



## Rumen Mikrobiyal Ekosistemi İçerisinde Anaerobik Funguslar

Uğur Çömlekçioğlu<sup>1\*</sup>, Emin Özköse<sup>1</sup>, İsmail Akyol<sup>1</sup>,  
Mehmet Sait Ekinci<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Zootekni Bölümü,  
<sup>1</sup>Biyoteknoloji ve Gen Mühendisliği Laboratuvarı, Kahramanmaraş  
\*e-posta: cugur@ksu.edu.tr

**Özet:** Rumen bakteri, arkea, protozoa, fungus ve bakteriyofajlardan oluşan kompleks bir mikrobiyal ekosisteme sahiptir. Rumende besin maddelerinin fermantasyonunu gerçekleştiren rumen mikroorganizmaları içerisinde anaerobik funguslar 6 cins altında 20 tür ile temsil edilmektedir. Anaerobik funguslar, monosentrik ve polisentrik olmak üzere iki farklı üreme şekline sahip olup vejetatif tallusları küresel veya filamentli rizoid içerebilir. Sahip oldukları anaerobik yaşam tarzı ve iki aşamalı yaşam döngüsü nedeniyle sınıflandırmadaki yeri günümüze kadar tartışılmış ve son yapılan çalışmalar neticesinde içerisinde sadece anaerobik rumen funguslarının bulunduğu Neocallimastigomycota adında yeni bir filum oluşturulmuştur. Zorunlu anaerob olan bu fungusların herbivorlar arasında nasıl transfer oldukları henüz tam olarak aydınlatılmamıştır. Bu çalışmada anaerobik rumen funguslarının taksonomisi, yaşam döngüsü, herbivorlar arasındaki transferleri ile diğer rumen mikroorganizmalarıyla etkileşimi üzerine olan genel bir bakış sunulmuştur.

**Anahtar Kelimeler:** Rumen, Anaerobik fungus, Neocallimastigomycota.

## Anaerobic Fungi in The Rumen Microbial Ecosystem

**Abstract:** Rumen has a complex microbial ecosystem which contains bacteria, archaea, protozoa, fungi, and bacteriophage. Plant material that enters rumen was fermented by rumen microorganisms and anaerobic fungi, which are a member of rumen microorganisms, were resembled with 20 species belongs to 6 genera. Anaerobic fungi have two reproduction types as monocentric and polycentric growth. Vegetative thalluses could contain spherical or mycelial rhizoidal system. Classification of anaerobic fungi has remained controversial because of anaerobic life style and life cycle with two stages. Recent studies have separated the rumen fungi in a new phylum Neocallimastigomycota. Transfer of strictly anaerobic fungi between herbivores has not been clarified yet. This review was focused on the investigations about taxonomy and life cycle of rumen fungi, transfer between herbivores and interactions with the other rumen microorganisms.

**Key Words:** Rumen, Anaerobic fungi, Neocallimastigomycota.

## Giriş

Rumen, ruminantların tükettiği besinlerin uçucu yağ asitleri, amonyak azotu ve mikrobiyal kütleyle dönüştürüldüğü kendine has özellikleri olan bir ekosistemdir (Weimer, 1998). Doğadaki en karmaşık mikrobiyal ekosistemlerden birisi olan rumen (Itabashi, 2004) temel olarak bakteri ( $10^{10}$ – $10^{11}$  hücre/ml), arkea ( $10^7$ – $10^9$  hücre/ml), protozoa ( $10^4$ – $10^6$  hücre/ml), fungus ( $10^3$ – $10^5$  zoospor/ml) ve bakteriyofajları ( $10^8$ – $10^9$ /ml) içermektedir (Kamra, 2005). Rumen ekosistemi içerisinde yer alan anaerobik funguslar ilk defa geçtiğimiz yüzyılın başlarında Liebetanz (1910) ve Braune (1913) tarafından gözlemlenmiş ve bu organizmaların kamçılı protozoa oldukları ileri sürülerek sırasıyla *Sphaeromonas communis* ve *Callimastix frontalis* adları ile kayıtlara geçirilmişlerdir. Yapılan ilk çalışmalarda rumen içeriğinden izole edilen çürükçül (saprofitik) fungusların besinler ile rumene giren geçici funguslar oldukları düşünülmüştür (Bauchop, 1983). *Saccharomyces cerevisiae* gibi sadece bir kaç fakültatif anaerob dışında çoğu fungus zorunlu aerob olup *Aqualinderella fermentans* ve *Blastocladia* spp. gibi belirli kitrid (chytrid) funguslar ise yüksek yoğunlukta CO<sub>2</sub>'e ihtiyaç duymakla birlikte oksijen varlığında da canlılıklarını devam ettirebilmektedirler (Yarlett ve ark., 1986 tarafından derlenmiştir). Fungusların oksijensiz yaşayamayacağı düşüncesi (Foster, 1949) rumen mikroorganizmaları üzerinde yapılan çalışmalarda rumen sıvısından katı partiküllerin uzaklaştırılarak izolasyon yapılması, rumen funguslarının keşiflerini geciktirmiştir (Bauchop, 1983). Orpin (1974; 1975)'in yaptığı çalışmaların sonucunda anaerobik fungusların rumende varlıkları ortaya çıkarılmış ve *Neocallimastix frontalis* adıyla taksonomideki yerini almıştır. Rumen funguslarının hücre duvarında kitin varlığının tespit edilmesiyle bu mikroorganizmaların gerçek funguslar olduğu sonucuna varılmıştır (Orpin, 1977a) Daha sonraki çalışmalarda anaerobik fungusların koyunun tükrük salgısı, dışkısı (Lowe ve ark., 1987), oksijenli ortamda kurumuş dışkısı (Milne ve ark., 1989) ile ineklerin sindirim sisteminin de (ösefagus, rumen, omasum, abomasum, ince barsak, sekum ve rektum) (Davies ve ark., 1993a) izole edildiği bildirilmiştir.

