



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 میکروبیولوژی، ^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 قارچ‌های حقیقی طبقه بندی شدند و با عنوان *نئوکالیماسستیکس فرونتالیس* نام‌گذاری گردیدند. امروزه بر اساس ویژگی‌های ریخت‌شناختی 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 مونوستریک و پلی‌ستریک قرار می‌گیرند.

مواد و روش‌ها: در مطالعه حاضر از بانک‌های اطلاعاتی شامل Pubmed، Scopus، Google Scholar، Elsevier databases، Iranmedex، Magiran، SID، MEDLIB و MeSH واژه‌های کلیدی در جستجوی مقالات شامل فیلوژنی، تک‌نیایی، نئوکالیماسستیکومیکوتا و قارچ‌های شکمبه محدود شده در مقالات منتشر شده در سال‌های ۱۹۹۲ تا ۲۰۱۳ استخراج و مطالعه مروری بر روی آن‌ها انجام گرفت.

یافته‌ها: ویژگی‌های گوناگونی از این قارچ‌ها مانند چرخه زندگی، ساختارهای تولیدمثلی، تال رویشی و داده‌های مولکولی، ارتباط آن‌ها را با کیتیریدیومایکوتا 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.

نتیجه‌گیری: ارزیابی عوامل بازدارنده و نقش آن‌ها در برهم‌کنش‌های بین قارچ‌ها و باکتری‌ها می‌تواند موجب درک بهتر از اکوسیستم شکمبه گردد. شناخت این عوامل می‌تواند زمینه ساز کاوش روش‌های نوین شناسایی اکولوژیکی شکمبه باشد. همچنین شناسایی عوامل باکتریایی بازدارنده فعالیت شکمبه می‌تواند زمینه ساز نقش فعال تر قارچ‌ها در هضم فیبر گیاهی در این اکوسیستم باشد.

واژگان کلیدی: فیلوژنی، تک‌نیایی، نئوکالیماسستیکومایکوتا، قارچ‌های شکمبه.

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

* آدرس برای مکاتبه: مازندران، مرکز تحقیقات قارچی مهاجم، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، گروه انگل‌شناسی و قارچ‌شناسی پزشکی.

مقدمه

نرم را دریافت نماید، جمعیت این قارچ‌ها به حداقل میزان خود می‌رسد (۳).

اگرچه مشخص شده است که قارچ‌های بی‌هوازی ساکنین معمول قسمت جلویی و عقبی معده علف‌خواران هستند، اما اهمیت آن‌ها برای تخمیر در شرایط زنده مبهم می‌باشد. 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 قارچ‌ها 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 ایزوله‌های 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 می‌نمایند. تلاش‌هایی 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 میکروارگانیسم‌های لیگنوسلولزی در شکمبه یکی از این اقدامات بوده است (۷).

مطالعه بر روی ویژگی‌های ایزوزایمی (۸) و درصد G+C (۹) این قارچ‌ها نشان می‌دهد که آن‌ها گروه تک‌نمایی هستند. فقدان میتوکندری و قطرات چربی و حضور هیدروژنوزوم‌ها 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).

