

کنترل زیست شناختی نوزادهای سیاتوستومینه توسط قارچ آرتروبوتریس

اولیگوسپورا

دکتر محمد یخچالی^۱ دکتر علی اسلامی^۲ دکتر علیرضا خسروی^۳

مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، دوره ۵۶، شماره ۴، ۹۵-۹۱، (۱۳۸۰)

آغاز شد Deschiens در سال ۱۹۴۱ و محققین زمان وی، روشهای کشت و جداسازی حجم زیاد هاگ را از قارچهای شکارچی، شرح دادند. Fresenius سال ۱۸۵۰ برای اولین بار قارچ نماتودخوار آرتروبوتریس/اولیگوسپورا از هایفومیستالس را معرفی کرد.

این مطالعه به منظور تعیین نقش برخی از گونه‌های گنده روی قارچی جدا شده از مدفوع اسب در کنترل زیست شناختی مراحل نوزادی استرونگلهای کوچک دون خانواده سیاتوستومینه انجام شد. مقابله بین کونیدیای قارچ صیاد آرتروبوتریس/اولیگوسپورا و نوزاد مرحله سوم سیاتوستومینه در شرایط آزمایشگاهی و میدانی انجام گردید. این گونه قارچی به میزان ۲ پرگنه در 10^3 ، 10^4 ، 10^5 جداگانه با ۳۰۰ عدد نوزاد مرحله سوم سیاتوستومینه در سرم نمکی ۰/۹ درصد موجب کاهش معنی داری ($P < 0/0001$) به ترتیب به میزان ۴۹ درصد، ۳۴ درصد، ۳۷ درصد، در شرایط آزمایشگاهی در تعداد نوزادهای زنده سیاتوستومینه به وسیله انشعابات چسبیده و نیز اتصال کونیدیهای قارچ به کوتیکول نوزاد شدند. به ۳ رأس اسب با آلودگی طبیعی به استرونگلهای کوچک نیز به میزان ۱۲۰، ۲۰۰، ۳۰۰ پرگنه قارچ آرتروبوتریس/اولیگوسپورا خورانیده شد. مدفوع دفع شده دامهای تحت مطالعه در روزهای ۰ و ۱ و ۲ و ۳ پس از خوراندن پرگنه‌های قارچ جمع آوری گردید. اثر قارچ با شمارش تعداد نوزادها در مدفوع کشت شده در مقایسه با مدفوع گروه شاهد (بدون خوراندن قارچ) مقایسه گردید. نتایج نشان داد که قارچ می‌تواند از لوله گوارش اسب عبور نماید و زنده بماند؛ و در عین حال موجب کاهش در تعداد نوزادها در اسبهایی که به آنها ۲۵۰ پرگنه خورانیده شده بود به میزان ۹۰ درصد، گردد.

مواد و روش کار

بررسی حاضر به منظور مطالعه تأثیر قارچ آرتروبوتریس/اولیگوسپورا موجود در مدفوع اسب بر روی نوزاد مرحله سوم نماتودهای دون خانواده سیاتوستومینه اسبهایی که به طور طبیعی آلوده به این انگل بودند، در شرایط آزمایشگاهی و میدانی انجام گرفت.

الف- روش کشت و جداسازی نوزادهای مرحله سوم نماتودهای سیاتوستومینه: نمونه‌گیری از دام: در صورت امکان نمونه‌گیری از راست روده به عمل می‌آمد ولی چنانچه کلیه شرایط مناسب می‌بود از مدفوع اسب بلافاصله پس از دفع آن و عاری کردن آن از مواد اضافی محیط استفاده می‌گردید. آزمایش مدفوع: برای شمارش تخم در گرم مدفوع ("Egg Per Gram" E.P.G) از روش شناور سازی تخم کرماها به کمک محلولهای اشباع و سانتیفریژ کلیتون- لین استفاده شد (اسلامی، ۱۳۷۶).

ضریب تصحیح غلظت مدفوع $\times \frac{1}{6}$ (تخمهای شمارش شده + تعداد تخم شمارش شده) = E.P.G

کشت مدفوع: ۲۰ گرم مدفوع تازه اسب را با کاردک به خوبی خرد کرده و درون شیشه در پیچ دار (در حجم زیاد مدفوع، تشتک لعابدار مناسب است) بریزید. اگر مدفوع خشک بود (در تک سمیها خشک است)، با اضافه کردن مقدار کمی آب رطوبت آن را متعادل ساخته و اگر رطوبت آن بیش از حد مطلوب بود با اضافه کردن ورمیکولات و یا مدفوع استریل شده اسب رطوبت آن متعادل می‌گردد. ظرف کشت را در اتوو ۲۷-۲۵ درجه سانتیگراد به مدت ۷ روز گذاشته شود. هر روز رطوبت مدفوع کنترل گردد و در صورت خشک بودن، رطوبت آن متعادل شود. ضمناً آن را به هم زده تا هوا به عمق مدفوع رسیده واز رشد قارچها جلوگیری گردد. جدا کردن نوزادها از مدفوع به کمک روش برمن می‌باشد.

ب- روش کشت مدفوع و جدا کردن قارچ آرتروبوتریس/اولیگوسپورا: توزین یک گرم مدفوع در زیر هود. یکنواخت کردن آن در ۱۰۰ میلی لیتر سرم فیزیولوژی (۰/۸ مول). تکان دادن با دستگاه به هم زن و افزودن ۲ میلی گرم استرپتو مایسین و ۵۰۰ واحد بین المللی (I. V) پنی سیلین G به آن. مجموعه تا ۲ ساعت به حالت سکون بماند. سپس از مایع رویی به صورت خطی در محیط سابوروگلوکز آگار کلرمفنیکل دار کشت داده و به مدت ۴ هفته در ۲۸ درجه سانتیگراد گذاشته شود. پس از تشکیل پرگنه‌های مختلف قارچ و مخمر، برای تفریق قارچها از محیطهای کورن میل آگار، چاپک داکس آگار و مالت اکستراکت آگار استفاده شود.

جدا سازی قطعی قارچ آرتروبوتریس/اولیگوسپورا: جدا سازی اولیه با استفاده از محیط مایع کورن میل آگار ۴ لیتری. تلقیح عوامل مشکوک قارچی در داخل محیط کشت کورن میل آگار و قرار دادن مخلوط در انکوباتور

واژه‌های کلیدی: کنترل زیست شناختی، نوزاد سیاتوستومینه، اسب، آرتروبوتریس/اولیگوسپورا.