## Taksonomisi

Rumende anaerobik fungusların keşiflerinin diğer mikroorganizmalarla karşılaştırıldığında yeni olması nedeni ile cins ve türlerin belirlenmesinde kullanılan kriterler henüz tam olarak netlik kazanmamış ve halen bu konudaki eleştirilere açık durumdadır (Ho ve Barr, 1995). Anaerobik funguslar, zoosporlarının ince yapısındaki özellikleri dikkate alınarak Chytridiomycetes sınıfı içerisinde Spizellomycetales takımında yer almışlardır (Heath ve ark., 1983). Başlangıçta çok kamçılı monosentrik anaerobik bir fungus olan *Neocallimastix*'in yer aldığı Neocallimastigaceae ailesi oluşturulmuş fakat daha sonra bu sınıf altında bütün monosentrik, polisentrik, tek ve çok kamçılı zoosporlu anaerobik funguslar dahil edilmiştir (Heath ve ark., 1983; Barr ve ark., 1989). Ribozomal DNA (rDNA) diziliminden elde edilen bulgulara (Li ve Heath, 1992) dayanarak yapısal özelliklerin tekrar analiz edilmesiyle rumen fungusları için "Neocallimastigales" takımı oluşturulmuştur (Li ve ark., 1993). Munn (1994) ise rumen funguslarında hidrojenosomların ve kinetosomların varlığı gibi farklılıklardan dolayı bu grubun aerobik Spizellomycetales takımında değil Anaeromycetales takımında yer almaları gerektiğini önerse de, anaerobik fungusların Neocallimastigales takımında yer almaları gerektiği kabul görmüştür. Rumen funguslarının Spizellomycetales ile yakın ilişkisi halen tartışılmasına

rağmen James ve ark. (2000)'ı tarafından yapılan filogenetik çalışmalar bu iki takımın birbirine yakın olmadığını ortaya koymuştur. Filogenetik analizlere göre rumen funguslarının Chytridiomycota içerisindeki en temel grup olarak diğer takımlardan ayrıldığı bildirilmesine rağmen (James ve ark., 2006) son moleküler filogenetik analizler neticesinde fungal alemin kapsamlı bir filogenetik sınıflandırılması yapılmış ve anaerobik rumen fungusları için Neocallimastigomycota adında yeni bir filum oluşturularak Chytridiomycota'dan ayrılmıştır (Hibbett ve ark., 2007). Hibbett ve ark. (2007)'nin yaptığı çalışma sonucunda anaerobik fungusların belirlenen son taksonomisi aşağıdaki gibidir.

**Alem:** Fungi

**Filum:** Neocallimastigomycota

**Sınıf:** Neocallimastigomycetes

**Takım:** Neocallimastigales

**Familiya:** Neocallimastigaceae

**Cins:** *Neocallimastix*, *Piromyces*, *Orpinomyces*, *Cyllamyces*

**Tür:** *frontalis*, *communis*, *joyonii*, *aberensis*

Chytridiomycetes'de bulunan pek çok türün farklı morfolojik özellikler göstermesi, rumen funguslarının sistematğinde temel sorun olarak görülmektedir (Barr ve ark., 1989). Ayrıca rumen funguslarının sıcaklık hassasiyetleri ve zorunlu anaerob olmaları, mikroskop altında tek bir fungusun gelişim safhalarının incelenmesini engellemektedir (Ho ve Barr, 1995). Işık mikroskobu ile gözlenen çeşitli morfolojik özellikler anaerobik fungusların cins düzeyinde tanımlanabilmesi için yeterli olsa da (Orpin, 1994) bu morfolojik özellikler kültür koşulları ile farklılık gösterebilmektedir (Heath, 1988). Yapısal özelliklerin besiyerlerinde kullanılan karbon kaynağı, kültürün yaşı ve kullanılan metoda bağlı olarak değişebileceği de bildirilmiştir (Barr ve ark., 1995). Ayrıca polisentrik fungusların kültür ortamına nadiren zoospor bırakmaları da önemli bir problemdir (Ho ve Barr, 1995). Bu problemlerin üstesinden gelmek için morfolojik özelliklerin yanında transmisyon elektron mikroskobu Chytridiomycetes sistematğini doğrulamak için kullanılmıştır (Barr, 1988). Ayrıca zoosporlarda bulunan kinetosom ve bileşenlerinin ince yapısı Chytridiomycetes'i tanımlamak için bir araç olarak kullanılmaya başlanmıştır (Webb ve Theodorou, 1988). Yukarıdaki yöntemler ile elde edilen bulgulara göre bugüne kadar anaerobik funguslara ait *Neocallimastix*, *Piromyces*, *Caecomycetes*, *Anaeromyces*, *Orpinomyces* ve *Cyllamyces* olmak üzere 6 cins altında 20 türü tanımlanmıştır. Bu türlerin 18 tanesi Özköse (2003)'nin derlemesinde verilmiş olup, *Piromyces polycephalus* (Chen ve ark., 2002) ve *Caecomycetes sympodialis* (Chen ve ark., 2007) yeni türler olarak literatürde yer almıştır.

Tanımlanan bu altı cinsin dört tanesinde filamentli rizoidal gelişim görülmeyle birlikte bunlar monosentrik (*Neocallimastix* ve *Piromyces*) ve polisentrik (*Orpinomyces* ve *Anaeromyces*) olarak ayrılmaktadır. Diğer iki cins *Caecomycetes* ve *Cyllamyces* ise filamentli rizoidal sistem yerine küresel rizoidlere sahiptirler (Özköse ve ark., 2001). *Caecomycetes* türleri monosentrik gelişim gösterirken *Cyllamyces* izolatları polisentrik gelişim göstermektedirler. *Neocallimastix* ve *Orpinomyces* türlerinin zoosporlarının kamçı sayısı >4 iken, *Piromyces*, *Anaeromyces*, *Caecomycetes* ve *Cyllamyces* türlerinin kamçı sayısı ≤4'dür. Şekil 1'de küresel ve filamentli rizoidal sistemlere sahip rumen fungusları görülmektedir.



A



B

**Şekil 1.** Küresel rizoide sahip olan *Caecomyces* sp. GMLF12 (A) ve filamentli rizoide sahip *Neocallimastix* sp. GMLF2 (B) görüntüsü (Çömlekciöglü, 2009).