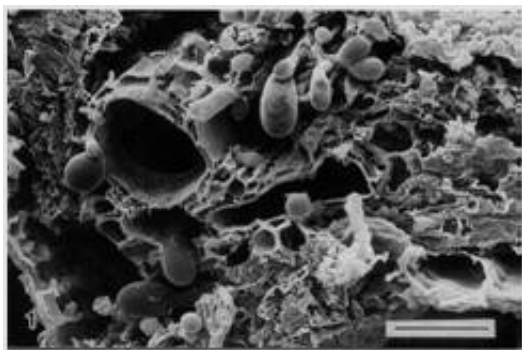
تاریخچه و اهمیت قارچ‌های بی‌هوازی شکمبه

قارچ‌های شکمبه برای اولین بار در انگلستان در شکمبه

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) می‌باشند. در دو قسمت اول غذا با بزاق مخلوط شده و به فازهای جامد و مایع جدا می‌گردد. 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 همی سلولز ابتدا در قسمت‌های مختلف معده توسط میکروارگانیسم‌ها (باکتری‌ها، پروتوزوآها و قارچ‌ها) 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 میکروارگانیسم‌ها و تعامل بین آنها و نیز تغییرات وابسته به جیره غذایی جمعیت میکروارگانیسم‌ها در شکمبه حیوان میزبان، کاملاً پیچیده است. سال‌ها قبل تصور می‌شد که باکتری‌ها و پروتوزوآهای مژک دار دو گروه اصلی میکروارگانیسم‌های شکمبه می‌باشند. باکتری‌های شکمبه به‌طور گسترده‌ای مورد مطالعه قرار گرفته‌اند. مطالعات نشان داده است که باکتری‌ها اولین تجزیه‌کنندگان 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 می‌گردد (۱). تحقیقات نشان داده است که قارچ‌های بی‌هوازی قطعات گیاهی را در شکمبه گاو و گوسفند تغذیه کننده از جیره غذایی فیبردار، استفاده می‌کنند. از طرفی این قارچ‌ها دارای فعالیت سلولیتیکی نیز می‌باشند (۲). زمانی که حیوان میزبان از جیره غذایی دارای قسمت‌های ساقه دار و فیبری استفاده می‌کند، تراکم جمعیتی قارچ‌های بی‌هوازی به حداکثر مقدار خود می‌رسد. اما زمانی که حیوان جیره غذایی دارای مواد برگی و

حیوانات تغذیه‌کننده از جیره فیبردار حیرات‌آور است که این قارچ‌ها تا مدت زیادی ناشناخته باقی مانده بودند. در حالی که 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 میکروارگانیسم‌های شکمبه به جای محتوای جامد شکمبه از محتوای مایع فیلترشده آن استفاده و محتوای جامد دور انداخته می‌شود. در حالی که تال‌های قارچی به این قسمت (محتوای جامد) از محتوای شکمبه متصل می‌گردند. بنابراین اغلب زئوسپورهای قارچی شناور در مایع شکمبه تنها ساختارهای مورد مشاهده میکروب‌شناسان بوده است و از این رو فکر می‌کردند که این‌ها 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 قارچ‌ها، تایید نمود که قارچ‌های شکمبه متعلق به گروه قارچ‌های حقیقی هستند و آن‌ها را با عنوان *نئوکالیماستیکس فرونتالیس* (*Neocallimastix frontalis*) نام‌گذاری کرد. گلد (Gold) و همکاران (۱۸) پیشنهاد کردند که خانواده نئوکالیماستیگاسه (*Neocallimastigaceae*) به سه جنس دارای گونه‌های تک مرکزی *نئوکالیماستیکس* (*Neocallimastix*)، *پیرومایسس* (*Piromyces*) و *کاکومایسس*