کنترل زیست شناختی، کنترل یک آفت به وسیله دشمنان طبیعی و سایر آفات اختصاصی آن دانستند و به عبارت دیگر در کنترل زیست شناختی بهره‌گیری مستقیم از یک موجود و یا دستکاری در ساختمان ژنتیکی آن موجود برای فرونشاندن جمعیت زیستی مورد نظر، هدف می‌باشد. در این روش کنترل، بشر با دستکاری در برخی از اجزاء سیتوژنتیکی موجودات از آنها برای کنترل سایر موجودات آسیب رسان استفاده می‌نماید. چنین هدفی به طور مستقیم یا غیر مستقیم از طریق ناقلین بی‌مهره و جمعیت مخزن پی‌گیری می‌شود. کنترل یک آفت به وسیله دشمنان طبیعی و سایر آفات اختصاصی آن است. به عبارت دیگر در کنترل زیست شناختی بهره‌برداری مستقیم از یک موجود و یا دستکاری در ساختمان ژنتیکی آن موجود برای فرونشاندن جمعیت زیستی موجود مورد نظر، هدف می‌باشد (Drummond و همکاران در سال ۱۹۸۸).

بیش از یک قرن است که قارچهای شکارچی شناسایی شده‌اند. این قارچهای میکروسکوپی، گروه بوم شناسی گسترده‌ای هستند که بیش از ۱۵۰ گونه دارند (Barron, ۱۹۷۷). در سال ۱۹۶۴ کوک و گادفری برای نخستین بار کلیدی برای شناسایی آنها منتشر کردند و چند سال بعد ویژگیهای بوم شناسی قارچهای شکارچی توسط Barron در ۱۹۷۷ شرح داده شد.

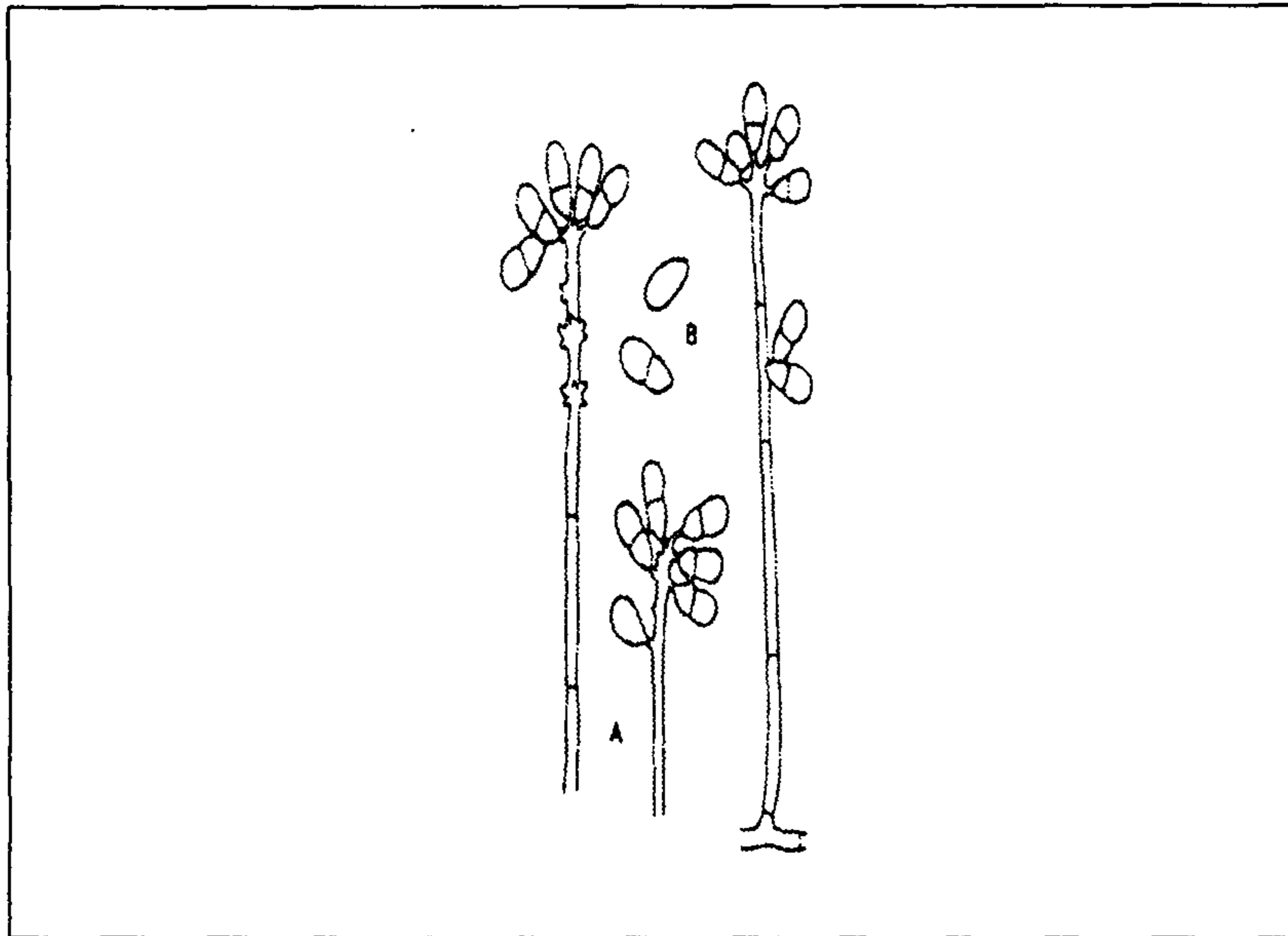
در سال ۱۸۷۰ Woronin دریافت که قارچ کشنده نماتود آرتروبوتریس/اولیگوسپورا تولید شبکه حلقوی سه بعدی می‌کند و در سال ۱۸۸۸ Zopf به توانایی قارچ در به دام انداختن نوزاد زنده نماتود به وسیله شبکه حلقوی پی برد. در ۱۸۷۴ Loude قارچ هاریوسپوریوم آنگیولوله را گزارش کرد. مطالعه گسترده این قارچها پس از انتشار مقاله Drechsler در سال ۱۹۳۷ در مورد ۲۱ گونه قارچ

۱) گروه آموزشی پاتوبیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه، ارومیه - ایران.

۲) گروه آموزشی انگل شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران - ایران.

۳) گروه آموزشی میکروبیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران - ایران.