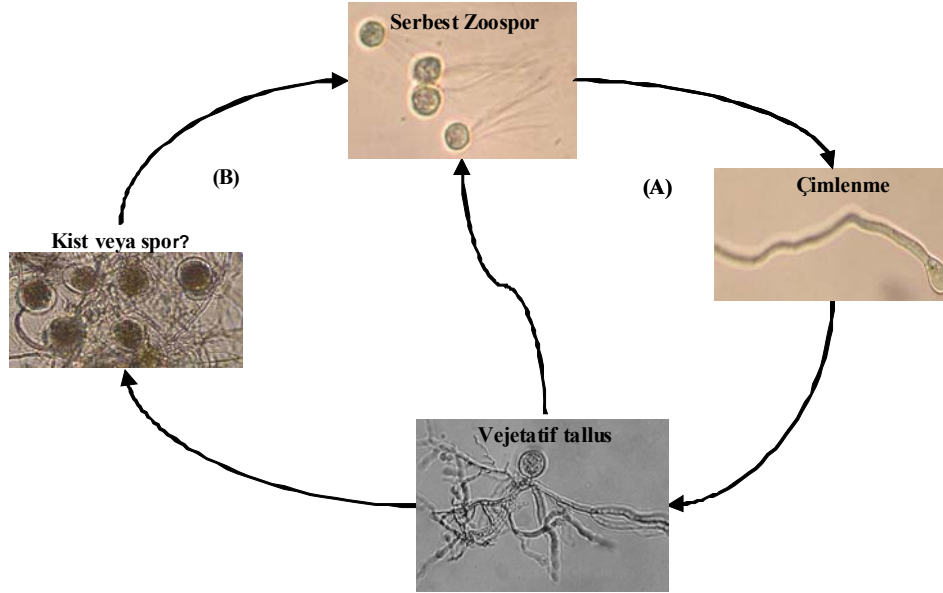
Anaerobik fungusların tanımlanmasında kullanılan kriterler için yukarıda bahsedilen problemler, yeni bir yaklaşım olan moleküler tekniklerin ön plana çıkmasını sağlamıştır. Moleküler tekniklerde kullanılan genetik bilginin kültür koşullarından etkilenmemesi bu tekniğin en önemli özelliğidir (Dore ve Stahl, 1991). Filogenetik analizler için mitokondrial DNA çok önemli bir araç olmasına rağmen, rumen funguslarının yapısında mitokondrilerin olmaması bu analizler için kromozomal DNA'nın kullanılmasını zorunlu kılmaktadır. Bu nedenle Guanin-Sitozin (GC) ve Adenin-Timin (AT) oranları (Brownlee, 1989), Internal Transcriptional Spacer 1 (ITS1) (Brookman ve ark., 2000a; Ozkose, 2001), 18S rDNA dizilimleri (Dore ve Stahl, 1991) veya izozim analizleri (Ho ve ark., 1994a) anaerobik fungusların sistematikteki problemleri çözmek için elverişli teknikler olarak ön plana çıkmıştır.

Brownlee (1989), *Neocallimastix* sp. genomunun enzimatik hidrolizi sonucunda GC içeriğinin % 18, tekrarlanmayan DNA bölgelerinin GC içeriğinin ise % 13 olduğunu göstermiştir. Bu değer ise bu güne kadar açıklanan en düşük değerdir. Ayrıca Billon-Grand ve ark. (1991) farklı ekstraksiyon metotları kullanarak anaerobik fungusların GC içeriğinin % 15 (*Anaeromyces mucronatus*) ile % 22 (*Caecomyces communis*) arasında değiştiğini göstermişlerdir. Rumen funguslarının DNA'sında meydana gelen değişimlerin anaerobik ortama sahip rumendeki biyolojik mücadeleden kaynaklandığı bildirilmiştir (Brownlee, 1989). Ayrıca rumen funguslarındaki düşük GC oranı hayvanın beslenmesinde gerekli amino asitlerin sentezlenmesi için fungusu sınırlandırmakta, böylece fungusun ürettiği proteinler bu amino asitler bakımından zenginleşmektedir (Flint, 1994). Rumen funguslarının yağ asidi bileşimi de anaerobik gelişimlerini yansıtan bir göstergedir. Rumen fungusları diğer funguslardan daha yüksek düzeyde monoenoik yağ asitleri içermeleri ile ayrılmaktadır. Ayrıca yağ asitlerinin % 70'ini oleik asit (18:1) oluşturmaktadır (Orpin, 1988). Rumen fungusları çok uzun zincirli yağ asitlerinin varlığı bakımından araştırılan diğer 100 aerobik filamentli fungusdan ayrılmakla (Stahl ve Klug, 1996) birlikte rumen funguslarının kendi aralarındaki yağ asidi bileşimindeki farklılıkların taksonomik kriter olarak kullanılabilirliği de bildirilmiştir (Koppova ve ark., 2008).

### **Anaerobik Fungusların Yaşam Döngüsü**

Anaerobik fungusların yaşam döngüleri hareketli bir zoospor safhası ile hareketsiz spor kesesi içerebilen tallus safhası arasında değişmektedir (Munn ve ark., 1981). Zoosporlar bitkiye tutunduktan sonra spor kesesi ile rizoidleri içeren büyük bir vejetatif yapı (fungal tallus) meydana getirirler. Monosentrik funguslarda endojen ve eksojen olmak üzere iki farklı zoospor kesesi gelişimi görülmektedir. Nükleus çimlenen zoospor içerisinde kalır ve bu zoosporadan spor kesesi meydana gelirse endojen, nükleus zoospor dışına bir tüp veya rizomiselyum içerisinde göç eder ve orada spor kesesi meydana getirirse eksojen gelişim adı verilmektedir (Barr ve ark., 1989). Her iki monosentrik gelişimde de her tallus bir adet spor kesesine sahip olmakta ve sadece spor kesesi nükleus içermektedir. Polisentrik funguslarda genetik materyal kist oluşturmuş zoosporun dışına yani rizoidlere göç eder ve nükleer bölünmeyle her bir birey için fungusun değişik bölgelerinde birkaç tane spor kesesi şekillenir (Barr ve ark., 1989). Dolayısıyla, polisentrik funguslar çoğalmaları için zoosporlarının salınmasına ihtiyaç duymadıkları için bu fungusların zoosporları nadir olarak gözlenebilmektedir (Ho ve Bauchop, 1991). Bununla beraber polisentrik fungusların spor keseleri hifler arasında gelişirse interkalar, hiflerin uç noktasında gelişirse terminal spor kesesi olarak isimlendirilir (Ho ve ark., 1994b).

Monosentrik funguslarda zoosporlar, spor kesesinden dışarıya çıktıktan sonra genel olarak rumen sıvısında birkaç saat yüzerler ve bu arada rumendeki bitki parçalarına tutunurlar. Zoosporlar taze bitki parçalarına tutunmalarından hemen önce çoğunlukla kamçılarını kaybederler (Heath ve ark., 1986). Zoosporların salınmasını (zoosporogenez) tetikleyen birkaç faktör bulunmaktadır. Vejetatif bitki dokularında hemin (yükseltgenmiş ve indirgenmiş formlar şeklinde) ve hemoproteinler, enzimlerin prostetik grupları olarak bulunmaktadır. Bu nedenle hayvan beslediği zaman bu bileşikler rumene girmektedir. Yapılan deneyler sonucunda hayvanlar günde bir kez besledikleri zaman rumene giren "hem" zoosporogenezini tetiklemektedir. Ancak daha sık beslenen hayvanlarda bu her zaman gerçekleşmez çünkü zoosporogenez olayının çimlenmeden sonra yaklaşık 8 saat sonra gerçekleştiği bildirilmiştir (Orpin, 1977b; Orpin ve Greenwood, 1986; Orpin, 1994). Zoosporlar, vejetatif safhaya geçtikten sonra sahip oldukları nükleus pek çok kez bölünür ve yeni zoosporlar meydana gelir. Olgun bir spor kesesi 80 kadar tek nükleuslu zoospor içerebilir (Heath ve ark., 1983). Spor kesesi içerisinde zoosporların hareketi zoosporların salınması için tetikleyici rol oynayabileceği düşünülmektedir. İlk zoosporlar spor kesesinden dışarı atılırken kalan zoosporlar yüzerek veya ameboik hareketler ile spor kesesini terk eder. Zoosporun salınmasından sonra monosentrik tallus otolize uğramakta ve konak hayvan için besin kaynağı oluşturmaktadır (Lowe ve ark., 1987). *N. patriciarum*'un zoosporlarında bulunan glikojen zoosporların yüzmesini, kist oluşturmasını ve çimlenmesini kapsayan uzun zaman diliminde enerji kaynağını oluşturmaktadır (Munn ve ark., 1981). Şekil 2'de anaerobik fungusların yaşam döngüsü kısaca gösterilmiştir.



