

Pertumbuhan *Duddingtonia flagrans* pada Air Liur, Larutan Rumen, Blok Komin, dan Agar Semen

(THE GROWTH OF *DUDDINGTONIA FLAGRANS* IN SALIVA, RUMEN FLUID,
KOMIN BLOCK AND CEMENT AGAR)

Riza Zainuddin Ahmad¹⁾, Beriajaya²⁾

Lab Mikologi¹⁾, Lab Parasitologi²⁾ Balai Besar Penelitian Veteriner
Jalan R.E.Martadinata 30 Bogor 16114
Telp.0251-331048, E-mail : rizamiko@yahoo.co.id

ABSTRACT

Duddingtonia flagrans is selected nematophagous fungi as biological control to nematode worm. The aim of this research was to show that the survival of *in vitro* tested to *D. flagrans* mold growth is effected by artificial saliva, rumen fluid, enzymes and agar-cement and comin block applicator. The testing was done two steps : Firstly the conidia's was multicated and the secondly the growth of *D. flagrans* tested in saliva, rumen fluid and comin block, agar cement applicator. The result showed that mold could survive and grow in condition such as in gastrointestinal fluid of sheep and in comin block and in agar-cement applicator (1 and 2%). It can be concluded that *D. flagrans* could grow in medium containing rumen fluid, saliva, enzymes and comin block and agar-cement applicator.

Keywords: Comin block, agar-cement, *Duddingtonia flagrans*, saliva, rumen fluid Razak Achmad¹,

PENDAHULUAN

Kapang nematofagus *Duddingtonia flagrans* merupakan kapang pilihan untuk mengendalikan larva parasit cacing nematoda pada ternak di masa kini dan mendatang. Pilihan tersebut berdasarkan penelitian yang telah dilakukan sebelumnya (Marshal 2001; Thamsborg 2003; Waller dan Larsen, 1996)

Pada penelitian sebelumnya telah ditemukan lebih dari 150 jenis kapang terdiri dari berbagai macam kapang-kapang nematofagus seperti *Arthrobotrys* spp, *Catenaria* spp, *Dactylella* spp, *Dactylaria* spp, *Pleurotus pulmonaris*, *Monacrosporium* spp, *Verticillium* spp (Barron 1977; Gronvold *et al.* 1993). Namun menurut Waller dan Larsen (1996), hanya spesies *D. flagrans* yang efektif dipakai untuk mereduksi cacing ternak. Isolat ini dipilih karena tidak mengakibatkan efek resistensi pada parasit cacing, untuk memproduksinya mudah dilakukan, memiliki daya tahan hidup yang tinggi di alam, aplikasinya mudah, memiliki kladidospora yang tahan terhadap faktor-faktor ekstrim pertumbuhan seperti suhu dan kekeringan. Penelitian di luar negeri setelah kapang *Arthrobotrys* spp. diteliti kini mulai beralih

kepada kapang *D. flagrans*, menurut Mendoza-De Gives *et al.* (1999) kapang *D. flagrans* lebih efektif dan efisien di dalam membunuh larva nematoda dibanding *Arthrobotrys* spp, meski di dalam memproduksi konidia lebih banyak dihasilkan oleh *A. oligopora* dengan perlakuan yang sama. Selain itu kapang tersebut mampu menghasilkan kladidospora.

Kapang *D. flagrans* termasuk kapang tanah yang menurut beberapa sistematika termasuk kelas *Hypomycetes* bersama-sama dengan *Arthrobotrys* spp. memproduksi spora dan kladidospora (Yeates, 2000). *D. flagrans* sama seperti kapang nematofagus lainnya tumbuh pada suhu 20-30°C, kelembaban 90%, pH sedikit asam bergantung pada spesies, memerlukan oksigen dan sedikit mineral, dapat tumbuh pada tanah pertanian dan bekas pemeliharaan ternak. Kapang ini mempunyai kemampuan mengendalikan cacing nematoda dengan cara sebagai kelompok predator (Larsen 2000). Kondisi seperti ini banyak ditemukan di Indonesia seperti di daerah Jawa Barat (Ahmad dan Beriajaya, 2003).

Kapang *D. flagrans* dapat digunakan untuk pengendalian parasit cacing pada babi seperti *Osephagostomum dentatus*, *Hyostrogylus*

rabidus; pada kuda seperti *Cyathostome* spp, *Strongylus vulgaris*, *Strongylus edentatum*; pada domba dan sapi *Trichostrongylus colubriformis* (Faedo *et al.*, 1998; Larsen *et al.*, 1995 (a), (b), 1996, 1998; Nansen *et al.*, 1996).