تصویر ۱- گونه آرتروبوتریس اولیگوسپورا

شدند و جیره آنها سبوس گندم و علوفه یونجه بود. یک روز قبل از درمان از کلیه دامها آزمایش مدفوع به عمل آمد و نتیجه ثبت گردید (۶ روز صفر). در روز درمان به ۳ رأس اسب انتخاب شده برای درمان تعداد ۱۲۰، ۲۰۰، ۲۵۰ پرگنه قارچ نماتودکش آرتروبوتریس اولیگوسپورا همراه با سبوس گندم از راه دهان خورانیده شد و به اسب شاهد نیز دارو نما شامل سبوس گندم خورانیده شد. سه روز پس از درمان روزانه دوبار در ساعت ۷ صبح و ۴ بعدازظهر کلیه مدفوع اسبها جمع آوری می شد و از مخلوط نمونه های لازم برای آزمایش مدفوع و کشت مدفوع برداشته می شد. آزمایش مدفوع و کشت مدفوع انجام می گرفت و از هر نمونه مدفوع ۳ کشت تهیه می گردید. جمع آوری نوزادها به روش برمن و تشخیص تفریقی آنها.

همزن دار (۳۰ درجه سانتیگراد، ۲ هفته). مخلوط را مجدداً در محیط کشت کورن میل آگار پاساژ داده و در ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت ۴ روز نگهداری کنید (خسروی، ۱۳۷۰).

خصوصیات ریخت شناسی گونه های قارچ آرتروبوتریس: کونیدی برها طویل، ظریف ساده و دارای دیواره عرضی و به رنگ شفاف می باشند. انتهای کونیدی بر و قسمتهایی که تولید هاگ می کنند کمی متورم اند. نقاط جدید رویشی در کونیدی بر به طریقه محوری جانبی تشکیل می شوند. کونیدی ها شفاف، دو یاخته ای نامتساوی و تخم مرغی کشیده هستند و بر روی دندانهای میخی شکل به صورت دسته های پراکنده (شل) خشک تشکیل می شوند. این قارچ به حالت گنده روی یا انگل بر روی نماتودها زندگی می کند (تصویر ۱).

ج - روش مجاور کردن نوزادهای سیاتوستومینه با پرگنه قارچ آرتروبو تریس اولیگوسپورا: در شرایط آزمایشگاهی ۳۰۰ عدد نوزاد سیاتوستومینه با رقتهای ۲ پرگنه در ۲،۱۰۰ cc و ۲ پرگنه در ۳۰۰ cc در ظرف پتری مجاور گردید. به این مجموعه، ۵ میلی لیتر سرم فیزیولوژی ۰/۹ درصد اضافه شد تا شرایط مناسب برای رشد قارچ و بقای نوزاد مرحله سوم استرونگل فراهم گردد. گروه شاهد شامل ۳۰۰ عدد نوزاد در ۱۰ میلی لیتر سرم فیزیولوژی ۰/۹ درصد بود. با تناوب زمانی ۲ ساعت، نوزادهای موجود در هر یک از نمونه های درمان و شاهد از نظر زنده بودن (مشاهده حرکت) بررسی می شد و نتایج ثبت می گردید. نتایج در جدول احتمال بقای نوزاد انگل ثبت و آنالیز می گردید (جدول ۲).

د- روش بررسی میدانی اثر قارچ آرتروبوتریس اولیگوسپورا بر نوزادهای سیاتوستومینه: تعداد زیادی نمونه مدفوع اسب برای انتخاب اسبهای با آلودگی انگلی طبیعی آزمایش شدند. از میان نمونه ها ۴ رأس اسب که E.P.G بیشتری داشتند، انتخاب گردیدند و به دو گروه درمان شده (۳ رأس) و شاهد (۱ رأس) تقسیم شدند. اسبها در مدت آزمایش در اصطبلهای انفرادی نگهداری

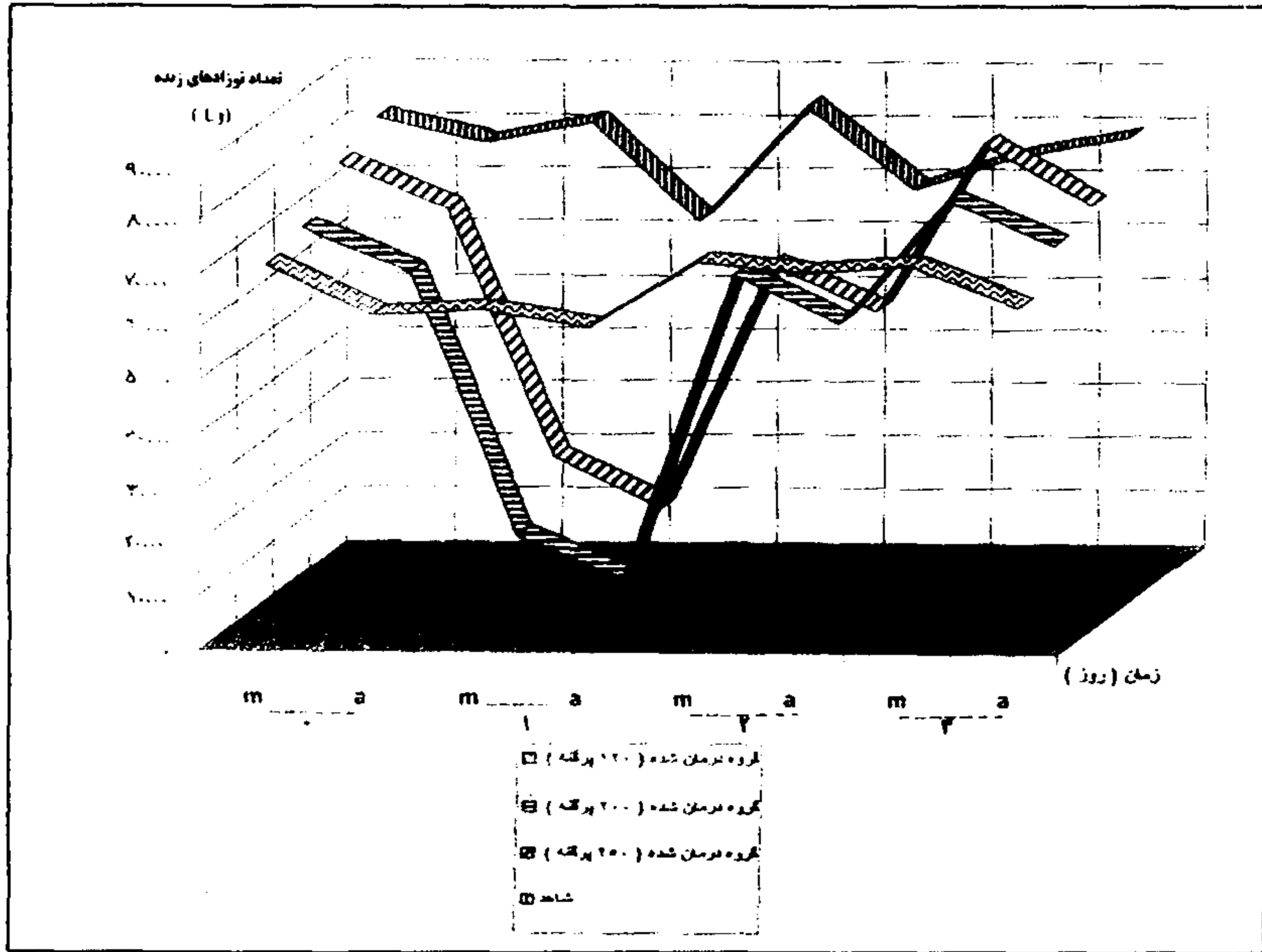
جدول ۱- احتمال بقا و از دست دادن نوزادهای زنده مرحله سوم سیاتوستومینه بر حسب زمان و در غلظتهای ۲ پرگنه در ۱۰۰ cc ، ۲۰۰ cc ، ۳۰۰ cc از قارچ آرتروبوتریس اولیگوسپورا (شرایط آزمایشگاهی)

