مجله دنیای میکروب‌ها
سال ششم شماره چهارم (پیاپی ۱۷) زمستان ۱۳۹۲
صفحات ۳۵۰-۳۳۷

Review Article

تنوع ژنتیکی و اکولوژیکی قارچ‌های بی‌هوازی شکمبه حیوانات نشخوارکننده: گذشته، حال و آینده

علی خدایی[۱]، مهدی ارزنلو[۲]، اسداله بابای اهری[۳]، محمد حسین افسریان[۴]، حمید بدلی[۵*]

[۱] دانشجوی دکتری، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، گروه گیاه‌پزشکی، [۲] دانشیار، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، گروه گیاه‌پزشکی، [۳] استاد، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، گروه گیاه‌پزشکی، [۴] مربی، دانشگاه علوم پزشکی فسا، گروه میکروب شناسی پزشکی، [۵] استادیار، مرکز تحقیقات قارچی مهاجم، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، گروه انگل‌شناسی و قارچ‌شناسی پزشکی

چکیده

سابقه و هدف: قارچ‌های شکمبه برای اولین بار در سال ۱۹۱۰ توجه قارچ‌شناسان را به خود جلب کردند. بعدها به دلیل محتوای کیتین در دیواره سلولی، این قارچ‌ها در گروه قارچ های حقیقی طبقه بندی شدند و با عنوان *نئوکالیماستیکس فرونتالیس* نام‌گذاری گردیدند. امروزه بر اساس ویژگی های ریخت شناختی مانند تعداد تاژک در زئوسپور، ریزومیسلیوم، شکل اسپورانژ، فراساختار زئوسپور و داده‌های توالی‌های نوکلئوتیدی شش جنس از این قارچ‌ها شناسایی شده اند که در دو گروه مونوسنتریک و پلی‌سنتریک قرار می‌گیرند.

مواد و روش ها: در مطالعه حاضر از بانک‌های اطلاعاتی شامل Pubmed، Scopus، Google Scholar، Elsevier databases، Irandoc، Iranmedex، Magiran، SID و MEDLIB واژه های کلیدی MeSH به کار رفته در جستجوی مقالات شامل فیلوژنی، تک نیایی، نئوکالیمستیگومیکوتا و قارچ های شکمبه محدود شده در مقالات منتشر شده در سال‌های ۱۹۹۲ تا ۲۰۱۳ استخراج و مطالعه مروری بر روی آن‌ها انجام گرفت.

یافته ها: ویژگی های گوناگونی از این قارچ‌ها مانند چرخه زندگی، ساختارهای تولیدمثلی، تال رویشی و داده‌های مولکولی، ارتباط آن‌ها را با کیتریدیومایکوتا نشان داده‌اند. مطالعه روابط فیلوژنی بین این قارچ‌ها و وابستگان آن‌ها با سایر یوکاریوت‌ها با استفاده از داده‌های توالی ناحیه *18S rDNA* و آنالیز خوشه‌ای داده‌های ساختاری و نیز درصد G+C نشان داده است که این قارچ‌ها یک گروه تک‌نیایی را تشکیل می‌دهند.

نتیجه گیری: ارزیابی عوامل بازدارنده و نقش آن ها در برهم کنش های بین قارچ ها و باکتری ها می تواند موجب درک بهتر از اکوسیستم شکمبه گردد. شناخت این عوامل می تواند زمینه ساز کاوش روش های نوین شناسایی اکولوژیکی شکمبه باشد. همچنین شناسایی عوامل باکتریایی بازدارنده فعالیت شکمبه می تواند زمینه ساز نقش فعال تر قارچ ها در هضم فیبر گیاهی در این اکوسیستم باشد.

واژگان کلیدی: فیلوژنی، تک نیایی، نئوکالیمستیگومایکوتا، قارچ های شکمبه.

دریافت مقاله: مرداد ماه ۹۲ پذیرش برای چاپ: مهرماه ۹۲

*) آدرس برای مکاتبه: مازندران، مرکز تحقیقات قارچی مهاجم، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، گروه انگل شناسی و قارچ شناسی پزشکی.
تلفن: ۰۹۱۲۸۴۱۳۷۲۰ پست الکترونیک: badalii@yahoo.com

مقدمه

واژه رومینانت (Ruminant) از کلمه لاتین رومینار (Ruminare) به معنی دوباره جویدن گرفته شده است. اولین تفاوت حیوانات نشخوارکننده و غیرنشخوارکننده (مونوگاستریک‌ها (Monogastrics) مانند انسان) در این است که نشخوارکنندگان دارای معده چهار قسمتی (شکمبه، نگاری، هزارلا و شیردان) می باشند. در دو قسمت اول غذا با بزاق مخلوط شده و به فازهای جامد و مایع جدا می گردد. سپس فاز جامد به هم پیوسته و دوباره برگشت داده می‌شود تا به آرامی جویده و به ذرات کوچک تبدیل گردد. فیبر به ویژه سلولز و همی‌سلولز ابتدا در قسمت‌های مختلف معده توسط میکروارگانیسم ها (باکتری ها، پروتوزوآها و قارچ ها) به سه اسید چرب فرار (استیک اسید، پروپانوئیک اسید و بتا هیدروکسی بوتیریک اسید) شکسته شده و اجزای پروتئینی و غیرساختاری (قندها و نشاسته) آن‌ها نیز تخمیر می‌شوند.

میکروبیولوژی شکمبه به دلیل حضور تعداد زیادی از میکروارگانیسم ها و تعامل بین آنها و نیز تغییرات وابسته به جیره غذایی جمعیت میکروارگانیسم ها در شکمبه حیوان میزبان، کاملاً پیچیده است. سال ها قبل تصور می شد که باکتری ها و پروتوزوآهای مژک دار دو گروه اصلی میکروارگانیسم های شکمبه می باشند. باکتری های شکمبه به‌طور گسترده‌ای مورد مطالعه قرار گرفته‌اند. مطالعات نشان داده است که باکتری ها اولین تجزیه کنندگان مواد فیبری هستند. پروتوزوآهای شکمبه برای هضم مواد فیبری ضروری نیستند. به طوری که در غیاب آن‌ها تعداد باکتری‌های شکمبه افزایش یافته و تجزیه مواد سلولزی و فیبری حفظ می گردد (۱). تحقیقات نشان داده است که قارچ‌های بی‌هوازی قطعات گیاهی را در شکمبه گاو و گوسفند تغذیه کننده از جیره غذایی فیبردار، استفاده می کنند. از طرفی این قارچ ها دارای فعالیت سلولیتیکی نیز می باشند (۲). زمانی که حیوان میزبان از جیره غذایی دارای قسمت های ساقه دار و فیبری استفاده می کند، تراکم جمعیتی قارچ های بی هوازی به حداکثر مقدار خود می رسد. اما زمانی که حیوان جیره‌غذایی دارای مواد برگی و نرم را دریافت نماید، جمعیت این قارچ‌ها به حداقل میزان خود می رسد (۳).