Hasil yang diperoleh dari penelitian sebelumnya adalah *D. flagrans* cukup optimal dalam mereduksi larva cacing infeksi, selain itu pemakaian *D. flagrans* dapat dikombinasikan dengan kapang nematofagus lain seperti *A. oligospora* (Larsen, 2000). Namun, bila suhu tempat aplikasi di lapang di atas 30°C maka hanya *D. flagrans* saja yang lebih cocok digunakan, hal ini karena proses pertumbuhan jerat yang optimal terjadi pada suhu 35°C, sedangkan *A. oligospora* pada suhu 25°C (Ahmad, 2008). Aplikasinya juga dapat dilakukan secara terpadu dengan pengendalian obat cacing, manajemen peternakan.

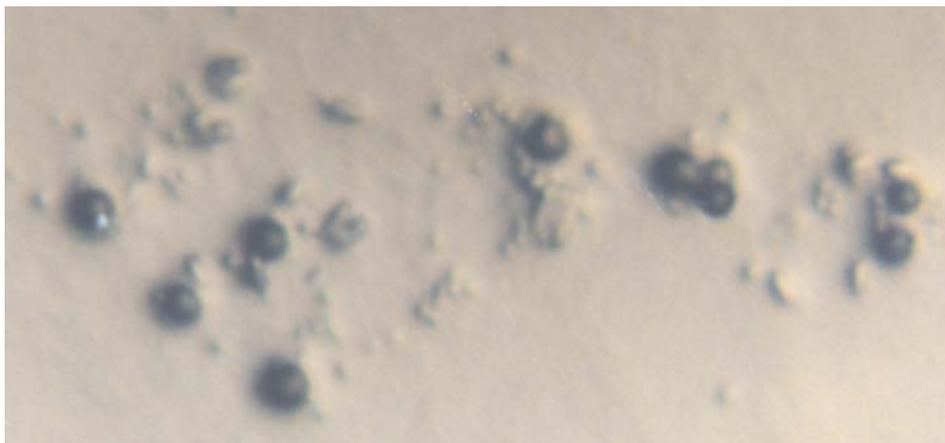
Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari pengaruh air liur, rumen, enzim pepsin dan tripsin, aplikator komin blok dan semen agar terhadap pertumbuhan kapang *D. flagrans* secara *in vitro*.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan di Balai Besar Penelitian Veteriner Bogor pada tahun 1998-2000. Sebelum uji *in vitro* ini dilakukan, dipersiapkan konidia *D. flagrans* (Gambar 1) yang diuji dengan cara memperbanyak dan kemudian dipanen untuk diuji pertumbuhannya pada larutan rumen, air liur, enzim pepsin, tripsin, komin blok dan semen agar.

Perbanyakan dan pemanenan kapang

Kapang nematofagus diperbanyak dengan cara menginokulasi konidianya pada medium *Potato Dextrose Agar* (PDA), lalu diinkubasi pada suhu kamar 25°C selama 10 hari. Setelah mendapat isolat murni lalu diperbanyak lagi ke cawan petri lainnya dengan cara memindahkan bersama agarnya (ukuran 1 cm²) ke dalam medium yang baru. Konidia dan miselia (hifa) yang dihasilkan dipanen dengan cara mencuci permukaan medium dengan air steril hangat (39°C) dan dikerok, dipindahkan



Gambar 1. Kapang *D. flagrans* isolat lokal dengan khamidospora yang diinkubasi selama 20 hari pada media *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA) pada suhu kamar (25°C).



Gambar 2. Bahan untuk uji stress *in vitro* (A) Air liur, larutan rumen, enzim, (B) Komin blok yang sudah ditambah kapang, (C) agar semen yang sudah ditambah kapang

pada tabung sesuai dengan kebutuhan. Hifa dan konidia ditimbang beratnya hingga mencapai 50 g, lalu masing-masing diuji dengan berat 2 g.

Persiapan materi uji

Larutan uji dipersiapkan sebagai terlihat pada Gambar 2.

Cairan Ludah

Air liur sintetis (Gambar 2 A) dibuat yang nantinya seperti saliva sintetis buatan Ranilla and Carro (2003) yang merupakan modifikasi saliva buatan (Mc Dougall) dengan komposisi seperti pada Tabel 1 yang dikondisikan dengan CO₂ pada suhu 39°C dan disimpan pada suhu 39°C sampai saat dipakai.