زمان (ساعت)	تعداد نوزادهای زنده (در آغاز دوره)				احتمال بقای نوزادها (تا شروع دوره بعد)			
	۲ پرگنه در ۱۰۰ cc	۲ پرگنه در ۲۰۰ cc	۲ پرگنه در ۳۰۰ cc	شاهد	۲ پرگنه در ۱۰۰ cc	۲ پرگنه در ۲۰۰ cc	۲ پرگنه در ۳۰۰ cc	شاهد
۰	۳۰۰	۳۰۰	۳۰۰	۳۰۰	۰/۹۶	۰/۹۷	۰/۹۹	۱
۲	۲۸۹	۲۹۰	۲۹۶	۳۰۰	۰/۸۰	۰/۸۶	۰/۹۳	۰/۹۹
۴	۲۴۰	۲۵۷	۲۸۰	۲۹۶	۰/۶۵	۰/۸۷	۰/۸۸	۰/۹۷
۶	۱۹۵	۲۳۵	۲۶۵	۲۹۲	۰/۶۱	۰/۷۵	۰/۸۳	۰/۹۶
۸	۱۸۴	۲۲۵	۲۴۸	۲۸۹	۰/۵۹	۰/۷۲	۰/۷۱	۰/۹۶
۱۰	۱۷۶	۲۱۶	۲۱۳	۲۸۶	۰/۵۶	۰/۷۰	۰/۶۷	۰/۹۵
۱۲	۱۶۹	۲۰۹	۲۰۱	۲۸۶	۰/۵۱	۰/۶۶	۰/۶۳	۰/۹۴
۱۴	۱۵۲	۱۹۷	۱۸۹	۲۸۳

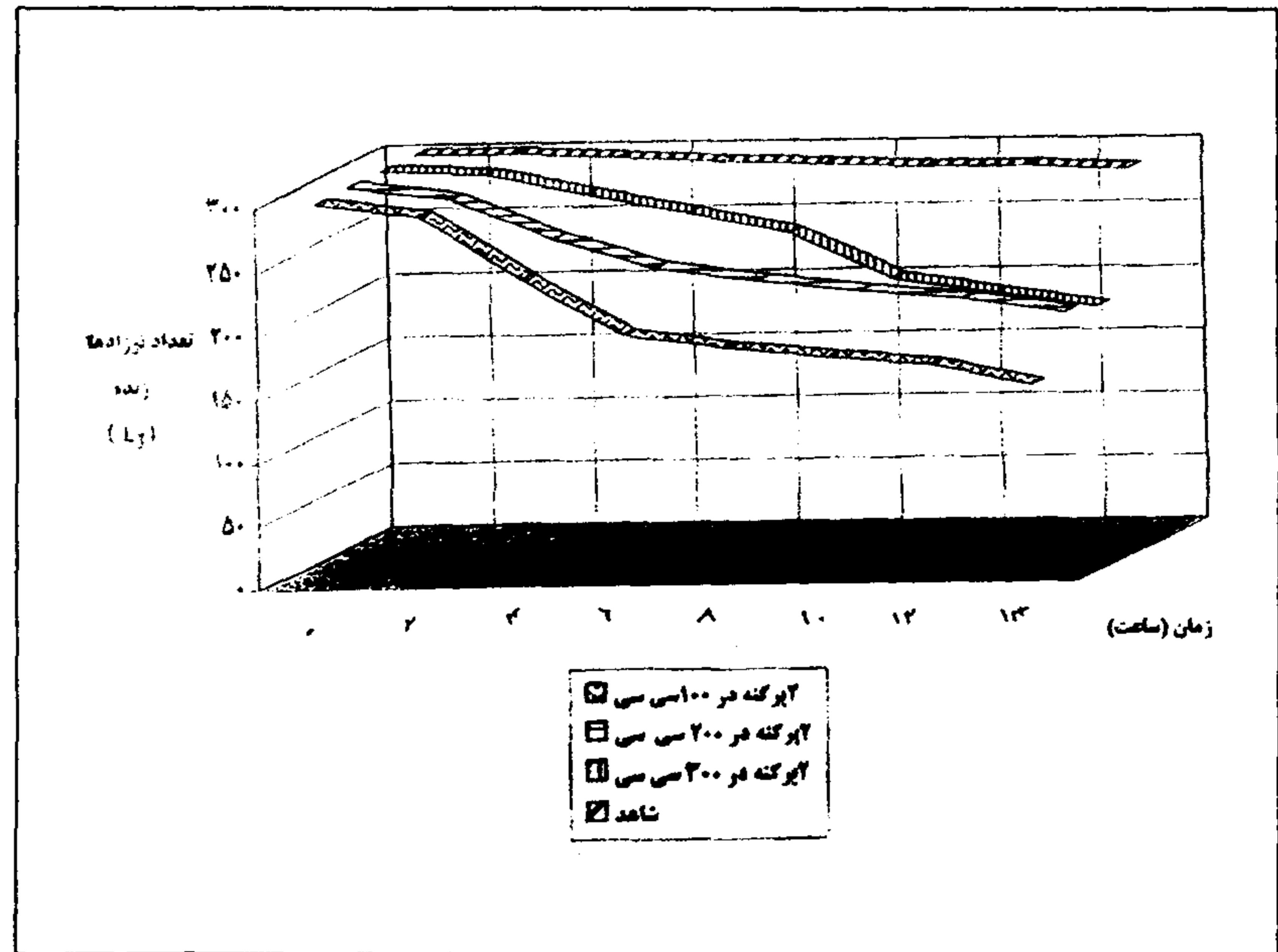
جدول ۲- میزان اثر مقادیر مختلف پرگنه های قارچ آرتروبوتریس اولیگوسپورا بر جمعیت نوزادهای زنده مرحله سوم سیاتوستومینه در اسبهای با آلودگی طبیعی (با توجه به تعداد نوزادهای زنده قبل و بعد از درمان)