اگرچه مشخص شده است که قارچ های بی هوازی ساکنین معمول قسمت جلویی و عقبی معده علف‌خواران هستند، اما اهمیت آن ها برای تخمیر در شرایط زنده مبهم می باشد. با وجود توانایی قارچ‌های شکمبه در تجزیه ترکیبات ساختاری دیواره سلول گیاهی در شرایط آزمایشگاهی، اما قسمت اصلی تجزیه شکمبه به چندین گونه باکتریایی نسبت داده شده است (۴). هضم گسترده مواد گیاهی به وسیله قارچ ها در شرایط آزمایشگاهی، اساساً ناشی از آرایه بزرگی از آنزیم‌هایی است که می‌توانند اجزای اصلی ساختاری دیواره سلول گیاهی را تجزیه نمایند (۲ و ۵). ارزیابی آنزیمی اغلب ایزوله های جداسازی شده از شکمبه گاوهای تغذیه کننده از جیره غذایی دارای فیبر بالا، پس از ۹۶ ساعت دارای بالاترین فعالیت کربوکسی متیل سلولازی (Carboxy methyl cellulase) و زایلانازی (Xylanase) و بعد از ۱۲۰ ساعت بیشترین فعالیت اویسلازی (Avicelase) را دارد (۶).

اکثر حیوانات اهلی از محصولات فیبری با کیفیت پایین و بقایای کشاورزی- صنعتی تغذیه می نمایند. تلاش هایی برای بهبود هضم مواد غذایی لیگنوسلولزی با کیفیت پایین با استفاده از مواد افزودنی شیمیایی یا میکروبی صورت گرفته است. دست کاری تخمیر شکمبه با افزایش تعداد یا فعالیت میکروارگانیسم های لیگنوسلولزی در شکمبه یکی از این اقدامات بوده است (۷).

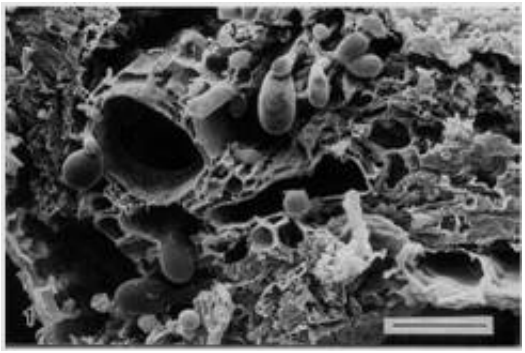
مطالعه بر روی ویژگی های ایزوزایمی (۸) و درصد G+C (۹) این قارچ‌ها نشان می‌دهد که آن‌ها گروه تک‌نیایی هستند. فقدان میتوکندری و قطرات چربی و حضور هیدروژنوزوم ها بدون تردید در سازگاری با شرایط بی‌هوازی نقش دارد و لایه سطحی منحصر به فرد زئوسپورها احتمالاً در تطابق با محیط شیمیایی شکمبه می‌باشد (۱۰).

تاریخچه و اهمیت قارچ های بی هوازی شکمبه

قارچ های شکمبه برای اولین بار در انگلستان در شکمبه

گوسفند پیدا شدند. امروزه این قارچ ها از تمام قاره ها و نواحی جغرافیایی گزارش شده‌اند. ایزوله هایی از قارچ های بی هوازی شکمبه از حیواناتی در نواحی معتدل و گرمسیری استرالیا، کانادا، فرانسه، اندونزی، ژاپن، مالزی، هلند، نیوزیلند، نروژ، روسیه و ایالات متحده امریکا و نیز از نواحی گرمسیری و نیمه گرمسیری شیلی، غنا، اتیوپی، تانزانیا و تونس جداسازی شده‌اند (۱۱). پراکنش این قارچ های شدیدا بی هوازی ظاهراً محدود به شکمبه علف‌خواران می‌باشد. زیرا نمونه‌برداری‌های گسترده ای از محیط های آبی و خاکی برای جداسازی قارچ‌های بی‌هوازی در شکمبه انجام شده اما موفقیتی به دنبال نداشته است. پراکنش قارچ‌های بی‌هوازی در دستگاه گوارش گاو توسط دیویس (Davies) و همکاران مطالعه شده است (۱۲). محققین یاد شده این قارچ ها را در سرتاسر دستگاه گوارشی پیدا کردند و بالاترین تعداد قارچ ها در محتوای هضمی شیردان- سیرابی و هزارلا گزارش شد. به طوری که حدود ۸۹٪ از کل قارچ های موجود در دستگاه گوارشی در شیردان – سیرابی مشاهده گردید. جمعیت‌های قارچی به‌طور قابل ملاحظه ای در شیردان، روده کوچک و قسمت خلفی دستگاه گوارش پایین‌تر بوده است. قارچ‌های بی‌هوازی علاوه بر قسمت گوارشی و فضولات، از بزاق گوسفند نیز جداسازی شده‌اند (۱۳). اگرچه این قارچ‌ها از تمام قسمت‌های دستگاه گوارش گاو جداسازی شده‌اند اما شواهد کمی وجود دارد که نشان می دهد رشد آن‌ها در جای دیگری به‌غیر از شکمبه صورت می‌گیرد و قارچ‌های یافت شده در سایر قسمت‌های دستگاه گوارش احتمالاً منشا شکمبه‌ای دارند (۱۲).

نقش مهم و احتمالی قارچ‌های شکمبه در هضم مواد فیبری زمانی تشخیص داده شد که استقرار گسترده مواد گیاهی فیبردار توسط این قارچ‌ها در شکمبه گاو و گوسفند مشاهده گردید (۱۴). این قارچ ها ترجیحاً در بافت های آوندی و اسکلرانشیمی با دیواره ضخیم مستقر می شوند (شکل ۱) (۱۵). از طرفی نشان داده شده است که آن‌ها قادر به شرکت در هضم کلی علوفه‌های مختلف و کاه و کلش گندم هستند (۱۶). با وجود شیوع عمومی و فراوانی آن ها به ویژه در حیوانات تغذیه‌کننده از جیره فیبردار حیرت‌آور است که این قارچ‌ها تا مدت زیادی ناشناخته باقی مانده بودند. در حالی‌که سایر میکروارگانیسم‌های شکمبه حدود ۱۰۰ سال قبل کشف و مطالعه شده بودند. یکی از دلایل این مساله احتمالاً ناشی از این است که در اغلب مطالعات مربوط به میکروارگانیسم های شکمبه به جای محتوای جامد شکمبه از محتوای مایع فیلترشده آن استفاده و محتوای جامد دور انداخته می‌شود. در حالی‌که تال های قارچی به این قسمت (محتوای جامد) از محتوای شکمبه متصل می گردند. بنابراین اغلب زئوسپورهای قارچی شناور در مایع شکمبه تنها ساختارهای مورد مشاهده میکروب شناسان بوده است و از این رو فکر می کردند که این ها پروتوزوآهای تاژک‌دار هستند (۱۷).