گوسفند پیدا شدند. امروزه این قارچ‌ها از تمام قاره‌ها و نواحی جغرافیایی گزارش شده‌اند. ایزوله‌هایی از قارچ‌های بی‌هوازی شکمبه از حیواناتی در نواحی معتدل و گرمسیری استرالیا، کانادا، فرانسه، اندونزی، ژاپن، مالزی، هلند، نیوزیلند، نروژ، روسیه و ایالات متحده آمریکا و نیز از نواحی گرمسیری و نیمه گرمسیری شیلی، غنا، اتیوپی، تانزانیا و تونس جداسازی شده‌اند (۱۱). پراکنش این قارچ‌های شیدیدا بی‌هوازی ظاهراً محدود به شکمبه علف‌خواران می‌باشد. زیرا نمونه‌برداری‌های گسترده‌ای از محیط‌های 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 قارچ‌ها را در سرتاسر دستگاه گوارشی پیدا کردند و بالاترین تعداد قارچ‌ها در محتوای هضمی شیردان-سیرابی و هزارلا گزارش شد. به طوری که حدود ۸۹٪ از کل قارچ‌های موجود در دستگاه گوارشی در شیردان - سیرابی مشاهده گردید. جمعیت‌های قارچی به‌طور قابل ملاحظه‌ای 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 می‌دهد رشد آن‌ها در جای دیگری به غیر از شکمبه صورت می‌گیرد و قارچ‌های یافت شده در سایر قسمت‌های دستگاه گوارش احتمالاً منشأ 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 قارچ‌ها ترجیحاً در بافت‌های آوندی و اسکلرانشیمی با دیواره ضخیم مستقر می‌شوند (شکل ۱) (۱۵). از طرفی نشان داده شده است که آن‌ها قادر به شرکت در هضم کلی علف‌های مختلف و کاه و کلش گندم هستند (۱۶). با وجود شیوع عمومی و فراوانی آن‌ها به ویژه در

تاکسونومی و فیلوژنی

حضور کیتین در دیواره سلولی این قارچ‌ها، مورفولوژی و چرخه زندگی آن‌ها تعلق این قارچ‌ها به قارچ‌های حقیقی را تایید نموده است (۲۳). نام عمومی اسپاهروموناتس (*Spaheromonas*) و پیرومایسس توسط لیه بتانز (*Liebetanz*) در سال ۱۹۱۰ برای گروهی از ارگانیسیم‌های تک‌تازکی شکمبه که احتمال داده می‌شد که پروتوزوآهای تازک دار هستند، انتخاب گردید (۱۷).

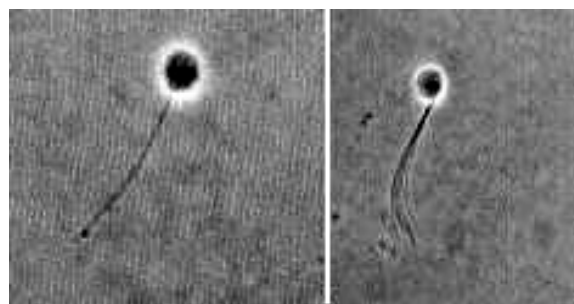
چند سال بعد بران (*Braune*) (۲۴) ارگانیسیم‌های چندتازکی شکمبه را *نئوکالیماستیکس فرونتالیس* نامید. متعاقباً او را (*Varva*) و ژویون (*Joyon*) (۲۵) فراساختار *کاکومایسس سیکلوپسیس* (*Caecomyces cyclopsis*) را مطالعه و پیشنهاد نمودند که این میکروارگانیسیم‌ها احتمالاً از شاخه کیتريدیومایکوتا می‌باشند. آن‌ها یک جنس جدید از آغازیان به نام *نئوکالیماستیکس* را ایجاد کرده و *کاکومایسس فرونتالیس* (*Caecomyces frontalis*) را به عنوان گونه تیپ آن معرفی نمودند. اورپین (*Orpin*) نشان داد که میکروارگانیسیم *ژئوسپوردار شکمبه*، *نئوکالیماستیکس فرونتالیس*، به طور فعال مرحله *ژئوسپوری* یک قارچ است (۱۱). با این حال موقعیت تاکسونومیکی آن مشخص نبود تا این که هس (*Heath*) و همکاران بر اساس ویژگی‌های فراساختاری موقعیت تاکسونومیک آن را تعیین و در رده کیتريدیومیست‌ها، راسته اسپیزولوماستالس (*Spizellomycetales*) و خانواده جدید *نئوکالیماستیکاسه* (*Neocallimasticaceae*) طبقه بندی کردند (۱۰). این خانواده بعداً به *نئوکالیماستیگاسه* (*Neocallimastigaceae*) تغییر نام داده شد (۲۶). مطالعه ویژگی‌های دیگری مانند چرخه زندگی، ساختارهای تولیدمثلی و تال رویشی این قارچ‌های بی‌هوای، نشان داده‌اند که قرابت آنها به کیتريدیومیست‌ها بیش تر از سایر گروه‌های قارچی می‌باشد.