گروه	شماره دام	تعداد نوزاد (روز صفر)		تعداد پرگنه خورانیده شده	تعداد نوزاد در روزهای بعد از درمان			
		صبح	ظهر		روز اول	روز دوم	روز سوم	
درمان شده	۱	۷۰۲۵۴۸	۶۱۰۸۳۲	۱۲۰	۶۲۲۸۸۰	۷۱۲۲۶۵	۷۰۷۴۰۵	
		۷۱۸۶۵۲	۶۴۰۹۴۰		۵۹۰۶۴۰	۶۹۳۶۳۰	۶۲۹۵۰۰	
	۲	۷۹۰۰۲۶	۷۰۷۴۳۷		۲۵۰	۱۴۸۴۰۰	۶۳۸۹۵۱	۷۷۸۱۰۰
		۷۹۰۰۲۶	۷۰۷۴۳۷			۶۸۹۷۰	۵۴۸۳۲۵	۶۹۴۱۰۰
۳	۸۲۵۳۶۷	۷۸۰۶۵۷	-	۱۴۹۷۳۰		۵۲۱۱۴۰	۷۲۰۸۰۰	
	۸۲۵۳۶۷	۷۸۰۶۵۷		۸۲۰۸۰۰		۸۵۱۰۰۰	۷۵۹۴۰۰	
۴	۷۸۰۶۵۷	۷۸۰۶۵۷		-	۶۲۵۱۰۰	۶۹۷۵۰۰	۷۹۵۶۰۰	
	۷۸۰۶۵۷	۷۸۰۶۵۷			۶۲۵۱۰۰	۶۹۷۵۰۰	۷۹۵۶۰۰	

