاهده نگردید ($p > 0.05$) و همکاران تأثیر قارچ نماتودخوار *A. oligospora* را بر روی نوزادهای مرحله سوم نُه نماتود انگلی را در آزمایشگاه بررسی نموده و به این نتیجه رسیدند که توانایی ایجاد حلقه برای تریکواسترونژیلیدهای نشخوارکنندگان را دارد (۱۰). تجربیات نشان می‌دهد که *A. oligospora* می‌تواند نوزادهای *Strongyloides papillosus* و گونه‌های بنوستوموم گوسفند، *H. ostertagia ostertagi* و *Trichostrongylus axei* گاوی (۱۱)، *Cooperia oncophora* در گاو را به دام اندازد (۶). در بررسی مذکور افزودن ۲۰۰۰ کنیدیوم قارچ در گرم مدفوع در آزمایشگاه باعث ۹۰-۸۶ درصد کاهش تعداد نوزادان شد اما در تجربیات میدانی، افزودن همین تعداد کنیدیوم باعث کاهش بسیار کمتر تعداد نوزادها گردید که احتمالاً علت آن مداخله حشرات، نماتودهای آزدازی خاک، کرمهای خاکی در محیط و یا قارچهای نماتودخوار خاک می‌باشد. نتایج فوق نشان می‌دهد که در مناطق با آب و هوای معتدل و رطوبت کافی در ایران ممکن است جدایه‌های بسیار متفاوت قارچ‌های نماتودخوار از جمله *A. oligospora* را جدا نمود و قارچهای نماتودخوار قادر به ادامه حیات و به دام اندازی نوزادان *H. contortus* و احتمالاً سایر نماتودهای لوله گوارش (تریکوسترونژیلیدها) می‌باشند. اگرچه بررسی حاضر در شرایط برون بدن انجام گرفت و اثر قارچ‌ها در این شرایط کاملاً امیدوارکننده بود ولی به منظور بررسی اثر نماتودخواری قارچ در شرایط درون بدن می‌بایست مطالعات بیشتری در این زمینه انجام پذیرد و در صورتی که مطالعات تکمیلی اثرات قارچهای بومی را روی نوزاد نماتودها تایید کند، می‌توان از آنها در کنترل زیستی نماتودهای لوله گوارش نشخوارکنندگان کوچک استفاده نمود.

تشکر و قدردانی

در اینجا شایسته است که از زحمات جناب آقای پروفسور والتر گمس، رئیس مرکز قارچ شناسی CBS هلند و جناب آقای دکتر علیرضا خسروی به دلیل راهنمایی‌های انجام شده در طول تحقیق کمال قدردانی به عمل آید.

پاورقی‌ها

1- Hyphomycetales

رشد *A. oligospora* را ۲۵ درجه سانتیگراد ذکر نموده و معتقدند که افزایش دما به بالاتر از ۳۰ درجه سانتیگراد باعث می‌گردد تا رشد قارچ کاملاً متوقف گردد (۱۱، ۱۲). در مورد نمونه‌های مدفوع نیز از هیچکدام قارچ نماتودخوار جدا نگردید. البته در مورد حضور کنیدیوم‌های قارچ در مدفوع معتقدند که در برخی جدایه‌های *A. oligospora* هنگام عبور از لوله گوارش در اسب و خوکچه هندی، گاو، بز و خوک زنده نمی‌مانند (۵) در صورتیکه جدایه‌های دیگری از قارچ مذکور می‌توانند پس از عبور از لوله گوارش گوسفند (۱۶) و گاو (۷) زنده بمانند و برخی از محققین نیز قارچ *A. oligospora* را شایع‌ترین قارچ نماتودخوار موجود در مدفوع میدانند که به آسانی روی محیط‌های مصنوعی رشد می‌کند (۴) و بنظر می‌رسد که جدا سازی و تولید مقادیر زیادی از اسپورهای این قارچ در هر محلی که وسایل آزمایشگاهی کافی وجود داشته باشد آسان باشد (۴). بنابراین می‌بایست تحقیقات بیشتری در این زمینه انجام شده و توانایی زنده ماندن و اثرات نماتودخواری قارچ پس از عبور از دستگاه گوارش و تأثیر شیرهای گوارشی بررسی گردد. چرا که یکی از مشکلات عمده استفاده از قارچ‌های نماتودخوار به عنوان عوامل کنترل زیستی، چگونگی و نحوه مجاور کردن آنها با مدفوع حیوانات حاوی نوزادان انگلی و آزدازی است و عملی‌ترین راه، افزودن قارچ‌ها به غذای حیوانات است که در این حالت قارچ باید بدون از دست دادن قدرت بقا از دستگاه گوارش دامها عبور نماید.