**Şekil 2.** Bir rumen fungusunun bütün hayat döngüsü. (A) döngüsü rumende gerçekleşen vejetatif safhayı, (B) döngüsü ise vejetatif büyüme için koşullar uygunsuz duruma gelince oksijene dayanıklı alternatif safhayı göstermektedir. Resimde görülen kahverengi spor keseleri kültür tüpü içerisinde fotoğraflanmış olup alternatif safhayı oluşturan kist veya spor olabileceği konusunda çeşitli görüşler mevcuttur (Davies ve ark., 1993a'dan değiştirilerek Çömlekçioğlu, 2009).

### Anaerobik Fungusların Herbivorlar Arasında Transferi

Anaerobik fungusların tükürük salgısı ve dışkıdan izole edilmelerine rağmen henüz hayvanlar arasında nasıl geçtikleri tam olarak bilinmemektedir (Lowe ve ark., 1987). İlk çalışmalar fungusların bitki materyalleri ile rumene taşındıkları yönünde idi ancak rumen fungusları bitki parçaları üzerinde uzun zaman gözlenememiştir (Bauchop, 1983). Nielsen ve ark. (1995) ise dışkıdan elde ettikleri bitki kalıntılarını 4,6-diamidino-2-phenylindole (DAPI) ile boyamak suretiyle anaerobik funguslara ait spor keselerinin varlığını göstermişlerdir. Ancak bu spor keselerinden anaerobik fungus gelişimi gözlenmemiştir (Nielsen ve ark., 1995). Bununla birlikte rumen funguslarının oksijenli ortamda birkaç saat canlılığını korumaları nedeniyle hayvanlar arasında tükürük salgısı yoluyla bulaştığı bildirilmiştir (Trinci ve ark., 1988).

Rumen fungusları ile ilgili en az bilinen hayat dönemi oksijene dayanıklı dinlenme dönemidir (Gordon ve Phillips, 1998). Alternatif yaşam döngüsünde rumen funguslarının dirençli sporları üzerine çeşitli çalışmalar mevcuttur. Malezya mandasının sindirim sisteminde gözlemlenen "warty" sporların anaerobik fungusların dirençli sporları olabileceği ileri sürülmüştür (Ho ve ark., 1988). Rumen funguslarının değişim safhasında

meydana gelen dirençli yapının melanin içeren ve artan DNA miktarı ile kalın duvarlı spor kesesi olabileceği bildirilmiştir (Wubah ve ark., 1991a). Melaninler hayvanlarda, bitkilerde ve mikroorganizmalarda bulunan koyu kahverengi-siyah renkli pigmentler olup bu pigmentler büyümek ve gelişmek için gerekli olmamakla birlikte türlerin belirli ortamlarda yaşama ve mücadele etme yeteneklerini arttırmaktadır (Bell ve Wheeler, 1986). Richardson ve ark. (1998)'nin yaptığı çalışmada ise *Neocallimastix* sp.'in pigmentli spor kesesi ile gerçekleştirilen ve melanizasyonu ortaya çıkartmak için yapılan iki farklı histokimyasal test sonucunda melanine rastlanılmamıştır. Ayrıca melanin biyosentezinin engelleyicisi ile geliştirilen RE1 suşunda kahverengi pigmentin oluştuğu gözlenmiştir (Richardson ve ark., 1998). Bununla birlikte yapılan çalışmalarda ne warty spor ne de pigmentli dirençli yapılar tekrar çimlendirilememiştir (Ho ve ark., 1988; Wubah ve ark., 1991a; Richardson ve ark., 1998). Milne ve ark. (1989)'nin dinlenme döneminde oluşan dirençli yapının dışkıdan kurumayı ile meydana geldiğini ileri sürmesine karşın, Wubah ve ark. (1991b) ise bu yapının dışkı kurumadan önce meydana geldiğini bildirmişlerdir. Anaerobik fungusların dinlenme safhasındaki yapıları henüz keşfedilmemiştir. Ancak ruminant ve tek mideli herbivorların doğada kurumuş dışkılarından anaerobik fungus izolasyonunun yapılması bu safhanın varlığını göstermektedir. Rumende dinlenme safhası görülmemektedir. Besin sindirim kanalında ilerledikçe bu safhadaki fungus sayısı artar ve dışkıda en üst düzeye ulaşır. Bu safha anaerobik fungusların doğada yayılma ve herbivorlar arasında transferini sağlayan en önemli yoldur (Davies ve ark., 1993b).

Ruminantlar koprofaik olmadıkları için dışkı yolu ile transfer olmaları pek mümkün görülmemektedir. Ancak kistlerin dışkı yolu ile suya veya besinlere karışması herbivorlar arasında geçişe neden olduğunu düşündürmektedir (Lowe ve ark., 1987; Milne ve ark., 1989). Anaerobik funguslar çevresel koşullarda dışkı içerisinde uzun süre (belirli koşullarda >82 gün) dirençli yapılarını korumaktadır. Bu süreyi etkileyen en önemli faktörün ise dışkıdan su içeriği olduğu bildirilmiştir (McGranaghan ve ark., 1999). Son olarak Brookman ve ark. (2000b), *Anaeromyces*'in eski sıvı kültürlerinde DNA içeren sporlar gözlemlenmişler ve bu sporların herbivorların midelerindeki anaerobik ortamda bir dinlenme safhası olabileceğini önermişlerdir.