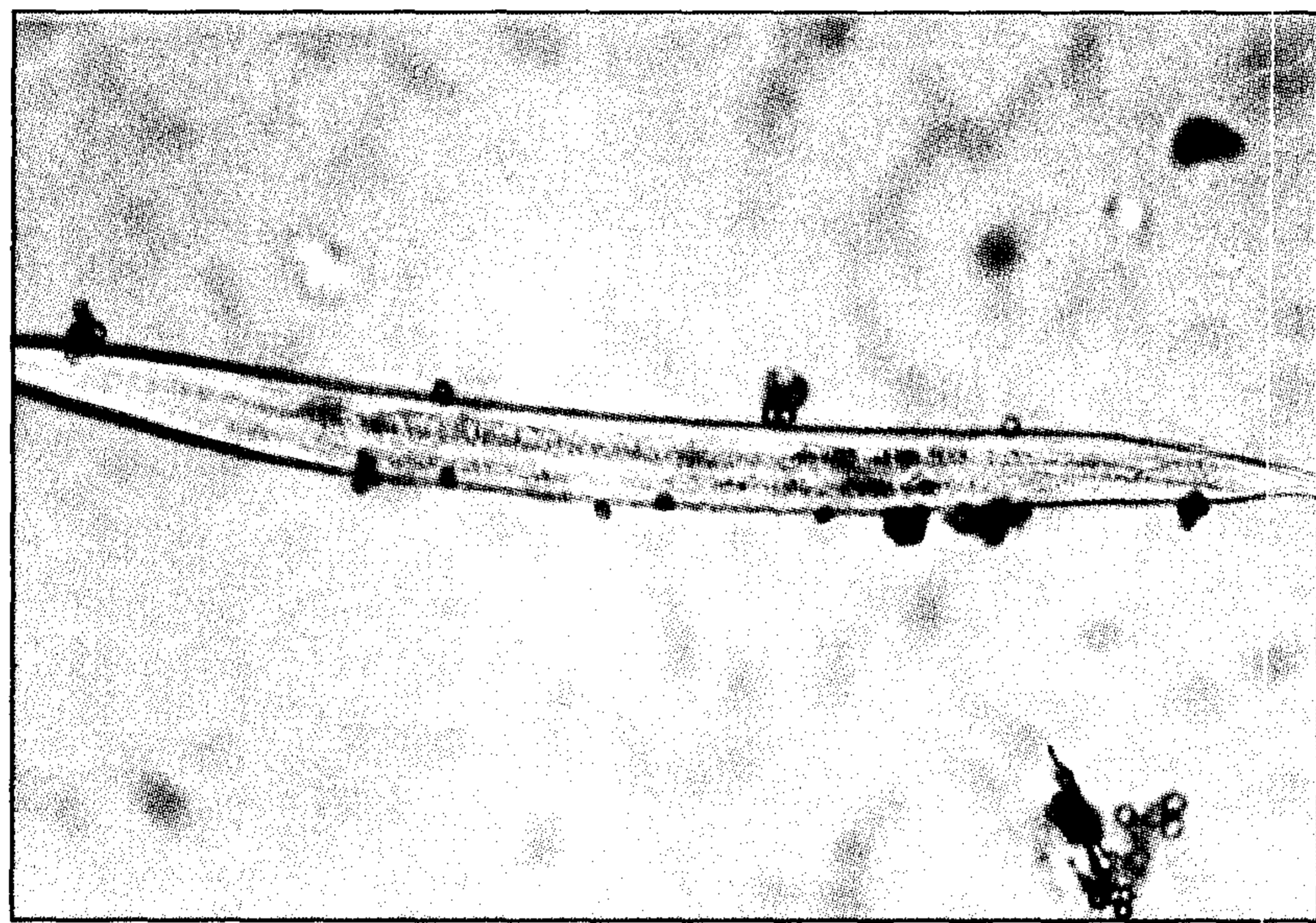




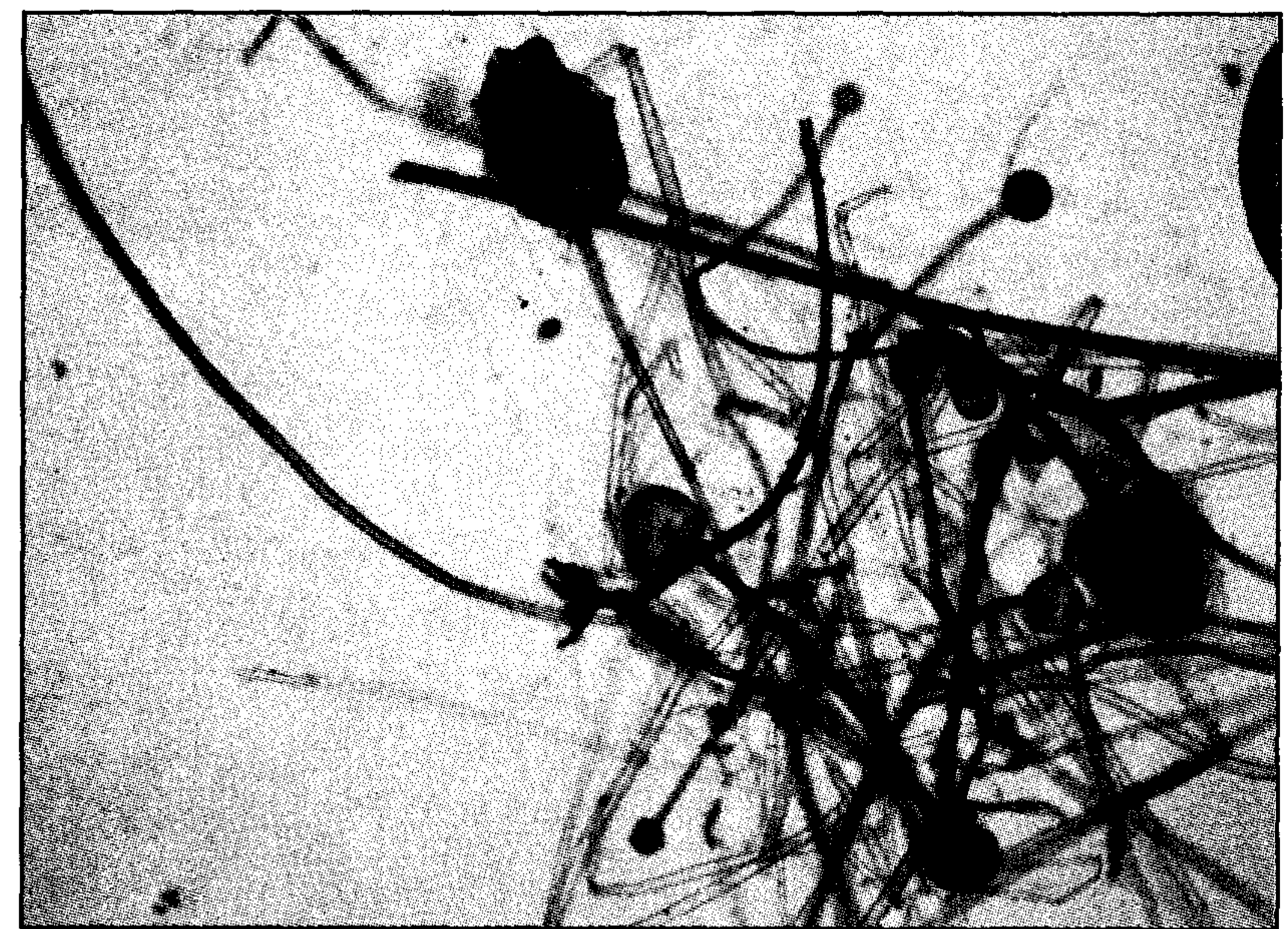
نمودار ۲- اثر مقادیر مختلف پرگنه های قارچ آرتروبوتریس اولیگوسپورا بر جمعیت نوزادهای زنده مرحله سوم سیاتوستومینه در مدفوع (قبل و بعد از خوراندن پرگنه‌ها به اسبهای با آلودگی طبیعی)



نمودار ۱- اثر رقتهای ۲ پرگنه در ۱۰۰ سی سی و ۲ پرگنه در ۳۰۰ سی سی قارچ آرتروبوتریس اولیگوسپورا بر جمعیت نوزادهای زنده مرحله سوم دون خانواده سیاتوستومینه در زمانهای مختلف (شرایط آزمایشگاهی)



تصویر ۳- اتصال کونیدیای قارچ آرتروبوتریس اولیگوسپورا به جدار کوتیکول نوزاد مرحله سوم سیاتوستومینه (شرایط آزمایشگاهی)



تصویر ۲- قارچ آرتروبوتریس اولیگوسپورا جدا شده از مدفوع اسب

در مدفوع رشد نماید و باعث کاهش تعداد نوزادهای زنده مرحله سوم سیاتوستومینه در محیط کشت مدفوع گردد. نتایج این بخش از بررسی در جدول ۲ و نمودار ۲ خلاصه شده است. براساس این اطلاعات در یک راس اسب که ۱۲۰ پرگنه خورانیده شده بود، کاهش قابل توجهی در تعداد نوزاد زنده مرحله سوم پس از کشت مدفوع دیده نشد (تا ۹۸/۵ درصد نوزادها فعال بودند). در حالی که به اسبی که ۲۰۰ پرگنه خورانیده شده بود در روز اول پس از کشت مدفوع ۲۱ درصد از نوزادها رشد کرده بودند و بالاخره به اسب سوم که ۲۵۰ پرگنه خورانیده شده بود در روز اول پس از کشت مدفوع، کاهش محسوسی در تعداد نوزادهای مرحله سوم سیاتوستومینه دیده شد (۱۰ درصد نوزادها فعال بودند).

بحث

Ackroyd و Rosenzweig در سال ۱۹۸۳ نقش ساکاریدهای لکتین قارچ آرتروبوتریس کونوئیدس و تعداد دیگری از قارچها را به دام انداختن نوزاد نماتودها، نشان دادند. علت به دام افتادن نوزاد نماتودها توسط برخی از قارچهای فرصت طلب محیط هرچه باشد در بررسی حاضر مجاور کردن پرگنه آرتروبو تریس اولیگوسپورا با نوزادهای مرحله سوم سیاتوستومینه در ظرف پتری نشان داد که شبکه‌های هایفی در ظرف ایجاد می‌شود و حرکت ماریچی نوزادها در این محیط باعث به دام افتادن و نفوذ میسلیموم به داخل بدن نوزادها می‌گردد (مرحله میسلیمومی). از سوی دیگر با توجه به اینکه قارچ

آزمون آماری: در این مطالعه ، نتایج حاصل از مجاورت نوزادهای مرحله سوم سیاتوستومینه با غلظتهای مختلف قارچ آرتروبوتریس اولیگوسپورا به کمک آزمون آماری Logrank آنالیز گردیدند(با استفاده از نرم افزار SPSS). البته ، با توجه به اینکه خوراندن پرگنه‌های قارچی به دامها جنبه کیفی داشت، نتایج نیز به روش آمار توصیفی تجزیه و تحلیل شدند.