Tabel 1. Komposisi saliva (air liur)

Garam	g/l
Na HCO ₃	9,80
Na ₂ HPO ₄	3,72
NaCl	0,47
KCl	0,57
CaCl ₂ .2H ₂ O	0,053
MgCl ₂ .6H ₂ O	0,128
pH : 8,4	

Sumber : Ranilla and Carro (2003)

Larutan Rumen

Larutan rumen berasal dari rumen sapi yang dipotong kecil-kecil berukuran 1 mm, dimasukkan ke dalam 1 liter kontainer dan disimpan pada suhu 39°C. Larutan rumen dan air liur sintetis dibuat dengan perbandingan 1: 4, lalu disimpan pada suhu 39°C.

Enzim

Larutan asam pepsin–hydrochloride dibuat dengan pH 2-5 dengan menambahkan NaOH. Larutan 10% tripsin dalam air demineralisasi dipersiapkan dengan Difco tripsin 1 : 250, dikondisikan pada pH 7-6 dan suhu 39°C (Gambar 2A).

Komin Blok

Komin blok yang beratnya 400 g dibagi rata menjadi 8 bagian, dihancurkan dan dipersiapkan untuk adonan berbentuk bola yang dicampur dengan penambahan konidia *D. flagrans* (Gambar 2B).

Agar Semen

Semen putih dan medium *Yeast Malt Agar* (YMA) di buat dengan komposisi semen: 0%, 1%, 2%, 4% dan 8% pada medium YMA, volume dibuat 20 cc/ petri (Gambar 2C).

Tabel 2. Komposisi Komin blok

Mineral	%	Mineral	%
Nitrogen (N)	1,14	Sulfur	0,35
Abu	64,81	Besi	87
C-org	11,54	Mangan	521
Phosphor	0,24	Seng	77
Kalium	0,33	Tembaga	341
Natrium	1,47	Timbal	1,00
Kalsium	21,00	Cadmium	0,62
Magnesium	0,35	Sulfur	0,35

Sumber: Balitnak (2004)

Perlakuan Larutan rumen, air liur dan enzim

Perlakuan ini berdasarkan penelitian yang dilakukan Larsen *et al.*, (1991) yang telah dimodifikasi, sebagai berikut:

Cawan petri yang telah ditumbuhi oleh kapang nematofagus dibubuhi 1 ml larutan uji. Untuk setiap uji dipakai dua bagian. Miselium dikerok dari 2 cawan petri dan dimasukkan ke dalam tabung 10 ml berisi 5 ml larutan uji. Untuk perlakuan dengan larutan rumen, 2 tabung disiapkan, tabung dilapisi dan diberi gas yang dilepaskan dari katup, lalu diinkubasikan dalam penangas air/*water bath* pada suhu 39°C.

Setelah 4 jam diinkubasi, 2 sampel diambil dari tiap tabung berisi larutan buffer, larutan pepsin–HCl dan larutan tripsin masing-masing sebanyak 0,5 ml. Lima sampel masing-masing sebanyak 0,5 ml diambil dari salah satu tabung berisi larutan rumen setelah 24 jam masa inkubasi.

Selanjutnya, substansi dari tabung lainnya dengan cairan rumen dipusing (2.500 rpm, 10 menit) dan supernatannya dibuang. Lima ml dari larutan pepsin HCl ditambahkan pada sedimen, lalu dicampur dan dikondisikan pada pH 2-5 dengan cara menambahkan HCl, lalu diinkubasikan selama 4 jam. Sampel diambil, diinokulasikan pada medium TCC-WA dan diinkubasikan pada suhu ruangan selama 7 hari.

Komin blok dan semen agar

Komin blok (Gambar 2B), terdiri dari 8 bagian berbentuk seperti bola dan masing-

masing telah ditambahkan konidia 10cc = 2 x 10⁶ konidia, dibiarkan 1 minggu, lalu diperiksa secara duplo pada suhu kamar. Bila hasil positif dilanjutkan pemberian pada domba 1 bola/hari sampai habis. Pada hari ke tiga dan ke sembilan tinja diperiksa apakah masih ada isolat *D. flagrans* yang hidup, percobaan ini dilakukan sebanyak 4 ulangan.

Semen putih dan YMA (Gambar 2C) dengan konsentrasi 1, 2, 4, 8% masing-masing 20 cc per petri ditambahkan konidia 10cc = 2 x 10⁶ konidia/petri, lalu di periksa hari ke 3 dan ke 7. Pada konsentrasi tertentu jika *D. flagrans* hidup, perlakuan dilanjutkan dengan pemberian pada domba 1 petri/hari, pada hari terakhir perlakuan pemberian semen putih dan YMA, tinja diperiksa, dilakukan 4 ulangan.