### **Anaerobik Fungusların Rumen Mikroorganizmalarıyla Etkileşimi**

Anaerobik funguslar bitki hücre duvarının fermentasyonunda ortaya çıkan ürünlerin hepsini kullanamamaktadır. Rumen içerisinde ortaya çıkan ve rumen fungusları tarafından kullanılmayan ürünler diğer mikroorganizmalar tarafından kullanılmaktadır (Sijtsma ve Tan, 1996). Rumen fungusları ile metanojenik mikroorganizmalar birlikte kültüre alındıkları zaman türler arasındaki H<sub>2</sub> transferi fungal fermentasyonun profilini değiştirmektedir (Joblin, 1990). Rumen fungusunun tek kültüründe fermentasyon ürünü olarak asetat (% 72.7), karbon dioksit (%37.6), format (%83.1), etanol (%37.4), laktat (%67) ve hidrojen (%35.3) ortaya çıkarken, metanojenler ile birlikte kültüründe ise asetat (%134.7), karbon dioksit (%88.7), laktat (% 2.9), etanol (% 19) ve format (%1) ortaya çıkmış, hidrojen gözlenmemiştir. Ortamda önemli miktarda metan da bulunmuştur (%58.7) (Bauchop ve Mountfort, 1981). *Piromyces* sp. ve *Caecomyces* sp.'nin metanojenler ile birlikte kültürlerinde laktat ve etanole göre asetat üretimi ve ATP kazancı artmıştır (Marvin-Sikkema ve ark., 1990). *N. frontalis* ile *Bacteroides ruminicola*, *Succinivibrio dextrinosolvans* ve *Selenomonas ruminantium* arasında ksilan kullanımı bakımından

sinerjistik etki bulunurken, *Ruminococcus flavefaciens*'in ksilan üzerinde fungal büyümeyi durdurduğu, *Lachnospira multiparus* ve *Streptococcus bovis*'in fungusun ksilan kullanımını inhibe ettiği bilinmektedir (Williams ve ark., 1991). *Selenomonas ruminantium*, *C. communis*'in sellülaz aktivitesini arttırmış fakat *P. communis*'in sellüloolitik aktivitesini indirmişdir (Bernalier ve ark., 1991). *R. flavefaciens*, *C. communis*'in sellülaz aktivitesine etki etmezken, *N. frontalis* ve *P. communis*'in sellüloolitik aktivitesini durdurmuştur (Bernalier ve ark., 1992). *Eubacterium limosum*'un ise *N. frontalis*, *P. communis* ve *C. communis*'in sellülaz aktivitesi üzerine çok az bir etkisi olmuştur (Bernalier ve ark., 1993). *B. fibrisolvans*'in *Neocallimastix*, *Piromyces* ve *Caecomyces*'e ait 11 farklı izolatu ile yapılan birlikte kültürlerinde 6 izolatu sellülaz aktivitesinin engellendiği, 4 izolatu uyarıldığı ve 1 izolatu da etkilenmediği görülmüştür. İnhibisyonun fungus cinsine bağlı olmadığı ve kompleks bir ilişkinin olduğu bildirilmiştir (Joblin ve Naylor, 1994). *N. patriciarum* ve *Neocallimastix* sp.'nin asetojenik bakteri *Acetivomaculum ruminis* ile yapılan birlikte kültüründe ise fermentasyonun yönünün belirgin bir şekilde değişmesiyle asetat üretiminin arttığı, laktat, format, etanol, H<sub>2</sub> ve süksinat üretiminin düştüğü görülmüştür. Bu ilişki konağın daha etkili karbon kullanımını sağlamanın yanı sıra metanojen üretimini de indirmektedir (Rees ve ark., 1995). *Orpinomyces* sp., *Neocallimastix* sp. ve *Caecomyces* sp. kitinolitik bir bakteri olan *Clostridium* sp. CHK5 ile beraber mikrokristalin sellüloz (avisel) üzerinde kültüre alınmış ve bu fungusların aviseli sindirmesini, kısa zincirli yağ asiti oluşumunu ve endoglukanaz salgılanmasını önemli ölçüde baskılamıştır (Kopečný ve ark., 1996).

Rumen fibrolitik bakterilerinin, fungusların sellüloz ve lignosellüloz parçalanması üzerine etkisi cinslere ve türlere bağlı olarak değişmektedir. Örneğin *R. albus* ve *R. flavefaciens*, *N. frontalis*'in arpa samanının sindirimini düşürürken, *Fibrobacter succinogenes* sindirimi arttırmıştır. Genellikle fibrolitik bakterilerin fungal aktivite üzerine güçlü bir negatif etkisi bulunmaktadır (Joblin, 1990; Akin ve Rigsby, 1987). Bu bakteriler sahip oldukları bakteriyosinler ile fungusların gelişimini engelleyebilirler, bu da rumendeki fungus sayısının azlığını açıklayabilir (Dehority ve Tirabasso, 2000). Ayrıca bazı rumen bakterilerinin kitini hidroliz edebilme veya değiştirebilme yeteneğine sahip olması bakteri ve funguslar arasındaki ilişkiyi etkileyen önemli bir faktör olarak görülmektedir (Kopečný ve ark., 1996).

Protozoanın defaunasyonu sonucunda fungal zoosporların popülasyon yoğunluğunun 3 kat arttığı gözlenmiştir. Zoospor sayısındaki bu yükselişin protozoanın fungus zoosporları üzerine yaptığı avlanmanın azalması sonucu olduğu bildirilmiştir (Orpin, 1977c). *A. mucronatus*'un gelişiminin ilk safhalarında zoosporlarının ruminal protozoa tarafından avlanması nedeniyle fungusun büyümesi engellenmiştir. Gelişimin ileri safhalarında ise besin partiküllerine tutunmuş fungal tallusu avlayamadığı için bu aşamadan sonra protozoanın hiçbir etkisi olmamıştır (Lee ve ark., 2001).

## Sonuç

Herbivorların sindirim kanalında yaşayan anaerobik funguslar temel olarak bitkisel materyalin fermentasyonunda görev almaktadır. Bitki hücre duvarları anaerobik funguslar tarafından hızlı bir şekilde kolonize edilerek rizomiselyumları ile bitkisel materyalin fiziksel olarak kırılmasında ve böylelikle enzimatik parçalanmaya daha elverişli hale gelmesini sağlamaktadır. Bununla beraber sahip oldukları aktif polisakaridazları ile bitki



hücre duvarında bulunan yapısal polisakaritlerin parçalanmasını sağlar. Anaerobik fungusların sellüloz ve hemisellüloz sindirimindeki katılımlar konak hayvan için bu mikroorganizmaların en önemli rolü olarak görülmektedir. Ancak kompleks rumen mikrobiyal ekosistemi içerisinde anaerobik funguslar hakkında aydınlatılmayı bekleyen pek çok konu bulunmaktadır. Çeşitli ülkelerde klasik metotlar kullanılarak rumen funguslarının izolasyon çalışmaları yürütülmüştür (Barr ve ark., 1995; Ho ve ark., 1996; Çömlekçioğlu ve ark., 2008). Bu metotların yanı sıra moleküler teknikler de kullanılarak rumen fungal popülasyonunun daha etkin bir şekilde izlenmesi mümkündür. Rumen funguslarının farklı hayvanlardaki varlığı ve popülasyon büyüklükleri 18S rDNA ve 5.8S rDNA genleri arasında yer alan ITS1 bölgesine özel primerler ile “Real Time PCR” yöntemi kullanılarak ortaya çıkartılabilir (Denman ve McSweeney, 2006; Lockhart ve ark., 2006). Bu ilginç mikroorganizmaların pek çok farklı hayvandan gerek klasik gerek moleküler yöntemler ile izolasyonlarının devam etmesi yeni türler bulunabilmesi açısından önem arz etmektedir. Anaerobik funguslar üzerine yapılacak araştırmalar ile bu mikroorganizmaların daha geniş spektrum içerisinde incelenmesi özellikle ruminant hayvanların beslenmesindeki etkinliğin artırılarak ülkemizin tarım ekonomisine katkıda bulunacaktır.