نتایج

نتایج بررسی اثر قارچ آرتروبوتریس اولیگوسپورا بر نوزادهای مرحله سوم سیاتوستومینه: مجاور کردن نوزاد مرحله سوم سیاتوستومینه با سه رقت ۲ پرگنه در ۱۰۰^{cc}، ۲ پرگنه در ۲۰۰^{cc} و ۲ پرگنه در ۳۰۰^{cc} قارچ آرتروبوتریس اولیگوسپورا (پرگنه‌های با قطر یکسان ۲ سانتیمتر) پس از یک هفته انکوباسیون در طول ۱۴ ساعت موجب کاهش در تعداد نوزادها گردیدند. اثر کاهش در تعداد نوزادهای مرحله سوم سیاتوستومینه از نظر آماری در آزمون Logrank معنی دار بود ($P < 0.0001$). البته، در این بررسی نتایج نشان داد که میزان اثر دوزها با کاستن از غلظت شان کاهش می یابد (تصاویر ۲ و ۳). نتایج حاصل از اثر مجاورت پرگنه‌های قارچ آرتروبوتریس اولیگوسپورا با نوزادهای مرحله سوم دون خانواده سیاتوستومینه در جدول ۱ و نمودار ۱ نشان داده شده است.

نتایج بررسی میدانی اثر پرگنه‌های قارچ آرتروبوتریس اولیگوسپورا بر نوزادهای مرحله سوم سیاتوستومینه: خوراندن قارچ نماتودکش آرتروبوتریس اولیگوسپورا به اسب نشان داد قارچ می‌تواند پس از عبور از لوله گوارش اسب



کنترل آلودگی کرمی حیوانات از جمله اسب مورد توجه قرارداد مع الوصف این روش خطر بالقوه ای برای گونه‌های مفید غیر هدف در محل مورد نظر است. غیر اختصاصی بودن عوامل کنترل زیست شناختی می‌تواند موجب بروز آسیب‌هایی در طبیعت گردد. بنابراین قبل از پرداختن به هر اقدام کنترلی بایستی ارزیابی‌های دقیقی به عمل آید تا مانع خسارت احتمالی شود و یا آنرا به حداقل رساند. علاوه بر این ممکن است اقداماتی که در یک منطقه مفید است در مناطق دیگر آسیب رسان باشد. ولی برای استفاده صحیح باید به نکات زیر توجه کرد: ۱- جنس و گونه قارچ دقیقاً تعیین و تأیید گردد. ۲- اثر قارچ مربوطه در شرایط آب و هوایی و بوم‌شناسی بررسی شود. ۳- زنده ماندن قارچ پس از عبور از لوله گوارش دقیقاً بررسی گردد. ۴- میزان خوراندن آن براساس تعداد کونیدی به گرم مدفوع یا پرگنه به کیلوگرم وزن زنده دام دقیقاً معین شود.

References

- اسلامی، ع. (۱۳۷۶): کرم‌شناسی دامپزشکی (نماتودا و آکانتوسفالا)، جلد سوم، انتشارات تهران، صفحه: ۹۸-۹۷ و ۲۳۷-۱۹۵.
- خسروی، ع. (۱۳۷۰): قارچ‌شناسی پزشکی (روش‌های علمی)، انتشارات جهاد دانشگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، صفحه: ۴۹-۵ و ۹۳-۸۳.
- میناسیان، و. و علیزاده، ع. (۱۳۶۸): قارچ‌های ناقص (جنس‌های مشهور و مصور)، انتشارات کشاورزی دانشگاه شهید چمران اهواز، چاپ اول.
- نیاک، ع. و میرزاییانس، آ. (۱۳۴۵): روش‌های تشخیص آزمایشگاهی بیماری‌های انگلی در دامپزشکی، مؤسسه انتشارات چاپ دانشگاه تهران، صفحه: ۳۳، ۲۸، ۲۴، ۲۲، ۱۴، ۳۴.
- Barron, G.L. (1977): The nematode – destroying fungi, 6 Canadian Biological Publications Ltd., Guelph, Ontario, Canada, 21-46.
- Bird, J. and Herd, R.P. (1995): Invitro assesment of two species of nematophagus fungus *Duddingtonia flagrans* against Cyatostome Larvae in faeces passage through the gastrointestinal of horses. *Veterinary parasitology*. 60: 315-320.
- Deschiens, R. (1941): *Comptes Rendusdes Seances de La Societe de biologie et al ses Filiales*. 135: 830-832.
- Drechsler, C. (1937): Quoted from: Olthof, T.H.A (1963) A nematotoxin produced by the nematophagus fungus *A. oligospora* Fresenius. *Nature*, 197: 514-515.
- Drummond, R.O., George, J.E. and Kunz, S.E. (1988): Control of arthropod pests of Livestock: A review of technology. 21: 205-223.
- Fresenius, G. (1850): Quoted from olthof, T.H.A. (1963): A nematotoxin produced by the nematophagus fungus *A. oligospora* Fresenius. *Nature*, 197: 514-515.
- Gronvold, J. and Wolstrup, J. (1993): Biological control of nematode parasites in cattle with nematode – trapping fungi: A survey of Danish studies. *Veterinary Parasitology*. 48: 311-325.
- Larsen, M., Henriksen, S.A. and Zorn, A. (1995): Biological control of trichostronyles in calves by the fungus *Duddingtonia flagrans* fed to animals under nature grazing conditions. *Veterinary Parasitology*. 60: 321-330.
- Larsen, M. (1995): Predacious activity of the nematode trapping fungus *Duddingtonia flagrans* against Cyathostome Larvae in faeces passage through the gastrointestinal of horses. *Veterinary Parasitology*. 60: 315-320.

آرتروبوتریس/ولگوسپورا با تولید انشعابات چسبنده و اتصال کونیدی‌ها به جدار کوتیکول نوزادها را صید می‌کند؛ بنابراین قارچ به روش مکانیکی موجب به دام افتادن نوزادها و صید شدن آنها می‌گردد. طبق بررسی به عمل آمده مشخص شد احتمال بقای نوزادهای سیاتوستومینه تا ساعت ۱۴ در گروه ۲ پرگنه در 100°C ، ۵۱ درصد؛ در گروه ۲ پرگنه در 200°C ، ۶۶ درصد؛ در گروه ۲ پرگنه در 300°C ، ۶۳ درصد و در گروه شاهد ۹۴ درصد بود. این اختلاف در هر سه رقت از نظر آماری در آزمون Logrank معنی دار بود ($p < 0.0001$).

به طور کلی میزان تحرک نوزادها نقش مهمی در به دام افتادن آنها توسط قارچها دارد مثلاً نوزادهای تریکوستروتریلیده لوله گوارش نشخوار کنندگان و نوزادهای سیاتوستومینه لوله گوارش اسب که تحرک بیشتری دارند بیش از نوزاد کرم‌های ریوی با تحرک کمتر به دام می‌افتند (Nansen, ۱۹۹۸, Gronvold و Wolstrup, ۱۹۹۳). در بررسی حاضر نفوذ قارچ آرتروبوتریس/ولگوسپورا به داخل کوتیکول نوزاد مرده و زنده انجام می‌گرفت، این یافته در تأیید یافته‌های Wharton و Murray (۱۹۹۰) بود.