مطالعات فیلوژنتیک، براساس تجزیه و تحلیل توالی نوکلئوتیدی زیرواحد کوچک DNA ی ریبوزومی (SSU-rDNA) نیز ارتباط آن‌ها را با کیتريدیومایکوتا نشان داده‌اند (۲۷). با این وجود

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

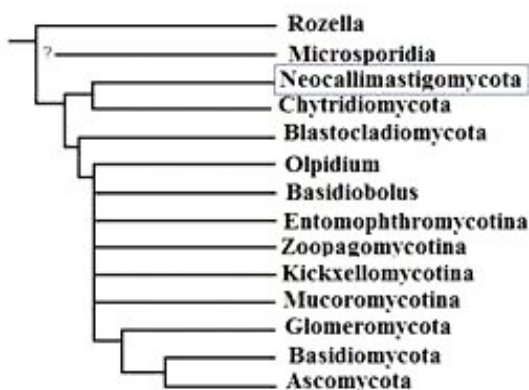
گونه‌های تک مرکزی تولید اسپرانژیوم می‌کنند و *ژئوسپورها* را با یک روال منظم و طبیعی آزاد می‌کنند. از آنجایی که فراساختار *ژئوسپور* بالغ یک ویژگی کلیدی مورد استفاده در رده‌بندی کیتريدیومیست‌هاست، مطالعه زندگی یا رده‌بندی این قارچ‌ها بدون این که *ژئوسپور* آن‌ها به آسانی و فراوانی در دسترس باشد، امکان‌پذیر نیست. در بین این قارچ‌ها، اعضای جنس *کاکومایسس* می‌توانند با توجه به ویژگی‌های ریخت شناسی منحصر به فردشان (حضور ریزوئیدهای پیازی شکل) از سایر جنس‌های قارچ‌های شکمبه به راحتی تشخیص داده شوند (۱۸).

شناسایی این قارچ‌ها بر اساس تعداد تازک در *ژئوسپور* (شکل ۲)، *ریزومیسلیوم* و شکل اسپرانژ صورت می‌پذیرد (۱۵). هو (*Ho*) و همکاران (۲۱) این گروه را بر پایه فراساختار *ژئوسپور* و بروکمن (*Brookman*) و همکاران (۲۲) این قارچ‌ها را بر اساس تکثیر در PCR و توالی‌یابی نواحی *ITS1* و *ITS2* شناسایی نمودند.



شکل ۲: *ژئوسپور* چندتازکی *نئوکالیماستیکس فرونتالیس* (راست) و *ژئوسپور* یک تازکی *پیرومایسس مینتس* (*Piromyces minutus*) (چپ) (۱۵)

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 *Neocallimastix*، *Pirromyces*، *Cacomyces* و *Auripyrromyces* هنوز مبهم است. هو (Ho) و همکاران با استفاده از ویژگی‌های ایزوزایمی قارچ‌های بی‌هوازی دریافتند که *Pirromyces* به *Cacomyces* نزدیک‌تر از *Neocallimastix* است (۸). در مقابل دور (Dore) و استال (Stahl) (۲۷) با استفاده از توالی *18S rDNA* دریافتند که *Pirromyces* به *Neocallimastix* نزدیک‌تر از *Cacomyces* است (۱۸). لی (Li) و همکاران با استفاده از آنالیز خوشه‌ای داده‌های ساختاری دریافتند که *Pirromyces dubonica* (P. dubonica) و *Cacomyces equi* خیلی به هم نزدیک بوده و یک خوشه را تشکیل می‌دهند، اما *Cacomyces kamonis* (*C. communis*) جدا بوده و به *Neocallimastix* نزدیک‌تر است (۳۰). هو (Ho) و همکاران (۸) نشان دادند که *Auripyrromyces* به *Pirromyces* و *Cacomyces* نزدیک‌تر از *Neocallimastix* است. هم‌چنین لی (Li) و همکاران (۳۰) با استفاده از توالی *18S rDNA* نشان دادند که *Auripyrromyces* و *Pirromyces* خیلی به هم نزدیک هستند و به *Neocallimastix* نزدیک‌تر از *Cacomyces* هستند.