### **Kaynaklar**

- Akin, D.E. and Rigsby, L.L. 1987. Mixed fungal populations and lignocellulose tissue degradation in the bovine rumen. *Appl. Environ. Microbiol.* 53: 1987–1995.
- Barr, D.J.S., 1988. How modern systematic relates to the rumen fungi. *BioSystems* 21: 351-356.
- Barr, D.J.S., Kudo, H., Jakober, K.D. and Cheng, K.-J., 1989. Morphology and development of rumen fungi: *Neocallimastix* sp. *Piromyces communis* and *Orpinomyces bovis* gen. nov., sp. nov. *Can. J. Bot.* 67: 2815-2824.
- Barr, D.J.S., Yanke, L.J., Bae, H.D., McAllister, T.A. and Cheng, K.-J., 1995. Contributions on the morphology and taxonomy of some rumen fungi from Canada. *Mycotaxon* LIV: 203-214.
- Bauchop, T. and Mounfort, D.O., 1981. Cellulose fermentation by a rumen anaerobic fungus in both the absence and presence of rumen methanogens. *Appl. Environ. Microbiol.* 42: 1103-1110.
- Bauchop, T., 1983. The gut anaerobic fungi: Colonizers of dietary fibre. In *Fibre in Human and Animal Nutrition*. (edt. G. Wallace and L. Bell). Royal Society of New Zealand, Wellington, p. 143-148.
- Bell, A.A. and Wheeler, M.H., 1986. Biosynthesis and functions of fungal melanins. *Ann. Rev. Phytopathol.* 24: 411-451.
- Bernalier, A., Fonty, G. and Gouet, Ph., 1991. Cellulase degradation by two rumen anaerobic fungi in monoculture or in coculture with rumen bacteria. *Anim. Feed Sci. Technol.* 32: 131-136.
- Bernalier, A., Fonty, G. and Gouet, Ph. 1992. Degradation and fermentation of cellulose by the rumen anaerobic fungi in axenic cultures or in association with cellulolytic bacteria. *Curr. Microbiol.* 25: 143-149.

- Bernalier, A., Fonty, G., Bonnemoy, F. and Gouet, Ph., 1993. Inhibition of cellulolytic activity of *Neocallimastix frontalis* by *Ruminococcus flavefaciens*. *J. Gen. Microbiol.* 139: 873-880.
- Billon-Grand, G., Fio, J.B., Breton, A., Bruyere, A. and Oulhaj, Z., 1991. DNA of some anaerobic fungi: G+C content determination. *FEMS Microbiol. Lett.* 82: 267-270.
- Braune, R., 1913. Untersuchungen uber die in Wiederkauermayen vorkommenden Protozoen. *Arch. Protistenk.* 32: 111-170.
- Brookman, J.L., Ozkose, E., Rogers, S., Trinci, A.P.J. and Theodorou, M.K., 2000a. Identification of spores in the polycentric anaerobic gut fungi which enhance their ability to survive. *FEMS Microbiol. Ecol.* 31: 261-267.
- Brookman, J.L., Ozkose, E., Rogers, S., Trinci, A.P.J. and Theodorou, M.K., 2000b. Identification of spores in the polycentric anaerobic gut fungi which enhance their ability to survive. *FEMS Microbiol. Ecol.* 31: 261-267.
- Brownlee, A.G., 1989. Remarkably AT-rich genomic DNA from the anaerobic fungus *Neocallimastix*. *Nucleic Acids Res.* 4: 1327-1335.
- Chen, Y.C., Hseu, R.S. and Chien, C.Y., 2002. *Piromyces polycephalus* (*Neocallimastigaceae*), a new rumen fungus. *Nova Hedwigia* 75: 409-414.
- Chen, Y.C, Tsai, S.D. and Cheng, H.L., 2007. *Caecomycetes sympodialis* sp. nov., a new rumen fungus isolated from *Bos indicus*. *Mycologia*, 99(1): 125-130.
- Çömlekçiöğlü, U., Akyol, İ., Kar, B., Özköse, E. ve Ekinci, M.S., 2008. Anaerobik rumen funguslarının izolasyonu, tanımlanması ve kültür koleksiyonunun oluşturulması. *Hayvansal Üretim*, 49(2): 29-35.
- Çömlekçiöğlü, 2009. Rumen funguslarının izolasyonu ve bu funguslara ait enzim genleri üzerine moleküler çalışmalar. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Doktora Tezi.
- Davies, D.R., Theodorou, M.K., Lawrence, M.I. and Trinci, A.P.J., 1993a. Distribution of anaerobic fungi in the digestive tract of cattle and their survival in faeces. *J. Gen. Microbiol.* 139: 1395-1400.
- Davies, D.R., Theodorou, M.K., Brooks, A.E. and Trinci, A.P.J., 1993b. Influence of drying on the survival of anaerobic fungi in rumen digesta and faeces of cattle. *FEMS Microbiol. Lett.* 106: 59-64.
- Dehority, B.A. and Tirabasso, P.A., 2000. Antibiosis between ruminal bacteria and ruminal fungi. *Appl. Environ. Microbiol.*, 66(7): 2921–2927
- Denman, S.E. and McSweeney, C.S, 2006. Development of a real-time PCR assay for monitoring anaerobic fungal and cellulolytic bacterial populations within the rumen. *FEMS Microbiol Ecol.* 58: 572–582.
- Dore, J. and Stahl, D. A., 1991. Phylogeny of anaerobic rumen Chytridiomycetes inferred from small subunit ribosomal RNA sequence comparison. *Can. J. Bot.* 69: 1964-1971.
- Flint, H.J., 1994. Molecular genetics of obligate anaerobes from the rumen. *FEMS Microbiol. Lett.* 121, 259-268.
- Foster, J.W. 1949. Chemical activities of the fungi. Academic Press, New York.