شکل ۱: قارچ کلونیزه‌کننده بافت‌های آوندی و اسکلرانشیمی با دیواره ضخیم قطعات کاه برنج مستقر شده در شکمبه بز (مقیاس ۲۵ میکرومتر) (۱۵)

رده بندی

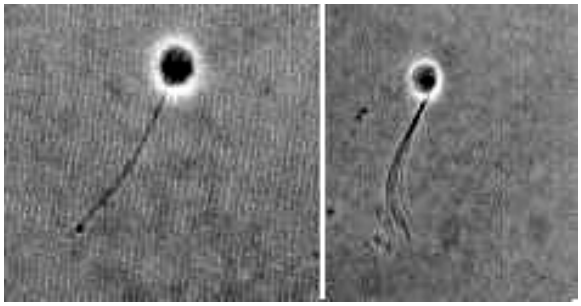
پیشینه

اورپین (Orpin) در سال ۱۹۷۵ به دلیل وجود مواد کیتینی در دیواره سلولی این قارچ ها، تایید نمود که قارچ های شکمبه متعلق به گروه قارچ های حقیقی هستند و آن ها را با عنوان *نئوکالیماستیکس فرونتالیس* (*Neocallimastix frontalis*) نام‌گذاری کرد. گلد (Gold) و همکاران (۱۸) پیشنهاد کردند که خانواده نئوکالیماستیگاسه (Neocallimastigaceae) به سه جنس دارای گونه های تک مرکزی *نئوکالیماستیکس* (*Neocallimastix*)، *پیرومایسس* (*Piromyces*) و *کاکومایسس*

(*Caecomyces*) تقسیم شود. امروزه شش جنس از آن ها شناسایی شده‌اند که علاوه بر سه جنس قبلی شامل سه جنس دیگر دارای تال چندمرکزی متشکل از *اورپینومایسس* (*Orpinomyces*)، اناروماییسس (*Anaeromyces*) و *کیلامایسس* (*Cyllamyces*) می‌باشند (۱۹). قارچ‌های چند مرکزی به دلیل این که به طور موثری می توانند به قطعات فیبری نفوذ نمایند، دارای اهمیت بیش‌تری هستند (۲۰).

گونه‌های تک مرکزی تولید اسپرانژیوم می‌کنند و زئوسپورها را با یک روال منظم و طبیعی آزاد می کنند. از آنجایی که فراساختار زئوسپور بالغ یک ویژگی کلیدی مورد استفاده در رده‌بندی کیتریدیومیست‌هاست، مطالعه زندگی یا رده‌بندی این قارچ ها بدون این که زئوسپور آن ها به آسانی و فراوانی در دسترس باشد، امکان‌پذیر نیست. در بین این قارچ‌ها، اعضای جنس *کاکومایسس* می توانند با توجه به ویژگی های ریخت شناسی منحصر به فردشان (حضور ریزوئیدهای پیازی‌شکل) از سایر جنس های قارچ های شکمبه به‌راحتی تشخیص داده شوند (۱۸).

شناسایی این قارچ ها بر اساس تعداد تاژک در زئوسپور (شکل ۲)، ریزومیسلیوم و شکل اسپرانژ صورت می پذیرد (۱۵). هو (Ho) و همکاران (۲۱) این گروه را بر پایه فراساختار زئوسپور و بروکمن (Brookman) و همکاران (۲۲) این قارچ ها را بر اساس تکثیر در PCR و توالی یابی نواحی *ITS1* و *ITS2* شناسایی نمودند.



شکل ۲: زئوسپور چندتاژکی *نئوکالیماستیکس فرونتالیس* (راست) و زئوسپور یک تاژکی *پیرومایسس مینتس* (*Piromyces minutes*) (چپ) (۱۵)

تاکسونومی و فیلوژنی

حضور کیتین در دیواره سلولی این قارچ ها، مورفولوژی و چرخه زندگی آن‌ها تعلق این قارچ‌ها به قارچ های حقیقی را تایید نموده است (۲۳). نام عمومی *اسپاهرومونا*س (*Spaheromonas*) و *پیرومایسس* توسط لیه بتانز (Liebetanz) در سال ۱۹۱۰ برای گروهی از ارگانیسم‌های تک‌تاژکی شکمبه که احتمال داده می شد که پروتوزوآهای تاژک دار هستند، انتخاب گردید (۱۷).

چند سال بعد بران (Braune) (۲۴) ارگانیسم های چند تاژکی شکمبه را *نئوکالیماستیکس فرونتالیس* نامید. متعاقباً واورآ (Varva) و ژویون (Joyon) (۲۵) فراساختار *کاکومایسس سیکلوپسیس* (*Caecomyces cyclopsis*) را مطالعه و پیشنهاد نمودند که این میکروارگانیسم ها احتمالاً از شاخه کیتریدیومایکوتا می باشند. آن ها یک جنس جدید از آغازیان به‌نام *نئوکالیماستیکس* را ایجاد کرده و *کاکومایسس فرونتالیس* (*Caecomyces frontalis*) را به عنوان گونه تیپ آن معرفی نمودند. اورپین (Orpin) نشان داد که میکروارگانیسم زئوسپوردار شکمبه، *نئوکالیماستیکس فرونتالیس*، به طور فعال مرحله زئوسپوری یک قارچ است (۱۱). با این حال موقعیت تاکسونومیکی آن مشخص نبود تا این که هس (Heath) و همکاران بر اساس ویژگی های فراساختاری موقعیت تاکسونومیک آن را تعیین و در رده کیتریدیومیست ها، راسته اسپیزلومایستالس (Spizellomycetales) و خانواده جدید نئوکالیماستیکاسه (Neocallimasticaceae) طبقه بندی کردند (۱۰). این خانواده بعداً به نئوکالیماستیگاسه (Neocallimastigaceae) تغییر نام داده شد (۲۶). مطالعه ویژگی های دیگری مانند چرخه زندگی، ساختارهای تولیدمثلی و تال رویشی این قارچ‌های بی‌هوازی، نشان داده‌اند که قرابت آنها به کیتریدیومیست ها بیش تر از سایر گروه های قارچی می‌باشد.

مطالعات فیلوژنتیک، براساس تجزیه و تحلیل توالی نوکلئوتیدی زیرواحد کوچک DNA ی ریبوزومی (SSU-rDNA) نیز ارتباط آن ها را با کیتریدیومیکوتا نشان داده اند (۲۷). با این وجود

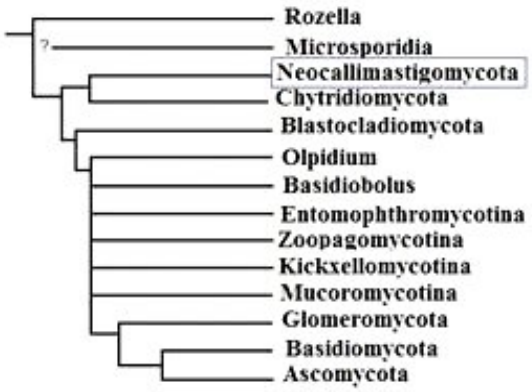
مطالعات هس (Heath) و باکوپ (Bauchop) (۲۸) و مون (Munn) و همکاران (۲۹) تفاوت‌های مشخص در برخی از ویژگی های فراساختاری و میتوزی قارچ‌های بی‌هوازی را در مقایسه با سایر اسپیزلومایستال ها نشان داده و به همین دلیل ایجاد یک راسته جدید برای قارچ های بی هوازی را پیشنهاد کردند. پس از آن لی (Li) و همکاران با استفاده از آنالیز خوشه‌ای داده‌های ساختاری دریافتند که قارچ‌های بی هوازی روده جدا از اسپیزلومیستال ها و کیتریدیال ها بوده و راسته جدیدی به نام نئوکالیماستیگالس (Neocallimastigales) را برای آن‌ها ایجاد کردند (۳۰).