در مورد اثرات نماتودخواری قارچ‌ها نیز جدایه‌های بومی قارچ *A. oligospora* جدا شده از خاکهای مازندران در مقابله با نوزاد عفونت‌زای *H. contortus* با ایجاد حلقه و به دام انداختن موجب کاهش قابل ملاحظه آنها در شرایط برون بدن گردیدند و با مجاور نمودن ۸۰۰۰، ۲۰۰۰۰ و ۱۰۰۰۰۰ کنیدیوم قارچی به یک گرم مدفوع آلوده به تخم *H. contortus*، میزان نماتودخواری جدایه یک به ترتیب ۱۵ / ۷۲٪ تا ۶۵ / ۹۶٪ و جدایه ۱۹ در حدود ۶۹ / ۵۵٪ تا ۶۴ / ۹۹٪ و جدایه بومی ۴۹ نیز ۲۷ / ۶۳٪ تا ۴۶ / ۹۴٪ تعیین گردید که البته کاهش تعداد نوزادان در ازای افزودن ۸۰۰۰، ۰۰۰

(Hyphomycetales) to cow pats. J. Helminthol. 63, 115-126.

5- 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.

6- Gronvold J., Korsholm H., Wolstrup J., Nansen P. and Henriksen S. A., 1985, Laboratory experiment to evaluate the ability of *Arthrobotrys oligospora* to destroy infective larvae of *Cooperia* species, and to investigate the effect of physical factors on the

2- Hyphal tip method

منابع مورد استفاده

1- Barron G. L., 1977, The nematode-destroying fungi. Topics in Mycology No. 1, Guelph, Ontario, Canada.

2- 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

جدول ۱- مقایسه اثر تعداد متفاوت کنیدیوم جدایه‌های بومی *A. oligospora* بر کاهش تعداد نوزادان *H. Contortus* در مدفوع درمان شده و شاهد

درصد کاهش تعداد نوزادان	تعداد نوزادان در گرم مدفوع (میانگین \pm انحراف معیار) \times	تعداد کنیدیوم در گرم مدفوع	قارچ	
-----	۴۹/۶۶ \pm ۳/۴۴	-----	شاهد	۱
۷۲ / ۱۵ درصد ۸۴ / ۵۷ درصد ۹۶ / ۶۵ درصد	۱۳/۸۳ $1 \pm 0/44$ ۷/۶۶ $2 \pm 0/88$ ۱/۶۶ $0 \pm 0/44$	۸۰۰۰ ۲۰۰۰۰ ۱۰۰۰۰۰	<i>A. oligospora</i> isolate ۱	۲
۵۵ / ۶۹ درصد ۷۸ / ۱۹ درصد ۹۴ / ۶۴ درصد	۵ $\pm 22/33$ ۱۰ / ۸۳ $4 \pm 0/55$ ۲ / ۶۶ $0 \pm 0/22$	۸۰۰۰ ۲۰۰۰۰ ۱۰۰۰۰۰	<i>A. oligospora</i> isolate ۱۹	۳
۶۳ / ۲۷ درصد ۷۳ / ۴۹ درصد ۹۴ / ۹۶ درصد	۱۸ / ۲۴ $2 \pm 0/54$ ۱۳ / ۱۶ $2 \pm 0/30$ ۲ / ۵ $0 \pm 0/17$	۸۰۰۰ ۲۰۰۰۰ ۱۰۰۰۰۰	<i>A. oligospora</i> isolate ۴۹	۴

growth of the fungus. J. Helminthol. 59, 119-125.

7- Hashmi H. A. and Connan R. M., 1989, Biological control of ruminant Trichostrongylids by *Arthrobotrys oligospora*, a predacious fungus. Parasitology Today, 5, 28-30.

8- Juniper A. J., 1953, Some predacious fungi occurring in dung. Trans. Brit. Mycol. Soc. 37, 171-176.

9- Manuelli P. R., Waller P. J., Faedo M. and Mahommed F., 1999, Biological control of nematode parasite of livestock in Fiji:

/ 13TH VAM Congress and CVA-Australia / Oceania Regional Symposium, 27-30 August 2001, Kuala Lumpur, 125-126.

3- Cooke R. C., 1962, The ecology of nematode-trapping fungi in the soil. Ann. Appl. Biol. 50, 507-513.

4- Gronvold J., Henriksen 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*

screening of fresh dung of small ruminant for the presence of nematophagous fungi. *Vet. Parasitol.* 81(1), 39-45.

10- Nansen P., Gronvold J., Henriksen S. A. and Wolstrup J., 1988, Interaction between the predacious fungus *Arthrobotrys oligospora* and third-stage larvae of a series of animal-parasite and nematodes. *Vet. Parasitol.* 26, 329-335.

11- 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.

12- 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.

13- Shepherd A. M., 1961, Nematode-trapping fungi in Danish agriculture soils. *Horticulture* 15, 94-96.

14- Waller P. J. and Faedo M. A., 1993, The potential of nematophagous fungi to control the free-living stages of nematode parasites of sheep: screening. *Studies. Vet. Parasitol.* 49, 285-293.

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. *Invitro and in vivo studies. Vet. Parasitol.* 51, 289-299.