در بررسی میدانی حاضر، خوراندن ۲۰۰ و ۲۵۰ پرگنه به دو رأس از چهار اسب تحت مطالعه پس از ۲۴ ساعت در دمای محیط اصطبل کاهش قابل توجهی را در نوزادهای سیاتوستومینه پس از کشت مدفوع و شمارش نوزادها نشان داد (به ترتیب ۷۹ درصد و ۹۰ درصد). این یافته با یافته‌های Larsen (۱۹۹۵)، (Bird و Herd ۱۹۹۵) مشابهت داشت. علاوه بر این، این یافته نشان می‌دهد که قارچ آرتروبوتریس/ولگوسپورا قادر به عبور از لوله گوارش اسب و بروز نقش صیادی خود بر ضد نوزادهای سیاتوستومینه در محیط مدفوع است، در بررسی دیگری از قارچ دودینگتونیا فلاگرانس به این منظور استفاده شده است (Larsen و همکاران، ۱۹۹۵). این محققان نشان دادند که قارچ زنده از لوله گوارش خارج می‌شود و قادر است نوزادهای موجود در کشت مدفوع را از میان بردارد (البته در بررسی حاضر آزمایش زنده بودن قارچ صورت نگرفت). با استفاده از قارچ دودینگتونیا فلاگرانس در کنترل نوزادهای تریکو ستروتریلیده‌های گوساله نیز نتایج مشابهی گرفته شد و خوراندن قارچ به گوساله در دو ماهه اول چرا موجب کاهش آلودگی علوفه و کاهش آلودگی دام گردید. اندازه‌گیری پسیپینوزن نشان دهنده کاهش آلودگی بود در این دوره وزن دامها درمان شده با قارچ نسبت به گروه شاهد بیشتر بود (Larsen و همکاران، ۱۹۹۵). یکی از مشکلات خوراندن قارچ و عبور آن از راه لوله گوارش اثر محیط لوله گوارش و ترشحات آن بر قارچ است. Larsen در سال ۱۹۹۱ نشان داد که عبور قارچ آرتروبو تریس و دودینگتونیا از لوله گوارش تحت تاثیر مایع شکمبه و شیردان (پسین و اسید کلریدریک) منجر به مرگ تعدادی از ایزولیت های قارچ می‌شود و از ۱۳ ایزولیت آرتروبو تریس ۶ ایزولیت و از ۱۸ ایزولیت دودینگتونیا ۷ ایزولیت زنده ماندند. اگر چه با بررسی‌های محدودی که در مورد اثر قارچها در کنترل سیاتوستومینه صورت گرفته است اثر محیط لوله گوارش و آنزیم‌های موجود در آن مورد بررسی قرار نگرفته است ولی محققان استفاده از قارچ‌های مقاوم در برابر فرآیند هضمی لوله گوارش نشخوار کنندگان (Larsen و همکاران، ۱۹۹۱ و ۱۹۹۲)، استفاده از قارچ‌هایی که بتواند کلامیدیوسپورهای مقاوم ایجاد نماید (Valer, ۱۹۹۲) و استفاده از پوشش مقاوم در برابر آنزیم‌های گوارشی برای قارچ‌های خورنده شده را پیشنهاد کرده‌اند.

استفاده از قارچها در کنترل آلودگی‌های کرمی با توجه به فقدان باقیمانده های سمی در بافتهای بدن دام، عدم عوارض جانبی قارچ‌های نماتودکش برای دام، تولید، تکثیر و نگهداری آسان آنها، عدم نیاز به وارد کردن فن آوری جدید از خارج، راه آسان خوراندن به دام (مخلوط با خوراک دام یا اضافه کردن به مرتع)، ارزان بودن محصول تولید شده در مقایسه با هزینه در ماه، دارو و سموم حشره کش، جهت تهیه نیاز به صرف هزینه ارزی نیست، عدم نیاز به بسته بندی‌های خاص، عدم آلوده شدن محیط زیست، حمل و نقل آسان، و عدم زیان قارچ برای انسان مشکل مقاومت در برابر آن وجود ندارد و با توجه به جمعیت دامی در هر منطقه و اقلیم تهیه و تولید مواد کنترل زیست شناختی از همان محل امکان پذیر است بنابراین می‌توان استفاده از قارچ‌های نماتودکش را در



14. Rosenzweig, W.D. and Ackroyd, D. (1993): Binding characteristics of lectins involved in the trapping of nematode by fungi. *Applied and Environmental Microbiology*. 5, 46: 1093-1096.
15. Wharton, D.A. and Murray, D.S. (1990): Carbohydrate/Lectin interactions between the nematophagus fungus, *A. oligospora*, and infection juveniles of *Trichostrongylus colubriformis* the *Parasitology*, 101: (Nematoda). 101-106.
16. Woronin, K. (1870): *Sphaeria lemaneae*, *Sordaria coprophila*, *S. fimiseda*, *Arthrotrys oligospora*. In: de bary, A. and Woronin: *Beitr Morphology physiology. Pilze*, III, Abhndl, Senkenberg Naturforsch, Ges., 7, 325-360.
17. Zopf, W. (1888): Zur Kenntniss der Infektions. Krankheiten niederer Tiere und pflanzen. *Nova acta Leop carol*. 52, 314-376.

Biological control of Cyathostominae larvae (L3) by *Arthrobothrys oligospora*

Yakchali, M.¹, Eslami, A.², Khosravi, A.R.³

¹Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia – Iran. ²Department of Parasitology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran – Iran. ³Department of Microbiology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran – Iran. *J. Fac. Vet. Med. Tehran. Univ.* 56, 4: 91-95, 2001.

This study was carried out to determine the role of some saprophytic fungi found in the horse faeces in the biological control of larval stages of small strongyles subfamily Cyathostominae on these larvae. Interaction between the predacious conidia *A. oligospora* and third stage larvae were tested in vitro and under field conditions. This species of fungi at 2 colonies per 100^{CC}, 200^{CC} and 300^{CC} 0.9% saline containing 300 third stage larvae can reduce significantly ($P < 0.0001$) the number of Cyathostominae larvae by 49%, 34% and 37% respectively under laboratory conditions by using sticky branches and also by attachment of fungi conidia to the entire cuticle of the larvae. Three horses naturally infected with small strongly were each fed 120, 200 and 250 colonies of *A. oligospora*. The excreted dungs was collected on day zero, first, second and third day after administration of the colonies and the efficacy of fungi was assessed by counting the larvae in faecal culture in comparison with fungus free control pad. It was shown that the fungi can survive after passage through the gastrointestinal tract of horse and reduced the number of larvae in the horses that had received 250 colonies.

Key words: Biological control, Cyathostominae larvae (L3), *Arthrobothrys oligospora*.