در حال حاضر این راسته به شاخه ای به همین نام نئوکالیماستیگومایکوتا (Neocallimastigomycota) ارتقا یافته است. موقعیت آن‌ها در بین قارچ‌های حقیقی در شکل ۳ نشان داده شده است (۳۱). در برخی از مطالعات انجام شده ارتباطات فیلوژنی در بین قارچ های بی هوازی روده و وابستگان آن ها با سایر یوکاریوت ها با استفاده از توالی *18S rDNA* و آنالیز خوشه‌ای داده‌های ساختاری تعیین شده اند (۳۳-۳۰). نتایج این مطالعات نشان داده است که این قارچ ها مونوفیلتیک بوده و در کنار کیتریدها قرار می گیرند. مطالعه بر روی ویژگی های ایزوزایمی (۸) و درصد G+C (۹) این قارچ‌ها نیز نشان می‌دهد که آن‌ها گروه تک‌نیایی هستند. فقدان میتوکندری و قطرات چربی و حضور هیدروژنوزوم‌ها بدون‌شک در راستای سازگاری با شرایط بی‌هوازی بوده و لایه سطحی منحصر به‌فرد زئوسپورها احتمالاً در تطابق با محیط شیمیایی شکمبه می‌باشد (۱۰).

تنوع زیستی

شاخص های مورد توجه در بررسی تنوع ژنتیکی قارچ های شکمبه توالی های ژن های کد کننده DNA ی ریبوزومی به ویژه *ITS1*، *ITS2* و *5.8S rDNA* می‌باشند. این ژن‌ها می‌توانند در شناسایی میکروارگانیسم ها و نیز تعیین روابط فیلوژنتیکی آن‌ها از جمله قارچ‌های شکمبه (۲۲) مورد استفاده قرار گیرند (۳۴). تلاش های اولیه با استفاده از روش های مولکولی برای شناسایی این قارچ‌ها توسط دور (Dore) و استال (Stahl) (۲۷) و بوومن (Bowman) و همکاران (۳۵) انجام گرفت. روش کار این محققان متکی به استفاده از *18S rDNA* بوده است. با این وجود آن‌ها موفق به شناسایی گونه‌ها نبودند. دلیل این امر را شاید بتوان به حفاظت‌شدگی بسیار بالای این توالی نسبت داد. در سطح عمومی روابط فیلوژنتیکی بین *نئوکالیماستیکس*، *پیرومایسس*، *کاکومایسس* و *اورپینومایسس* هنوز مبهم است.

هو (Ho) و همکاران با استفاده از ویژگی های ایزوزایمی قارچ های بی هوازی دریافتند که *پیرومایسس* به *کاکومایسس* نزدیک‌تر از *نئوکالیماستیکس* است (۸). در مقابل دور (Dore) و استال (Stahl) (۲۷) با استفاده از توالی *18S rDNA* دریافتند که *پیرومایسس* به *نئوکالیماستیکس* نزدیک‌تر از *کاکومایسس* است (۱۸). لی (Li) و همکاران با استفاده از آنالیز خوشه‌ای داده‌های ساختاری دریافتند که *پیرومایسس دوبونیکا* (*P. dubonica*) و *کاکومایسس اکویی* (*C. equi*) خیلی به‌هم نزدیک بوده و یک خوشه را تشکیل می دهند، اما *کاکومایسس کامونیس* (*C. communis*) جدا بوده و به *نئوکالیماستیکس* نزدیک تر است (۳۰). هو (Ho) و همکاران (۸) نشان دادند که *اورپینومایسس* به *پیرومایسس* و *کاکومایسس* نزدیک تر از *نئوکالیماستیکس* است. هم‌چنین لی (Li) و همکاران (۳۰) با استفاده از توالی *18S rDNA* نشان دادند که *اورپینومایسس* و *پیرومایسس* خیلی به‌هم نزدیک هستند و به *نئوکالیماستیکس* نزدیک‌تر از *کاکومایسس* هستند.



شکل ۳: آخرین موقعیت فیلوژنتیک قارچ‌های بی‌هوازی شکمبه در بین قارچ‌های حقیقی (۳۱)

آنالیز خوشه ای توالی های *18S rDNA* و آنالیز خوشه ای داده های ساختاری نشان دادند که ارتباط بین *اورپینومایسس*، *پیرومایسس* و *نئوکالیماستیکس* مبهم بوده و به الگوریتم ها یا مجموعه‌ای از داده‌های مورد استفاده یا انتخاب گروه خارجی (out-group) وابسته است. *اورپینومایسس* می تواند به *پیرومایسس* نزدیک بوده و از *نئوکالیماستیکس* دور شود و یا نزدیک به *نئوکالیماستیکس* بوده و از *پیرومایسس* دور شود (۳۰، ۳۲ و ۳۳).

چرخه زندگی و اکولوژی

تمامی قارچ های بی هوازی روده چرخه زندگی مشابه دارند. این قارچ ها اساساً در چرخه زندگی خود دارای یک مرحله زئوسپوری متحرک و یک مرحله غیرمتحرک می‌باشند. مراحل رویشی و تولیدمثلی به مواد هضمی متصل می گردند. چرخه زندگی قارچ های بی هوازی تک‌مرکزی حدود ۳۲-۲۴ ساعت طول می‌کشد (۷ و ۳۶).

قارچ های بی هوازی چند مرکزی علاوه بر تولید زئوسپور، قابلیت تکثیر رویشی را با تقسیم میسلیومی نشان داده اند. چرخه زندگی *نئوکالیماستیکس فرونتالیس* دارای یک مرحله زئوسپوری متحرک، یک مرحله زئوسپورانژیومی- رویشی (۳۶ و ۳۷) و یک ساختار استراحتی به‌عنوان مرحله اسپرانژیومی مقاوم می باشد (۳۸). قارچ های چند مرکزی چرخه زندگی نامشخصی دارند و متکی به تشکیل زئوسپور برای بقای خود نیستند (۳۹). زئوسپور در شکل های چند مرکزی کم یاب هستند و حتی در مواردی زئوسپورزایی وجود ندارد.

زئوسپورها به چندین طریق از اسپرانژیوم آزاد می شوند. این امر می‌تواند از طریق یک سوراخ راسی در اسپرانژیوم به عنوان نمونه در *نئوکالیماستیکس هارلینسیس* (*N. hurleyensis*) (۴۰)، از طریق حل شدن پروتئین موجود در دیواره اسپرانژیوم *پیرومایسس مینتس* (۴۱)، از طریق شکستن و حل‌شدن قسمت راسی اسپرانژیوم که به‌دنبال آن متلاشی شدن و حل گردیدن دیواره اسپرانژیوم اتفاق می افتد. *نئوکالیماستیکس فرونتالیس* (۳۱)، از طریق تحلیل سریع دیواره اسپرانژیوم *پیرومایسس اسپیرالیس* (۴۱) یا از طریق تحلیل پاپیل *پیرومایسس مایی* (*P. mae*) باشد (۴۲).

بقاء و انتقال قارچ های شکمبه بین جانوران و به خارج از پیکره حیوان میزبان

فونتی (Fonty) و همکاران (۴۳) چگونگی انتقال قارچ *نئوکالیماستیکس* را به درون شکمبه بره مورد مطالعه قرار دادند. این قارچ‌ها در شکمبه بره ۱۵ روزه، جدا شده از زمان تولد از سایر گوسفندان، یافت شده اند. این بررسی پیشنهاد می نماید که تماس بین بره‌های نوزاد و مادر و یا سایر گوسفندان برای ورود این قارچ‌ها ضروری نمی‌باشد. با این‌حال وقتی بره‌های جداسازی‌شده در شرایط ضدعفونی‌شده نگه‌داری شدند، پس از گذشت مدتی هیچ قارچ شکمبه ای در شکمبه آن‌ها مشاهده نگردید.