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

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

در حال حاضر این راسته به شاخه‌ای به همین نام *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 قارچ‌های بی‌هوازی روده و وابستگان آن‌ها با سایر یوکاریوت‌ها با استفاده از توالی *18S rDNA* و آنالیز خوشه‌ای داده‌های ساختاری تعیین شده اند (۳۰-۳۳). نتایج این مطالعات نشان داده است که این قارچ‌ها مونوفیلیتیک بوده و در کنار کیتریدها قرار می‌گیرند. مطالعه بر روی ویژگی‌های ایزوزایمی (۸) و درصد G+C (۹) این قارچ‌ها نیز نشان می‌دهد که آن‌ها گروه تک‌نمایی هستند. فقدان میتوکندری و قطرات چربی و حضور هیدروژنوزوم‌ها بدون شک در راستای سازگاری با شرایط بی‌هوازی بوده و لایه سطحی منحصر به فرد زئوسپورها احتمالاً در تطابق با محیط شیمیایی شکمبه می‌باشد (۱۰).

تنوع زیستی

شاخص‌های مورد توجه در بررسی تنوع ژنتیکی قارچ‌های شکمبه توالی‌های ژن‌های کدکننده DNA ریپوزومی به ویژه *ITS1*، *ITS2* و *5.8S rDNA* می‌باشند. این ژن‌ها می‌توانند در شناسایی میکروارگانیزم‌ها و نیز تعیین روابط فیلوژنتیکی آن‌ها از جمله قارچ‌های شکمبه (۲۲) مورد استفاده قرار گیرند (۳۴). تلاش‌های اولیه با استفاده از روش‌های مولکولی برای

اسپیرالیس (۴۱) یا از طریق تحلیل پاپیل پیرومایسس مایی (*P. mae*) باشد (۴۲).

بقاء و انتقال قارچ‌های 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 شده‌اند. این بررسی پیشنهاد می‌نماید که تماس بین بره‌های نوزاد و مادر و یا سایر گوسفندان برای ورود این قارچ‌ها ضروری نمی‌باشد. با این حال وقتی بره‌های جداسازی شده در شرایط ضدعفونی شده نگهداری شدند، پس از گذشت مدتی هیچ قارچ شکمبه‌ای در شکمبه آن‌ها مشاهده نگردید.

در بررسی دیگر جداسازی قارچ‌های *ژئوسپوردار* بی‌هوازی از بزاق و فضولات پیشنهاد چنین تصویری را ایجاد می‌کند 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 می‌توانند از حیوانی به حیوان دیگر از طریق هوا، فضولات خشک شده و احتمالاً از طریق تیمارکردن (لیس‌زدن حیوانی توسط حیوان دیگر) انتقال یابند (۴۵).

حساسیت‌های آنتی بیوتیکی

یونوفورها (Ionophores) و سایر آنتی بیوتیک‌ها 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 به‌منظور خارج سازی این قارچ‌ها از شکمبه بسیار حساس هستند. سیکلوهاگزامید ترکیبی سمی برای بسیاری از قارچ‌ها محسوب می‌شود. اما قارچ‌کش‌های نیستاتین و