- Gordon, G.L.R. and Phillips, M.W., 1998. The role of anaerobic gut fungi in ruminants. *Nutr. Res. Rev.* 11: 133-168.
- Heath, I.B., Bauchop, T. and Skipp, R.A., 1983. Assignment of the rumen anaerobe *Neocallimastix frontalis* to the Spizellomycetales (Chytridiomycetes) on the basis of its polyflagellate zoospore ultrastructure. *Can. J. Bot.* 61: 295-307.
- Heath, I.B., Kaminskyj, S.G.W. and Bauchop, T., 1986. Basal body loss during fungal zoospore encystment: evidence against centriole autonomy. *J. Cell. Sci.* 83: 135-140.
- Heath, I.B., 1988. Recommendation for future taxonomic studies of gut fungi. *Biosystems.* 21: 417-418.
- Hibbett, D.S., Binder, M., Bischoff, J.F., Blackwell, M., Cannon, P.F., Eriksson, O.E., Huhndorf, S., James, T., Kirk, P.M., Lücking, R., Lumbsch, H.T., Lutzoni, F., Matheny, P.B., McLaughlin, D.J., Powell, M.J., Redhead, S., Schoch, C.L., Spatafora, J.W., Stalpers, J.A., Vilgalys, R., Aime, M.C., Aptroot, A., Bauer, R., Begerow, D., Benny, G.L., Castlebury, L.A., Crous, P.W., Dai, Y.-C., Gams, W., Geiser, D.M., Griffith, G.W., Gueidan, C., Hawksworth, D.L., Hestmark, G., Hosaka, K., Humber, R.A., Hyde, K.D., Ironside, J.E., Kõljalg, U., Kurtzman, C.P., Larsson, K.-H., Lichtwardt, R., Longcore, J., Miadlikowska, J., Miller, A., Moncalvo, J.-M., Mozley-Standridge, S., Oberwinkler, F., Parmasto, E., Reeb, V., Rogers, J.D., Roux, C., Ryarden, L., Sampaio, J.P., Schüßler, A., Sugiyama, J., Thorn, R.G., Tibell, L., Untereiner, W.A., Walker, C., Wang, Z., Weir, A., Weiss, M., White, M.M., Winka, K., Yao, Y.-J. and Zhang, N. 2007. A higher-level phylogenetic classification of the Fungi. *Mycol. Res.* 111: 509-547.
- Ho, Y.W., Abdullah, N. and Jalaludin, S., 1988. Penetrating structures of anaerobic rumen fungi in cattle and swamp buffalo. *J. Gen. Microbiol.* 134: 177-182.
- Ho, Y.W., and Bauchop, T., 1991. Morphology of three polycentric rumen fungi and a description of the procedure for the induction of zoosporogenesis and release of zoospores in culture. *J. Gen. Microbiol.* 137: 213-217.
- Ho, Y. W., Khoo, I. Y. S., Tan, S. G., Abdullah, N., Jalaludin, S. and Kudo, H., 1994a. Isoenzyme analysis of anaerobic rumen fungi and their relationship to aerobic chytrids. *Microbiology* 140: 1495-1504.
- Ho, Y.W., Abdullah, N. and Jalaludin, S., 1994b. *Orpinomyces intercalaris*, a new species of polycentric anaerobic rumen fungus from cattle. *Mycotaxon.* 50: 139-150.
- Ho, Y.W. and Barr, D.J.S., 1995. Classification of anaerobic fungi from herbivores with emphasis on rumen fungi from Malaysia. *Mycol.* 87: 655-677.
- Ho, Y.W., Wong, M.V.L., Abdullah, N., Kudo, H. and Jalaludin, S., 1996. Fermentation activities of some new species of anaerobic rumen fungi from Malaysia. *J. Gen. Microbiol.* 42: 51-59.
- Itabashi, H. 2004. Recent topics in rumen microbiology with particular reference to animal production in Japan. *Microbes Environment*, 19(4): 270-275.
- James, T.Y., Porter, D., Leander, C. A., Vilgalys, R. and Longcore, J.E., 2000. Molecular phylogenetics of the chytridiomycota supports the utility of ultrastructural data in chytrid systematics. *Can. J. Bot.* 78: 336-350.

- James, T.Y., Letcher, P.M., Longcore, J.E., Mozley-Standridge, S.E., Porter, D., Powell, M.J., Griffith, G.W. and Vilgalys, R., 2006. A molecular phylogeny of the flagellated fungi (Chytridiomycota) and a proposal for a new phylum (Blastocladiomycota). *Mycologia* 98: 860–871.
- Joblin, K. N., 1990. Bacterial and protozoal interactions with ruminal fungi. Microbial and plant opportunities to improve lignocellulose utilization by ruminants. Ed. D.E. Akin, L.G. Ljungdahl, J.R. Wilson, P.J. Harris. Elsevier Science Publishing Co: 311-324.
- Joblin, K.N. and Naylor, G.E., 1994. Effects of *Butyrivibrio fibrisolvens* on gut anaerobic fungi. *Proc. Nutr. Soc.* 3: 171.
- Kamra, D.N. 2005. Rumen microbial ecosystem. *Current Science*, 89 (1): 124-135.
- Kopečný, J., Hodrova, B. and Stewart, C.S., 1996. The isolation and characterization of a rumen chitinolytic bacterium. *Lett. Appl. Microbiol.* 23: 195-198.
- Koppova, I., Novotna, Z., Strosova, L. and Fliegerova, K., 2008. Analysis of fatty acid composition of anaerobic rumen fungi. *Folia Microbiol.* 53: 217-220.
- Lee, S.S., Ha, J.K. and Cheng, K.J., 2001. The effects of sequential inoculation of mixed rumen protozoa on the degradation of orchard grass cell walls by anaerobic fungus *Anaeromyces mucronatus* 543. *Can. J. Microbiol.* 47: 754-760.
- Li, J. and Heath, I.B., 1992. The phylogenetic relationships of the anaerobic chytridiomycetous gut fungi (Neocallimasticaceae) and the chytridiomycota. I. Cladistic analysis of rRNA sequences. *Can. J. Bot.* 70: 1738-1746.
- Li, J., Heath, I.B. and Packer, L., 1993. The phylogenetic relationships of the anaerobic chytridiomycetous gut fungi (Neocallimasticaceae) and the chytridiomycota. II. Cladistic analysis of structural data and description of the Neocallimasticales ord. nov. *Can. J. Bot.* 71: 393-407.
- Liebetanz, E., 1910. Die parasitischen protozoen des wiederkauermagens. *Arch. Protistenk.* 19:19-80.
- Lockhart, R.J., Van Dyke, M.I., Beadle, I.R., Humphreys, P. and McCarthy, A.J., 2006. Molecular biological detection of anaerobic gut fungi (Neocallimastigales) from landfill sites. *Appl. Environ. Microbiol.* 72(8): 5659-5661.
- Lowe, S.E., Theodorou, M.K. and Trinci, A.P.J., 1987. Isolation of anaerobic fungi from saliva and faeces of sheep. *J. Gen. Microbiol.* 133: 1829-1834.
- Marvin-Sikkema, F.D., Rees, E., Kraak, M.N., Gottschal, J.C. and Prins, R.A., 1993. Influence of metronidazole, CO, CO<sub>2</sub>, and methanogens on the fermentative metabolism of the anaerobic fungus *Neocallimastix* sp. strain L2. *Appl. Environ. Microbiol.* 59(8): 2678-2683.
- McGranaghan, P., Davies, J.C., Griffith, G.W., Davies, D.R. and Theodorou, M.K., 1999. The survival of anaerobic fungi in cattle faeces. *FEMS Microbiol. Ecol.* 29: 293-300.
- Milne, A., Theodorou, M.K., Jordan, M.G.J., King-Spooner, C. and Trinci, A.P.J., 1989. Survival of anaerobic fungi in faeces, in saliva and in pure culture. *Exp. Mycol.* 13: 27-37.
- Munn, E.A., Orpin, C.G. and Hall, F.J., 1981. Ultrastructural studies of the free zoospore of the rumen phycomycete *Neocallimastix frontalis*. *J. Gen. Microbiol.* 125: 311-323.