در بررسی دیگر جداسازی قارچ‌های زئوسپوردار بی‌هوازی از بزاق و فضولات پیشنهاد چنین تصوری را ایجاد می کند که فضولات و بزاق مسیرهای احتمالی برای انتقال می‌باشند (۳۵). فونتی (Fonty) و همکاران (۴۴) روشن ساخته‌اند که قارچ‌های شکمبه در گوسفند در مدت زمان ده ساعت پس از تولد، از مادر به بچه انتقال می‌یابند و به سرعت به جمعیت‌های پایدار و بزرگی توسعه می‌یابد. اورپین (Orpin) اثبات نمود که قارچ‌های شکمبه می توانند از حیوانی به حیوان دیگر از طریق هوا، فضولات خشک‌شده و احتمالاً از طریق تیمارکردن (لیس زدن حیوانی توسط حیوان دیگر) انتقال یابند (۴۵).

حساسیت های آنتی بیوتیکی

یونوفورها (Ionophores) و سایر آنتی‌بیوتیک‌ها به‌طور متناوب به‌عنوان محرک رشد گاوها و یا برای تیمار بهداشتی آن‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرند. قارچ‌های بی‌هوازی شکمبه هم در شرایط درون تن و هم در شرایط برون تن در برابر یونوفورهای مورد استفاده به منظور خارج سازی این قارچ ها از شکمبه بسیار حساس هستند. سیکلوهگزامید ترکیبی سمی برای بسیاری از قارچ ها محسوب می شود. اما قارچ کش های نیستاتین و

آمفوتریسین B (ممانعت کنندگان از سنتز استرول) علیه قارچ های شکمبه فاقد استرول، تاثیرگذار نیستند. در محیط های کشت آزمایشگاهی قارچ های شکمبه ظاهراً نسبت به آووپاریسین، باسی تراسین، تیلوسین و ویرجینیومایسین و آنتی بیوتیک های باکتریایی مانند پنی سیلین، استرپتومایسین و ریفامپیسین (مورد استفاده در کشت های حاوی باکتری های آزادزی) مقاومت نشان داده اند (۱۱).

اثرات جیره غذایی بر روی جمعیت‌های قارچی

اگرچه برآورد تراکم‌های جمعیتی قارچ‌های شکمبه در شرایط آزمایشگاهی مشکل است، اما آشکار است که برخی از جیره های غذایی نسبت به سایر مواد غذایی برای توسعه جمعیت‌های قارچ‌های شکمبه مناسب‌تر هستند (۴۶). عموماً محتوای بالای فیبری جیره‌غذایی موجب تراکم بالاتر جمعیت قارچی می گردد. جیره‌های غذایی غنی از کربوهیدرات مانند آب‌پنیر، ملاس یا چغندر علوفه‌ای باعث کاهش تراکم جمعیتی می‌شود، حتی اگر ترکیبات با فیبر بالا مانند علوفه‌سبز خورانده شود (۴۶). اطلاع از تاثیر جیره غذایی بر روی قارچ های بی‌هوازی برای فهم تغییرات رخ داده در فرآیندهای میکروبی در درون شکمبه ضروری است. زیرا این امر ممکن است سایر فرآیندهای شکمبه نظیر تولید متان را تحت تاثیر قرار دهد (۴۷). هریستو (Hristov) و همکاران با مطالعه تنوع آرکیا، باکتری و قارچ های شکمبه گاوهای شیری در واکنش به هضم لوریک اسید یا میریستیک اسید نشان دادند که لوریک اسید، محتوای پروتوزوآی شکمبه را در مقایسه با استئاریک اسید و میریستیک اسید، ۹۶٪ کاهش می دهد. اما در مقایسه با استئاریک اسید، میریستیک اسید اثری بر روی پروتوزوآی شکمبه نداشت (۴۸).

نقش قارچ‌های شکمبه در تجزیه فیبرهای گیاهی

نقش قارچ های شکمبه در تجزیه فیبرهای گیاهی به طور گسترده‌ای مورد مطالعه قرار گرفته است. این قارچ‌ها بهتر از باکتری‌ها و پروتوزوآها می توانند در بافت های گیاهی نفوذ نمایند (۴۹). چنین نفوذی می تواند موجب تجزیه بهتر و سریع‌تر فیبر درون شکمبه گردد (۵۰). تجزیه دیواره‌های سلولی حاوی لیگنین از ویژگی های مهم قارچ های شکمبه می باشد (۵۱). این قارچ‌ها مقادیر کوچکی از ترکیبات فنلی دیواره سلول گیاهی را نیز حل می‌نمایند (۵۲). زئوسپور بسیاری از گونه‌ها، ترجیحاً بافت‌های حاوی لیگنین را کلونیزه می نمایند. به همین دلیل کلنی های مذکور روی سلول های آوندهای چوبی و اسکلرانشیم تولید می‌شوند. بنابراین می توان مهم ترین مزایای قارچ های بی هوازی را به شرح زیر خلاصه نمود:

الف) بهبود هضم فیبر و به‌کارگیری مواد حاصل از آن به‌عنوان ماده‌غذایی مفید، ب) جذب بیش‌تر و بازده بیشتر تغذیه، ج) افزایش وزن بدن و گوشت تولیدی، د) بهبود تولید شیر.

فعالیت‌های آنزیمی قارچ‌های بی‌هوازی

با وجود این که نقش پروتوزوآها و باکتری های شکمبه در تجزیه فیبر به اثبات رسیده است (۵۱)، قارچ های شکمبه از پتانسیل بالاتری در تجزیه بافت های گیاهی به شدت لیگنینی‌شده از خود نشان می دهند (۵۳). برای تجزیه و استفاده از دیواره سلول گیاهی، قارچ های شکمبه طیف وسیعی از آنزیم های هیدرولیتیکی مانند سلولازها (۵۴)، همی سلولازها (۳۶)، پروتئازها (۵۵)، آمیلازها و آمیلوگلیکوزیدازها (۵۳)، فرولیول (Feruloyl) و پی کوماریل استرازها (P-coumaryl Asterase) (۵۶) و پکتینازها (۵۷) را ترشح می‌نمایند. محققان دانشگاه ایالتی اوکلاهما برای اولین بار ژنوم یک قارچ بی‌هوازی را آنالیز و بیان داشتند که این‌قارچ‌ها دارای پتانسیل زیادی برای تولید سوخت زیستی می‌باشند (۵۸).

آن ها با آنالیز مقایسه ای ژنوم ژن های چندگانه ساختاری، مسیری را شناسایی نمودند که در ژنوم Dikarya موجود نبود. اما در گروه های قارچی اجدادی و یا در Ophisthokonta غیرقارچی وجود داشت. علوفه عموماً فاقد ویتامین و اسیدهای آمینه ضروری می باشد و میکروارگانیسم ها این مواد را یا به طور مستقیم و یا در طی تجزیه آزاد می‌کنند. این عوامل ممکن است به‌وسیله میزبان آن‌ها از طریق دیواره شکمبه جذب گردند.

نقش اختصاصی قارچ ها در این زمینه آشکار نیست. میکروارگانیسم ها علوفه را سم زدایی نیز می کنند. ترکیبات دفاعی گیاهی معمولاً مولکول های آلی کاملاً سمی مانند آلکالوئیدها، دی ترپن ها (سموم با منشا میکروبی) را شامل می شوند. میکروارگانیسم ها مواد سمی را از غذا خارج می‌نمایند. این کار اغلب با مصرف آن‌ها به عنوان منبع انرژی انجام می گیرد. در نتیجه غذای عاری از سموم حاصل از فعالیت آن ها برای میزبان مطبوع تر است. حضور اکسیژن می تواند برای ارگانیسم‌های غیرهوازی مضر باشد. آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز برای از بین بردن ماهیت واکنشی اکسیژن ضروری است و این آنزیم ها در تمام موجودات بی‌هوازی یافت می‌شوند.