آنالیز خوشه‌ای توالی‌های *18S rDNA* و آنالیز خوشه‌ای داده‌های ساختاری نشان دادند که ارتباط بین *اورپینومایسس*، *پیرومایسس* و *نئوکالیماستیکس* مبهم بوده و به الگوریتم‌ها یا مجموعه‌ای از داده‌های مورد استفاده یا انتخاب گروه خارجی (out-group) وابسته است. *اورپینومایسس* می‌تواند 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 قارچ‌های بی‌هوازی روده چرخه زندگی مشابه دارند. این قارچ‌ها اساساً در چرخه زندگی خود دارای یک مرحله *ژئوسپوری* متحرک و یک مرحله غیرمتحرک می‌باشند. مراحل رویشی و تولیدمثلی به مواد هضمی متصل می‌گردند. چرخه زندگی قارچ‌های بی‌هوازی تک مرکزی حدود ۲۴-۳۲ ساعت طول می‌کشد (۷ و ۳۶).

قارچ‌های بی‌هوازی چند مرکزی علاوه بر تولید *ژئوسپور*، قابلیت تکثیر رویشی را با تقسیم میسلومی نشان داده‌اند. چرخه زندگی *نئوکالیماستیکس فرونتالیس* دارای یک مرحله *ژئوسپوری* متحرک، یک مرحله *ژئوسپورانژیومی* - رویشی (۳۶ و ۳۷) و یک ساختار استراحتی به‌عنوان مرحله اسپرانژیومی مقاوم می‌باشد (۳۸). قارچ‌های چند مرکزی چرخه زندگی نامشخصی دارند و متکی به تشکیل *ژئوسپور* برای بقای خود نیستند (۳۹). *ژئوسپور* در شکل‌های چند مرکزی کم‌یاب هستند و حتی در مواردی *ژئوسپورزایی* وجود ندارد.

ژئوسپورها به چندین طریق از اسپرانژیوم آزاد می‌شوند. این امر می‌تواند از طریق یک سوراخ راسی در اسپرانژیوم به‌عنوان نمونه در *نئوکالیماستیکس هارلینسیس* (*N. hurleyensis*) (۴۰)، از طریق حل شدن پروتئین موجود در دیواره اسپرانژیوم *پیرومایسس میتس* (۴۱)، از طریق شکستن و حل شدن قسمت راسی اسپرانژیوم که به دنبال آن متلاشی شدن و حل گردیدن دیواره اسپرانژیوم اتفاق می‌افتد. *نئوکالیماستیکس فرونتالیس* (۳۱)، از طریق تحلیل سریع دیواره اسپرانژیوم *پیرومایسس*

نمایند (۴۹). چنین نفوذی می‌تواند موجب تجزیه بهتر و سریع‌تر فیبر درون شکمبه گردد (۵۰). تجزیه دیواره‌های سلولی حاوی لیگنین از ویژگی‌های مهم قارچ‌های شکمبه می‌باشد (۵۱). این قارچ‌ها مقادیر کوچکی از ترکیبات فنلی دیواره سلول گیاهی را نیز حل می‌نمایند (۵۲). ژئوسپور بسیاری از گونه‌ها، ترجیحاً بافت‌های حاوی لیگنین را کلونیزه می‌نمایند. به همین دلیل کلنی‌های مذکور روی سلول‌های آوندهای چوبی و اسکلرانسیم تولید می‌شوند. بنابراین می‌توان مهم‌ترین مزایای قارچ‌های بی‌هوازی را به شرح زیر خلاصه نمود:

الف) بهبود هضم فیبر و به‌کارگیری مواد حاصل از آن به‌عنوان ماده غذایی 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 باکتری‌های شکمبه در تجزیه فیبر به اثبات رسیده است (۵۱)، قارچ‌های شکمبه از پتانسیل بالاتری در تجزیه بافت‌های گیاهی به شدت لیگنینی‌شده از خود نشان می‌دهند (۵۳). برای تجزیه و استفاده از دیواره سلول گیاهی، قارچ‌های شکمبه طیف وسیعی از آنزیم‌های 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 این قارچ‌ها دارای پتانسیل زیادی برای تولید سوخت زیستی می‌باشند (۵۸).