Peubah

Peubah yang diukur dan diamati adalah pertumbuhan kapang *D. flagrans* pada media agar setelah diberi air liur, larutan rumen, komin blok dan semen putih.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji stress *in vitro* ini dilakukan untuk menunjukkan kemampuan hidup dan pertumbuhan kapang nematofagus dengan modifikasi metode Larsen *et al.*, (1991). Diupayakan agar kapang dapat hidup dalam kondisi seperti pada cairan ludah dan rumen. Pada kondisi ini terdapat suasana asam, basa, kerja enzim-enzim, temperatur yang berbeda. Pada Tabel 3 ditunjukkan isolat *D. flagrans* yang diuji dapat tumbuh dengan baik. Bila pada uji ini *D. flagrans* dapat bertahan hidup dan tumbuh, maka dapat dilanjutkan dengan uji predatornya terhadap *H. contortus* pada percobaan berikutnya.

Setelah dapat bertahan hidup melalui uji kondisi seperti pada saluran pencernaan,

kapang-kapang yang hidup selanjutnya akan diuji kemampuannya membentuk perangkap dan kemampuan membunuh larva III *H. contortus*.

Duddingtonia flagrans merupakan salah satu kapang yang memenuhi persyaratan utama, yaitu setelah diidentifikasi sebagai kapang nematofagus dan dapat tumbuh dengan baik, tidak terkontaminasi mikroba lain, maka dapat dilanjutkan dengan uji *in vitro* (stress simulasi saluran pencernaan). Bila bertahan hidup akan dilanjutkan dengan uji kemampuan membuat perangkap dan mereduksi larva. Namun, umumnya di dalam seleksi uji ini banyak yang mati. Hal ini disebabkan sporanya tak kuat terhadap suasana asam lambung atau air liur sintetik, dan enzim-enzim. Isolat *D. flagrans* ini memiliki kemampuan hidup dalam suasana dan kondisi demikian. Meski tidak semua kapang nematofagus memiliki ketahanan hidup yang sama, dan sangat bervariasi, sehingga bila dilakukan uji tersebut hanya sedikit yang lulus seleksi.

Air liur sintetik dibuat karena menampung air liur dari ternak hidup kurang efisien sehingga dibuat dari bahan sintetik, hal ini cukup sesuai dengan yang kondisi aslinya. Hanya saja beberapa perlakuan enzim tak bisa dilakukan secara lengkap, dan enzim yang penting saja seperti enzim pepsin dan tripsin. Namun demikian untuk uji simulasi ketahanan hidup dianggap cukup mewakili.

Hasil uji pada Tabel 3 menunjukkan *D. flagrans* mampu bertahan hidup pada air liur, larutan rumen, enzim pepsin dan tripsin, dapat tumbuh pada media aplikator komin blok dan agar semen. Hal tersebut karena pada larutan rumen, air liur, enzim tidak memiliki nutrisi yang diperlukan untuk tumbuh, sedangkan pada komin blok dan agar semen mengandung nutrisi untuk pertumbuhan *D. flagrans*.

Tabel 3. Pengaruh air liur, pepsin, tripsin, larutan rumen, aplikator komin blok, dan semen agar terhadap pertumbuhan *D. flagrans*

Perlakuan	<i>D. flagrans</i>	
	Daya Tahan Hidup	Pertumbuhan
Komin blok	+ (Hidup)	+ (Tumbuh)
Semen agar (1 dan 2%)	+ (Hidup)	+ (Tumbuh)
Enzim (Pepsin dan Tripsin)	+ (Hidup)	- (Tidak Tumbuh)
Air liur	+ (Hidup)	- (Tidak Tumbuh)
Larutan rumen	+ (Hidup)	- (Tidak Tumbuh)

Klamidospora *D. flagrans* lebih baik dan tahan terhadap kondisi stress *in vitro* dibandingkan dengan konidia *A. oligospora* karena dinding permukaan klamidospora *D. flagrans* lebih tebal dan kasar karena adanya tonjolan-tonjolan seperti knob sedangkan *A. oligospora* tidak memiliki klamidospora (Larsen *et al.* 1991; Gronvold *et al.* 1996). Hal ini juga yang memberikan ketahanan hidup dalam uji seleksi seperti di atas.