میکروارگانیسم‌های غیرهوازی که قدرت تولید این آنزیم‌ها را ندارند، باعث ایجاد محیط نامساعد برای قارچ های شکمبه می گردند. قارچ‌های شکمبه بایستی در شرایط کاملاً بی‌هوازی کشت گردند. این قارچ‌ها فاقد میتوکندری می باشند و به‌جای آن دارای هیدروژنوزوم (Hydrogenosome) (اندامک هایی که تصور بر این است که انرژی را به‌فرم ATP فراهم می‌نمایند)، هستند. هیدروژنوزوم ها معمولاً در نزدیکی قاعده تاژک زئوسپور، یعنی در مکانی که انرژی قابل توجهی مورد استفاده قرار می گیرد، قرار دارند. در مورد فعالیت هیدروژنوزوم ها اطلاعات کمی در دست است. با این حال انرژی آزاد شده از گلوکز در هیدروژنوزوم ها به طور قابل ملاحظه ای کم تر از میتوکندری‌ها می‌باشد.

مطالب یاد شده اهمیت نقش قارچ‌های شکمبه در هضم فیبر را آشکار می سازد، با این حال نتایج آزمون های انجام شده در شرایط آزمایشگاهی دارای ابهام هستند. برای مثال ویندهام (Windham) و آکین (Akin) با به‌کارگیری مایع شکمبه تیمار شده با بیوسایدهای انتخابی دریافتند که در تجزیه فیبر علوفه، باکتری‌ها مؤثرتر از قارچ‌ها می باشند (۴). این مطالعه پیشنهاد می‌کند که تعداد اسپرانژیوم یافت‌شده بر روی قطعات گیاهی نمی تواند نشان دهنده نقش قابل توجه قارچ ها در تجزیه فیبرها باشد. علاوه بر این محققان یادآور شدند افزایش سوبسترای فیبری نمی تواند ازدیاد جمعیت قارچی را به دنبال داشته باشد.

برهم کنش قارچ‌های شکمبه با سایر میکروارگانیسم‌های شکمبه

در بیشتر مطالعات انجام شده در مورد برهم کنش میکروارگانیسم های شکمبه، نقش قارچ‌ها و باکتری‌های متانوژن مورد بررسی قرار گرفته است. باکوپ (Bauchop) و منتفورد (Maountfort) اثبات کردند که قارچ‌های شکمبه به‌دلیل تولید بالای هیدروژن آمادگی تشکیل کشت های متقابل پایا با متانوژن ها را دارند (۵۰). برنالیر (Bernalier) و همکاران نشان دادند که رشد قارچ‌های شکمبه در کشت متقابل آن‌ها با باکتری‌های متانوژن افزایش می‌یابد (۵۹).

اورپین (Orpin) و جابلین (Joblin) دریافتند که در کشت همزمان پروتوزوآها با قارچ‌ها، پروتوزوآها قادر به بلع و هضم قارچ‌ها می باشند (۶۰). فعالیت کیتینازی پروتوزوآهای شکمبه در نمونه‌های مخلوط این میکروارگانیسم‌ها با قارچ‌ها، ناشی از فعالیت شکارگری آن‌ها روی قارچ‌های شکمبه است (۶۳-۶۱).

نتیجه گیری و چشم‌اندازهای آتی

تخمین زده می شود که تعداد گونه‌های قارچی نزدیک به ۵/۱ میلیون گونه باشد. اما از این میان تنها حدود ۱۰٪ شناسایی شده‌اند. شکمبه را به عنوان یکی از آشیان‌های کم‌تر بررسی شده در نظر می‌گیرند که یکی از دلایل آن می‌تواند مشکل‌بودن کشت و نگه‌داری قارچ های شکمبه باشد. مطالعه گسترده بر روی دامنه وسیعی از نشخوارکنندگان و به‌کارگیری روش‌های مدرن در زیست‌شناسی مولکولی می‌تواند چشم‌انداز وسیعی را در مورد اجتماعات میکروبی و روابط گونه‌ای به وجود آورد.

کشف قارچ‌هایی که قادر به رقابت موفق در شرایط بی‌هوازی شکمبه باشند، افق جدیدی را نه تنها در اکوسیستم میکروبی شکمبه بلکه در خود میکروبیولوژی می تواند به وجود آورد. با این وجود در مورد فیزیولوژی اعضای این گروه جدید از موجودات بی هوازی شناخت کم تری وجود دارد و مطالعات بعدی برای افزایش دانش ما در مورد ویژگی ها و پتانسیل آن‌ها

لازم است. مطالعات بر روی قارچ‌های تکثیر شده در شرایط کنترل شده بایستی درک ما را در مورد برهم کنش قارچ ها با مواد لیگنوسلولزی و سایر میکروارگانیسم‌های موثر در عملکرد شکمبه افزایش دهند. تلاش‌های فزاینده‌ای برای تعیین ویژگی های عوامل ممانعت کننده و نقش آن ها در برهم کنش های قارچی– باکتریایی لازم است. زیرا این امر موجب فهم بهتر اکوسیستم شکمبه خواهد شد.

این فاکتورها ممکن است عوامل طبیعی جدیدی در تنظیم فعالیت میکروبی شکمبه باشد و می تواند منجر به ایجاد روش هایی برای دست کاری فعالیت های شکمبه گردد. فهم شیوه فعالیت عوامل باکتریایی بازدارنده فعالیت قارچ ها در شکمبه و برعکس می تواند به منظور ارزیابی نقش دقیق تر قارچ ها در هضم فیبرهای گیاهی به کار رود.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله از تمام پژوهشگرانی که در سرتاسر جهان و کشور عزیزمان نتایج مطالعاتشان در گردآوری این مقاله نقش داشته است کمال امتنان را دارند.

References

1. Eadie JM, Gill JC. The effect of the absence of rumen ciliate protozoa on growing lambs fed on a roughage concentrate diet. Br Nutrient. 1997; 126: 95-107.
2. Bauchop T. The anaerobic fungi in rumen fiber digestion. Agric Environ. 1981; 6: 339-348.
3. Bauchop T. The rumen anaerobic fungi: colonizers of plant fibre. Ann Rech Vit. 1979; 10: 246-248.
4. Windham WR, Akin DE. Rumen fungi and forage fiber degradation. Appl Environ Microbiol. 1984; 48: 473-476.
5. Pearce PD, Bauchop T. Glycosidases of the rumen anaerobic fungi *Neocallimastix frontalis* grown on cellulosic substrates. Appl Environ Microbiol. 1985; 49: 1265-1269.
6. Sirohi Sk, Choudhury PK, Dagar, SS, Puniya AK, Singh D. Isolation, characterization and fibre degradation potential of anaerobic rumen fungi from cattle. Ann Microbiol. 2013; 63: 1187-1194.
7. Gordon GLR, McSweeney CS, Phillips MW. An important role for ruminal anaerobic fungi in the voluntary intake of poor quality forages by ruminants. In: Wallace RJ, Lahlou-Kassi A, editors. Rumen ecology research planning. Proc. Workshop, Addis Abab, Ethiopia. 1995; pp: 91-102.
8. Ho YW, Khoo IYS, Tan S, Abdullah N, Jalaludin S, Kudo H. Isozyme analysis of anaerobic rumen fungi and their relationship to aerobic chytrids. Microbiol. 1994; 140: 1495-1504.
9. Brownlee AG. Remarkably AT-rich genomic DNA from the anaerobic fungus *Neocallimastix*. Nucleic Acids Res. 1989; 17: 1327-1335.
10. Heath IB, Bauchop T, Skipp RA. Assignment of the rumen anaerobe *Neocallimastix frontalis* to the Spizellomycetales (Chytridiomycetes) on the basis of its polflagellate zoospore ultrastructure. Can J Bot. 1983; 61: 295-307.
11. Orpin CG. Studies on the rumen flagellate *Neocallimastix frontalis*. J Gen Microbiol. 1975; 91: 249-262.