آن‌ها با آنالیز مقایسه‌ای ژنوم ژن‌های چندگانه ساختاری، مسیری را شناسایی نمودند که در ژنوم Dikarya موجود نبود. اما در گروه‌های قارچی اجدادی و یا در Ophisthokonta غیرقارچی وجود داشت. علوفه عموماً فاقد ویتامین و اسیدهای آمینه ضروری می‌باشد و میکروارگانیسم‌ها 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.

آمفوتریسین B (ممانعت‌کنندگان از سنتز استرول) علیه قارچ‌های شکمبه فاقد استرول، تاثیرگذار نیستند. در محیط‌های کشت آزمایشگاهی قارچ‌های شکمبه ظاهراً نسبت به آووپاریسین، باسی‌تراسین، تیلوسین و ویرجینیومایسین و آنتی‌بیوتیک‌های باکتریایی مانند پنی‌سیلین، استرپتومایسین و ریفامپیسین (مورد استفاده در کشت‌های حاوی باکتری‌های آزادزی) مقاومت نشان داده‌اند (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 جیره‌های غذایی نسبت به سایر مواد غذایی برای توسعه جمعیت‌های قارچ‌های شکمبه مناسب‌تر هستند (۴۶). عموماً محتوای بالای فیبری جیره غذایی موجب تراکم بالاتر جمعیت قارچی می‌گردد. جیره‌های غذایی غنی از کربوهیدرات مانند آب‌پنیر، ملاس یا پچغندر علوفه‌ای باعث کاهش تراکم جمعیتی می‌شود، حتی اگر ترکیبات با فیبر بالا مانند علوفه‌سبز خورنده شود (۴۶). اطلاع از تاثیر جیره غذایی بر روی قارچ‌های 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 قارچ‌های شکمبه گاوهای شیری در واکنش به هضم لوریک اسید یا میریستیک اسید نشان دادند که لوریک اسید، محتوای پروتوزوآی شکمبه را در مقایسه با استتاریک اسید و میریستیک اسید، ۹۶٪ کاهش می‌دهد. اما در مقایسه با استتاریک اسید، میریستیک اسید اثری بر روی پروتوزوآی شکمبه نداشت (۴۸).

نقش قارچ‌های شکمبه در تجزیه فیبرهای گیاهی

نقش قارچ‌های شکمبه در تجزیه فیبرهای گیاهی به طور گسترده‌ای مورد مطالعه قرار گرفته است. این قارچ‌ها بهتر از باکتری‌ها و پروتوزوآها می‌توانند در بافت‌های گیاهی نفوذ

سوبسترای فیبری نمی‌تواند 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 میکروارگانیسم‌های شکمبه، نقش قارچ‌ها و باکتری‌های متانوزن مورد بررسی قرار گرفته است. باکوپ (Bauchop) و منتفورد (Maountfort) اثبات کردند که قارچ‌های شکمبه به دلیل تولید بالای هیدروژن آمادگی تشکیل کشت‌های متقابل پایا با متانوزن‌ها را دارند (۵۰). برنالیر (Bernalier) و همکاران نشان دادند که رشد قارچ‌های شکمبه در کشت متقابل آن‌ها با باکتری‌های متانوزن افزایش می‌یابد (۵۹).

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

نتیجه‌گیری و چشم‌اندازهای آتی

تخمین زده می‌شود 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 مشکل بودن کشت و نگه‌داری قارچ‌های 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 می‌تواند به وجود آورد. با این وجود در مورد فیزیولوژی اعضای این گروه جدید از موجودات بی‌هوازی شناخت کم‌تری وجود دارد و مطالعات بعدی برای افزایش دانش ما در مورد ویژگی‌ها و پتانسیل آن‌ها