Kapang *D. flagrans* dapat tumbuh pada berbagai macam media yang mengandung zat-zat yang diperlukan mikroorganisma dan kapang lainnya seperti karbohidrat, protein, air, garam-garam mineral dan sebagainya. Diketahui nutrisi yang umum diperlukan mikroba pada media untuk pertumbuhan adalah air (80-90%) sisanya berat kering terdiri atas unsur C, H, O, N, S, P yang berjumlah kurang lebih 99%, dan kurang lebih 1%nya berupa ion inorganik unsur K, Mg, Fe, Ca, kemudian 0,1% berupa elemen pelengkap Co, Cu, Mo, Mn, Zn. Unsur-unsur C, H, O, N, S, P, merupakan unsur penting yang diperlukan untuk penyusunan asam amino di dalam membentuk protein, gula untuk membentuk polisakarida, nukleotid untuk pembentuk DNA dan RNA, pembentuk lipid. Sedangkan unsur K, Mg, Fe, Ca diperlukan kapang sebagai ko-faktor enzim, dan vitamin (Fuller, 2001; Fmipa, 2002).

Menurut Suriawiria (1990) sesuai fungsi fisiologi dari masing-masing komponen (unsur/hara) yang terdapat di dalam media, maka susunan media pada semua jenis media mempunyai kesamaan isi, yaitu: kandungan nitrogen, air, sumber energi atau unsur C dan faktor pertumbuhan (vitamin dan asam amino). Berdasarkan persyaratan tersebut, susunan media dapat berbentuk: media alami, sintesis atau media sintetik dan semi-sintesis.

Di dalam uji ini dilakukan pada media sintetik buatan pabrik (blok komin dan semen agar). Hal ini dilakukan karena di dalam aplikasi tentunya perlu bahan aplikasi yang dipakai untuk memudahkan aplikasi, karenanya perlu uji aplikator yang akan dipakai di dalam penerapannya. Untuk menguji ketahanan hidup *D. flagrans* pada blok komin dan agar semen maka pada domba yang diberi perlakuan dan diperiksa tinjanya apakah masih ditemukan isolat *D. flagrans* yang hidup dan tumbuh.

Pemberian dengan media agar dan semen kurang efektif dibandingkan dengan komin blok, karena pada agar semen hanya hidup sampai pada konsentrasi 2% saja, di atas konsentrasi tersebut tidak tumbuh, selain itu pada komin blok sudah tersedia unsur-unsur berupa pakan tambahan yang dibutuhkan, karena itu lebih baik aplikator yang dipakai adalah komin blok.

Komin blok merupakan salah satu media yang cocok untuk pertumbuhan *D. flagrans* tersusun dari komponen bahan ransum, seperti dedak padi, campuran mineral lengkap, molases, kapur, garam, semen dan unsur mineral dengan konsentrasi tertentu seperti pada Tabel 2. Komin blok mempunyai fungsi ganda selain untuk medium kapang juga dapat sebagai pakan tambahan yang sehat untuk ternak. Hasil tersebut ditunjukkan pada Tabel 3 bahwa *D. flagrans* memiliki ketahanan hidup yang diperlukan sebagai kapang nematofagus.

SIMPULAN

Isolat *D. flagrans* dapat bertahan hidup pada cairan ludah, rumen, enzim pepsin dan dapat tumbuh pada aplikator komin blok dan Semen *Yeast Malt Agar*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini adalah bagian dari penelitian yang dibiayai oleh APBN tahun 1997/1998 dan proyek PAATP Departemen Pertanian tahun 2000/2001.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad RZ dan Beriajaya. 2003. Penyebaran dan jenis kapang nematofagus sebagai pengendali parasit cacing ternak di Jawa Barat, Jawa Tengah dan Sumatera Utara. *Prosiding seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner Bogor*, 29-30 September 2003: 199-204.
- Ahmad R Z. 2008. Pembentukan jerat dan reduksi larva III *Haemonchus contortus* oleh kapang nematofagus. *Jurnal Veteriner*. 9 (3):141-146.
- Balitnak. 2004. Comin Blok. [http:// WWW. Balitnak.Com](http://WWW.Balitnak.Com) (5 Januari 2005).