12. Davies DR, Theodorou MK, Lawrence MI, Trinci APJ. Distribution of anaerobic fungi in the digestive tract of cattle and their survival in faeces. J Gen Microbiol. 1993; 139: 1395-1400.

13. Lowe SE, Griffiths GW, Milne A, Theodorou MK, Trinci APJ. Life cycle and growth kinetics of an anaerobic rumen fungus. J Gen Microbiol. 1987; 133:1815-1827.

14. Bauchop T. Rumen anaerobic fungi of cattle material and sheep. Appl Environ Microbiol. 1979; 38: 148-158.

15. Ho YW, Abdullah N, Jalaludin S. The diversity and taxonomy of anaerobic gut fungi. Fungal Divers. 2000; 4: 37-51.

16. Akin D, Gordon GLR, Hogan JP. Rumen bacterial and fungal degradation of *Digitaria pentzii* grown with and without sulphur. Appl Environ Microbial. 1983; 46: 738-748.

17. Liebetanz E. Die parasitischen Protozoen des Widenkauermagens. Archiv fur Protistenkunde. 1910; 19: 19-80.

18. Gold JJ, Heath IB, Bauchop T. Ultra structural description of a new Chytrid genus of caecum anaerobe, *Caecomyces equi* gen. nov., sp. nov., assigned to the Neocallimasticaceae. Bidjstems. 1988; 21: 403-415.

19. Ozkose E, Thomas BJ, Davies DR, Griffith GW, Theodorou MK. *Cyllamyces aberensis* gen. nov., sp. Nov., a new anaerobic gut fungus with branched sporangiophores isolated from cattle. Can J Bot. 2001; 79: 666-673.

20. Ward DM, Waller R, Bateson MM. 16S ribosomal-RNA sequences reveal numerous uncultured microorganisms in a natural community. Nature. 1990; 345: 63-65.

21. Ho YW, Barr DJS. Classification of anaerobic gut fungi from herbivores with emphasis on rumen fungi from Malaysia. Mycol. 1995; 87: 655-677.

22. Brookman JL, Mennim G, Trinci AP, Theodorou MK, Tuckwell DS. Identification and characterization of anaerobic gut fungi using molecular methodologies based on ribosomal *ITS1* and *18S rRNA*. Microbiol. 2000; 146: 393-403.

23. Orpin CG. The rumen flagellate *Piramonas communis*: its life-history and invasion of plant material in the rumen. J Gen Microbiol. 1977; 99: 107-117.

24. Braune R. Untersuchungen uber die Wiederkauemagen vorkommenden protozoen. Archiv fur Protistenkunde. 1913; 32: 111-70.

25. Vavra J, Joyon L. Etude sur la morphologie, le cycle evolutif et al position systematique de Callimastix cyclops is Weissenberg 1912. Protistol. 1966; 2: 15-16.

26. Index of Fungi. Supplement ، family names. C.A.B. International. Walligforf, U.K. 1989.

27. Dore J, Stahl GA. Phylogeny of anaerobic rumen Chytridiomycetes inferred from small subunit ribosomal RNA sequence comparison. Can J Bot. 1991; 69: 1964-1971.

28. Heath LB, Bauchop T. Mitosis and the phylogeny of the genus *Neocallimastix*. Can J Bot. 1985; 63: 1595-1604.

29. Munn EA, Greemwood CA, Orpin CG. Organization of the kinetosomes and associated

structures of zoospores of the rumen chytridiomycete *Neocallimastix patriciarum*. Can J Bot. 1987; 65: 456-465.

30. Li J, Heath IB, Packer L. The phylogenetic relationship of the anaerobic Chytridiomycetous gut fungi (Neocallimastcaceae) and the Chytridiomycota. II. Cladistic analysis of structural data and description of Neocallimasticales ord. nov. Can J Bot. 1993; 71: 393- 407.

31. Badali H, Guidan C, Najafzadeh MJ, Bonifaz A, van den Ende AH, de Hoog GS. Biodiversity of the genus Cladophialophora. Study Mycol. 2008; 61: 175-191.

32. Li J, Heath IB. The phylogenetic relationships of anaerobic chytridiomycetous gut fungi (Neocallimasticaeae) and the Chytridiomycota. I. Cladistic analysis of RNA sequences. Can J Bot. 1992; 70: 1738-1746.

33. Li J, Heath IB. Chytridiomycetous gut fungi, oft overlooked contributors to herbivore digestion. Can J Microbiol. 1993; 39: 1003-1013.

34. Hausner G, Inglis G, Yanke LJ, Kawchuk LM, McAllister TA. Analysis oh restriction fragment length polymorphism in the ribosomal DNA of a selection of anaerobic chytrids. Can J Bot. 2000; 78: 917-927.

35. Bowman BH, Taylor JW, Brownlee AG, Lee J, Lu S, White TJ. Molecular evolution of the fungi: relationship of the basidiomycetes, ascomycetes, and chytridiomycetes. Mol Biol Evol. 1992; 9: 285-296.

36. Lowe SE, Theodorou MK, Trinci APJ. Isolation of anaerobic fungi from saliva and faeces of sheep. J Gen Microbiol. 1987; 133: 1829-1834.

37. Bauchop T. The gut anaerobic fungi: colonizers of dietary fibre. In: Wallace G, Bell L, editors. Fibre in human and animal nutrition. Royal Society of New Zealand, Wellington. 1983: 143-148.

38. Wubah DA, Fuller MS, Akin DE. Resistant body formation in *Neocallimastix sp.*, an anaerobic fungus from the rumen ofa cow. Mycol. 1991; 83: 40-47.

39. Ho YW, Bauchop T. Morphology of three polycentric rumen fungi and description of a procedure for the induction of zoosporogenesis and release of zoospores in cultures. J Gen Microbiol. 1991; 137: 213-217.

40. Webb J, Theodorou MK. *Neocallimastix hurleyensis* sp. nov., an anaerobic fungus from the ovine rumen. Can J Bot. 1991; 69: 1220-1224.

41. Ho YW, Barr DJS, Abdullah N, Jalaludin S, Kudo H. *Neocallimastix variabilis*, a new species of anaerobic rumen fungus from cattle. Mycotaxon 1993; 46: 241-258.

42. Li J, Heath IB. Chytridiomycetous gut fungi, oft overlooked contributors to herbivore digestion. Can J Microbiol. 1993; 39: 1003-1013.

43. Fonty G, Gout Ph, Stane V. Influence d'une bacterie methanogene sur l'activite cellulolytique et le metabolisme de deux especes de champignons cellulolytique du rumen in vitro. Repord Nutr Dev. 1988; 28: 133-134.