- Munn, E.A., 1994. The ultrastructure of anaerobic fungi. *Anaerobic Fungi*, Ed. Mountfort D.O., Orpin C.G., Marcel Dekker, Inc., New York: 47-105.
- Nielsen, B.B., Zhu, W.Y., Trinci, A.P.J. and Theodorou, M.K., 1995. Demonstration of zoosporangia of anaerobic fungi on plant residues recovered from faeces of cattle. *Mycol. Res.* 99(4): 471-474.
- Orpin, C.G., 1974. The rumen flagellates *Callimastix frontalis* and *Monas communis*-zoospores of phycomycete fungi. *J. Appl. Bacteriol.* 37: IX-X.
- Orpin, C.G., 1975. Studies on the rumen flagellate *Neocallimastix frontalis*. *J. Gen. Microbiol.* 91:249-262.
- Orpin, C.G., 1977a. The occurrence of chitin in the cell walls of rumen organisms *Neocallimastix frontalis*, *Piromonas communis*, and *Sphaeromonas communis*. *J. Gen. Microbiol.* 99: 215-218.
- Orpin, C.G., 1977b. On the induction of zoosporogenesis in the rumen phycomycetes *Neocallimastix frontalis*, *Piromonas communis* and *Sphaeromonas communis*. *J. Gen. Microbiol.* 101: 181-189.
- Orpin, C.G., 1977c. Studies on the defaunation of the ovine rumen using dioctyl sodium sulphosuccinate. *J. Appl. Bacteriol.* 43: 309-318.
- Orpin, C.G. and Greenwood, Y., 1986. The role of haems and related compounds in the nutrition and zoosporogenesis of the rumen chytridiomycete *Neocallimastix frontalis* H8. *J. Gen. Microbiol.* 132: 2179-2185.
- Orpin, C.G., 1988. Nutrition and biochemistry of anaerobic Chytridiomycetes. *Biosystems*, 21: 365-370.
- Orpin, C.G., 1994. *Anaerobic fungi: taxonomy, biology and distribution in nature. The Anaerobic Fungi.* (edt. C.G. Orpin ve D.O. Mountfort). Marcel Dekker, New York: 1-47.
- Ozkose, E., 2001. Morphology and molecular ecology of rumen fungi. PhD thesis, University of Wales, Aberystwyth, UK
- Ozkose, E., Thomas, B.J., Davies, D.R., Griffith, G.W. and Theodorou, M.K., 2001. *Cyllamyces aberensis* gen. nov. sp. nov., a new anaerobic gut fungus with branched sporangiophores isolated from cattle. *Can. J. Bot.* 79: 666-673.
- Özköse, E., Ekinci, M.S. ve Akyol, İ., 2003. Biyoteknolojik Potansiyel Olarak Anaerobik Funguslar: Kültüre Alınmaları ve Morfolojileri. *KSU Fen ve Mühendislik Dergisi*, 6(1): 129-139.
- Rees, E.M.R., Lloyd, D. and Williams, A.G., 1995. The effects of co-cultivation with the acetogen *Acetivomaculum ruminis* on the fermentative metabolism of the rumen fungi *Neocallimastix patriciarum* and *Neocallimastix* strain L2. *FEMS Microbiol. Lett.*, 133, 175-180.
- Richardson, A.J., Stewart, C.S. and Gooday, G.W., 1998. Attachment to cellulose and maturation of attached thalli in the anaerobic rumen fungus *Neocallimastix frontalis* strain RE1. *Mycol. Res.* 102: 1119-1125.

- Sijtsma, L. and Tan, B., 1996. Degradation of perennial ryegrass leaf and stem cell walls by the anaerobic fungus *Neocallimastix* sp. strain CS3b. *Appl. Environ. Microbiol.* 62(4): 1437–1440.
- Stahl, P.D. and Klug, M.J., 1996. Characterization and differentiation of filamentous fungi based on fatty acid composition. *Appl. Environ. Microbiol.* 62(11): 4136-4146.
- Trinci, A.P.J., Lowe, S.E., Milne, A. and Theodorou, M.K., 1988. Growth and survival of rumen fungi. *Biosystems*, 21: 357-363.
- Webb, J. and Theodorou, M.K., 1988. A rumen anaerobic fungus of the genus *Neocallimastix*: ultrastructure of the polyflagellate zoospore and young thallus. *BioSystems* 21: 393-401.
- Weimer, J.P., 1998. Manipulating ruminal fermentation: A microbial ecological perspective. *J. Animal Science*, 76: 3114–3122.
- Williams, A.G., Withers, S.E. and Joblin, K.N., 1991. Xylanolysis by cocultures of the rumen fungus *Neocallimastix frontalis* and ruminal bacteria. *Lett. Appl. Microbiol.* 12: 232-235.
- Wubah, D.A., Fuller, M.S. and Akin, D.E., 1991a. Resistant body formation in *Neocallimastix* sp., an anaerobic fungus from the rumen of the cow. *Mycologia* 83: 40-47.
- Wubah, D.A., Fuller, M.S. and Akin, D.E., 1991b. Isolation of monocentric and polycentric fungi from the rumen and feces of cows in Georgia. *Can. J. Bot.* 69: 1232-1236.
- Yarlett, N.C., Yarlett, N., Orpin, C.G. and Lloyd, D., 1986. Cryopreservation of the anaerobic fungus *Neocallimastix patriciarum*. *Lett. Appl. Microbiol.* 3: 1-3.