- Barron G L. 1977. The nematode destroying fungi. In: *Tropics in Mycology* No.1. Ontario. Canadian Biological Publication Ltd.
- Faedo M, Barnes EH, Dobson RJ and Waller PJ. 1998. The potential of nematophagous fungi to control the free-living stages of nematode parasites of sheep: Pasture plot study with *Duddingtonia flagrans*. *Vet Parasitol* 76: 129-135.
- Fmipa. 2002. WWW .ut. ac.id/ol-supp/fmipa/kulit4450/buah.htm (10 -11-2002).
- Fuller H. 2001. <http://WWW.Ucd.ie/botany/tut/fun/funans4.htm>.p: 1 (7-12- 2002)
- Gronvold J, Wolstrup J, Nansen P, Henriksen SA, Larsen M, Bresciani J. 1993. Biological Control of nematode parasites in Cattle with nematode trapping fungi: a Survey of Danish Studies. *Vet Parasitol* 48: 311-325.
- Gronvold J, Nansen P, Henriksen SA, Larsen M, Wolstrup J, Bresciani J, Rawat H and Fribert L. 1996. Induction of traps by *Ostertagia ostertagi* larvae, chlamydospore production and growth rate in the nematode-trapping fungus *Duddingtonia flagrans*. *J Helminthol* 70: 291-297.
- Larsen M, Wolstrup J, Henriksen SA, Dackman C, Gronvold J, Nansen P. 1991. *In vitro* stress selection of nematophagous fungi for biocontrol of parasitic nematodes in ruminants. *J Helminthol* 65: 193-200.
- Larsen M, Nansen P, Wolstrup J, Gronvold J, Henriksen SA and Zorn A. 1995 (a). Biological control of trichostrongyles in calves by fungus *Duddingtonia flagrans* fed to animals under natural grazing conditions. *Vet Parasitol* 60: 321-330.
- Larsen M, Nansen P, Henriksen SA, Wolstrup J, Gronvold J, Zorn A and Wedo E. 1995 (b). Predacious activity of nematode-trapping fungus *Duddingtonia flagrans* againsts *Cyathostome* larvae in faeces after passage through the gastrointestinal tract of horses. *Vet Parasitol* 60: 315-320.
- Larsen M, Nansen P, Grondhal C, Thamsborg SM, Gronvold J, Wolstrup J, Henriksen S.A. and Monrad J. 1996. The capacity of fungus *Duddingtonia flagrans* to prevent strongyle infections in foals on pasture. *Parasitol* 113: 1-6.
- Larsen M, Faedo M, Waller PJ and Hannessey DR. 1998. The potential of nematophagous fungi to control the free-living stages of nematodes parasites of sheep: Studies with *Duddingtonia flagrans*. *Vet Parasitol* 76: 121-128.
- Larsen M. 2000. Prospects for controlling animal parasitic nematodes by predacious microfungi. *Parasitol* 120: S121-131.
- Marshall J. 2001. Worm-eating fungus could soon benefit farmers. [http:// www.e-campo.com/media/news/ag-inetrnatioan/newz14_10b.htm](http://www.e-campo.com/media/news/ag-inetrnatioan/newz14_10b.htm) (15-3- 2001)
- Mendoza-De Gives P, Davies KG, Clark SJ, Behnke JM. 1999. Predatory behaviour of trapping fungi againsts srf mutants of *Caenorhabditis elegans* and different plant and animal parasite nematodes. *Parasitol* 119: 95-164.
- Nansen P, Larsen M, Roestorff A, Gronvold J, Wolstrup J and Henriksen SA. 1996. Control of *Oesophagostomum dentatum* and *Hystrongylus rubidus* in outdoor-reared pigs by daily feeding with the microfungus *Duddingtonia flagrans*. *Parasitol Res* 82: 580-584.
- Ranilla MJ, Carro MD. 2003. Diet and prosedures used to detach particle-associated microbes from ruminal digesta influence chemical composition of microbes and estimation of microbial growth in Rusitec fermenters. *J. Anim. Sci* :81: 537-544.
- Suriawiria U. 1990. Pengantar Mikroba umum. Bandung, Penerbit Angkasa Bandung.
- Thamsborg SM.2003.[Http://europa.eu.int/comm/research/quality-of-fe/ka5/en/01843.html](http://europa.eu.int/comm/research/quality-of-fe/ka5/en/01843.html). (10 Januari 2003).
- Waller PJ, Larsen M. 1996. Workshop Summary: Biological control of nematode parasites of livestock. *Vet Parasitol* 64 :135-137.
- Yeates G. 2000. Progress in application of nematophagous fungi per-os. Australasian Association of Nematologist. [http:// www.waite.adelaide.edu.au// AAN// Jan 00/duddingtonia.htm](http://www.waite.adelaide.edu.au//AAN//Jan00duddingtonia.htm). (16 -10- 2000).