44. Fonty G, Gout Ph, Jouany JP, Senand J. Establishment of microflora and anaerobic fungi in

the rumen of lambs. J Gen Microbial. 1987; 133: 1835-1844.

45. Orpin CG. 1989. Ecology of rumen anaerobic fungi in relation to the nutrition of the host animal. In: Nolan JV, Leng RA, Demeyer DI, editors. The roles of protozoa and fungi in ruminant digestion. Penambul Books, Armidale. 1989; pp: 29-38.

46. Fonty G, Grenet E. Effects of diet on the fungal population of the digestive tract of rumenants. In: Mountford DO, Orpin CG, editors. Anaerobic fungi: Biology, ecology and function. Marcel Dekker, New York. 1994; pp: 229-239.

47. Boots B, Lillis L, Clipson N, Petrie K, Kenny DA, Boland TM, Doyle E. Responses of anaerobic rumen fungal diversity (phylum Neocallimastigomycota) to changes in bovine diet. J Appl Microbiol. 2013; 114(3): 226-235.

48. Hristov AN, Callaway TR, Lee C, Dowd SE. Rumen bacterial, archaeal, and fungal diversity of dairy cows in response to ingestion of lauric or myristic acid. J Anim Sci. 2012; 90(12): 4449 -4457.

49. Orpin CG, Joblin KN. The rumen anaerobic fungi. In: Hobson PN, editor. The rumen microbial ecosystem. Elsevier Applied Science London. 1988; pp: 129-150.

50. Bauchop T, Mountfort DO. Cellulose fermentation by rumen anaerobic fungus in both the absence and presence of rumen methanogens. Appl Environ Microbiol. 1981; 42: 1103-1110.

51. Akin DE, Benner R. Degradation of polysaccharides and lignin by ruminal bacteria and fungi. Appl Environ Microbiol. 1988; 54: 1117-1123.

52. Orpin CG. The role of ciliate protozoa and fungi in the rumen digestion of plant cell walls. Anim Feed Sci Technol. 1983; 10: 121-143.

53. Akin DE, Borneman WS, Windham WR. Rumen fungi: morphological types from Georgia cattle and the attack on forage cell walls. Biosys. 1988; 21: 385-391.

54. Paul SS, Kamra DN, Sastry VRB, Sahu NP, Kumar A. Effect of phenolic monomers on growth and hydrolytic enzyme activities of an anaerobic fungus isolated from wild nilgai (Boselaphus tragocamelus). Lett Appl Microbiol. 2003; 36: 377-381.

55. Wallace RJ, Joblin KN. Proteolytic activity of a rumen anaerobic fungus. FEMS Microbiol Lett. 1985; 29: 19-25.

56. Borneman WS, Hartley RD, Morrison WH, Akin DE, Ljungdahl LG. Feruloyl and p-coumaryl esterase from anaerobic fungi in relation to plant cell wall degredation. Appl Microbiol Biotechnol. 1990; 33: 345-351.

57. Gordon GLR, Phillips MW. 1992. Extracellular pectinlyase produced by *Neocallimastix sp*. LM1, a rumen anaerobic fungus. In: International Symposium on Nutrition of Herbivores Serdang (Zahari MW, Tajuddin ZA, Abdullah N, Wong HK, eds). 3nd Malaysian Society of Animal Production. pp: 27.

58. Youssef NH, Couger MB, Struchtemeyer CG, Liggenstoffer AS, Prade RA, Najar FZ, Atiyeh HK, Wilkins MR, Elshahed MS. The genome of the anaerobic fungus *Orpinomyces* sp. strain C1A reveals the unique evolutionary history of a remarkable plant biomass degrader. Appl

Environ Microbiol. 2013; 79(15): 4620-4634.

59. Bernalier A, Bogaert C, Fonty G, Jouany JP. Effect of ionophore antibiotics on anaerobic rumen fungi. In: Nolan JV, Leng RA, Demeyer DI, editors. The roles of protozoa and fungi in ruminant digestion. Penambul Books Armidale, Australia. 1989; pp: 273-275.

60. Orpin CG, Joblin KN. 1997. The rumen anaerobic fungi. In: Hobson PN, Stewart CS, editors. The rumen microbial ecosystem. 2nd ed. Blackie Academic and Professional, London. 1997; pp: 140-195.

61. Williams AG, Withers SE, Naylor GE, Joblin KN. Interactions between the rumen chytrid fungi and other microorganisms. In: Mountford DO, Orpin CG, editors. Anaerobic fungi: Biology, ecology and function. Marcel Dekker, New York. 1994; pp: 191-227.

62. De Hoog GS, Vicente VA, Najafzadeh MJ, Harrak MJ, Badali H, Seyedmousavi S. Waterborne *Exophiala* species causing disease in cold-blooded animals. Persoonia. 2011; 27: 46-72.

63. Badali H, Sybren de Hoog GS, Curfs-Breuker I, Klaassen CH, Meis JF. Use of amplified fragment length polymorphism to identify 42 *Cladophialophora* strains related to cerebral phaeohyphomycosis with In vitro antifungal susceptibility. J Clin Microbiol. 2010; 48 (7): 2350-2356.

Journal of Microbial World
Volume 6, No. 4, January 2014

Review Article

The genetic diversity and ecology of the rumen anaerobic fungi of ruminant animals: past, present and future

Ali Khodaei[1], Mehdi Arzanlou[2], Asadollah Babai Ahari[3], Mohammad Hossein Afsarian[4], Hamid Badali[5]

[1] Ph.D. Candidate, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran.
[2]Associate Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran.
[3]Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran.
[4] Lecturer, Department of Medical Microbiology, Fasa University of Medical Sciences, Fasa, Iran.
[5]Assistant Professor, Department of Medical Mycology & Parasitology, Invasive Fungi Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran.

Abstract

Background and Objectives: In 1910 scientist notified the existence of fungi in rumen. Based on chitin content in their cell wall, they were classified as true fungi referred to as *Neocallimastix frontalis*. Based on morphological characters such as number of flagellates in zoospore, rhizomycelium, shape of sporangium, ultra structural of zoospore and nucleotide sequences data, these fungi are recently classified into two monocentric and polycentric groups, consisting of six genera.

Materials and Methods: In the present study, literature search was performed based on search of MeSH keywords, such as phylogeny, monophyletic, Neocallimastigomycota, rumen fungi, in several online research tools, such as Pubmed Medline, Scopus, Google scholar, Elsevier databases, Irandoc, Iranmedex, Magiran, SID and MEDLIB limited to the articles published between 1992 to 2013.

Results: Different characterises of these fungi such as life cycle, reproductive structures, vegetative thallus and molecular data revealed phytogenic relationship of rumen fungi to the members of Chytridiomycota. Phylogenetic analysis of these fungi and their relatives with other eukaryotes using *18S rDNA* sequence data, analyses of structural data and the G+C content showed that this fungi are monophyletic organisms.

Conclusion: The investigations on inhibitors and their roles in the interactions between fungi and bacteria can be useful to understand the microbial ecosystem of the rumen. Detection of these factors can be used to determine new ecologic relationships in the rumen. Furthermore, detection of the inhibitors of bacterial activity in the rumen can be used to increase the activity of fungi on plant fibres in this ecologic community.

Keywords: Phylogeny, Monophyletic, *Neocallimastigomycota,* Rumen fungi.

Correspondence to: Hamid Badali
Tel: +989128413720
E-mail: badalii@yahoo.com
Journal of Microbial World 2014, 6(4): 337-350.