نقش اختصاصی قارچ‌ها در این زمینه آشکار نیست. میکروارگانیسم‌ها علاوه بر سم‌زدایی نیز می‌کنند. ترکیبات دفاعی گیاهی معمولاً مولکول‌های آلی کاملاً سمی مانند آلکالوئیدها، دی‌ترین‌ها (سموم با منشا میکروبی) را شامل می‌شوند. میکروارگانیسم‌ها مواد سمی را از غذا خارج می‌نمایند. این کار اغلب با مصرف آن‌ها به عنوان منبع انرژی انجام می‌گیرد. در نتیجه غذای عاری از سموم حاصل از فعالیت آن‌ها برای میزبان مطبوع‌تر است. حضور اکسیژن می‌تواند برای ارگانیسم‌های غیرهوازی مضر باشد. آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز برای از بین بردن ماهیت واکنشی اکسیژن ضروری است و این آنزیم‌ها در تمام موجودات بی‌هوازی یافت می‌شوند.

میکروارگانیسم‌های غیرهوازی که قدرت تولید این آنزیم‌ها را ندارند، باعث ایجاد محیط نامساعد برای قارچ‌های شکمبه می‌گردند. قارچ‌های شکمبه بایستی در شرایط کاملاً بی‌هوازی کشت گردند. این قارچ‌ها فاقد میتوکندری می‌باشند و به‌جای آن دارای هیدروژنوزوم (Hydrogenosome) (اندامک‌هایی که تصور بر این است که انرژی را به فرم ATP فراهم می‌نمایند)، هستند. هیدروژنوزوم‌ها معمولاً در نزدیکی قاعده تاژک زئوسپور، یعنی در مکانی که انرژی قابل توجهی مورد استفاده قرار می‌گیرد، قرار دارند. در مورد فعالیت هیدروژنوزوم‌ها اطلاعات کمی در دست است. با این حال انرژی آزاد شده از گلوکز در هیدروژنوزوم‌ها به طور قابل ملاحظه‌ای کم‌تر از میتوکندری‌ها می‌باشد.

مطالب یاد شده اهمیت نقش قارچ‌های شکمبه در هضم فیبر را آشکار می‌سازد، با این حال نتایج آزمون‌های 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 علاوه بر باکتری‌ها مؤثرتر از قارچ‌ها می‌باشند (۴). این مطالعه پیشنهاد می‌کند که تعداد اسپرانژیوم یافت‌شده بر روی قطعات گیاهی نمی‌تواند نشان دهنده نقش قابل توجه قارچ‌ها در تجزیه فیبرها باشد. علاوه بر این محققان یادآور شدند افزایش

روش‌هایی برای دست‌کاری فعالیت‌های شکمبه گردد. فهم شیوه فعالیت عوامل باکتریایی بازدارنده فعالیت قارچ‌ها در شکمبه و برعکس می‌تواند به منظور ارزیابی نقش دقیق‌تر قارچ‌ها 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.

لازم است. مطالعات بر روی قارچ‌های تکثیر شده در شرایط کنترل شده بایستی درک ما را در مورد برهم‌کنش قارچ‌ها با مواد لیگنوسلولزی و سایر میکروارگانیسم‌های موثر در عملکرد شکمبه افزایش دهند. تلاش‌های فزاینده‌ای برای تعیین ویژگی‌های عوامل ممانعت‌کننده و نقش آن‌ها در برهم‌کنش‌های 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 می‌تواند منجر به ایجاد

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 poliflagellate 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 Microbiol.* 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, *Caecomycetes 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 6 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, Greenwood 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 (Neocallimastaceae) 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 (Neocallimasticeae) 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 of a 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 Microbiol.* 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 ruminants. 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, Mountford 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 degradation. *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). 3rd Malaysian Society of Animal Production. pp: 27.
 58. Youssef NH, Couger MB, Struchtemeyer CG, Liggenstoffer AS, Prade RA, Najjar 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.



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

Ali Khodaei¹, Mehdi Arzanlou², Asadollah Babai Ahari³, Mohammad Hossein Afsarian⁴, Hamid Badali⁵

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.