Archive of SID

در
زراعت و باغبانی شماره ۷۹، تابستان ۱۳۸۷
پژوهش و سازندگی

بررسی خواص ضد میکروبی استرپتومیسس‌ها و قارچ‌های جدا شده از خاک‌های جنگل آمل و مناطق بیابانی کهریزک و حسن آباد خالصه

• **نیکتا بابائی**
فوق لیسانس میکروبیولوژی
• **فریدون ملک زاده**
عضو هیأت علمی بازنشسته دانشگاه تهران،دانشکده علوم پایه
• **مسعود امامی**
عضو هیأت علمی بازنشسته دانشگاه تهران، دانشکده بهداشت
• **مونا بابائی**
کارشناس مهندسی کشاورزی گرایش ترویج و آموزش کشاورزی
تاریخ دریافت: مرداد ماه ۱۳۸۵ تاریخ پذیرش: مهر ماه ۱۳۸۵
Email:Bnikta2000@yahoo.com

چکیده

امروزه تعداد بیشـماری از میکروب‌ها به انواع آنتی بیوتیک‌ها مقاوم شده‌اند و این مسئله باعث پیچیدگی درمان بیماریهای عفونی می‌شـود. موضوع این تحقیق جداسازی میکروارگانیسـم‌های تولیدکننده آنتی بیوتیک از خاک‌های مناطق بومی ایران بود. در این مطالعه نمونه‌های مختلف خاک از مناطق جنگلی جنگل آمل وخاک مناطق بیابانی کهریزک و حسـن آباد خالصه انتخاب شـد و در محیط‌های نوترین آگار و سابورودکستروز آگارکشـت داده شـد و سپس نمونه‌هایی خالص شدند. برای بررسی فعالیت ضد میکروبی میکروارگانیسـم‌ها علیـه باکتری‌ها، چهـار باکتری گرم مثبت وچهـار باکتری گرم منفی انتخاب شـدند. نتایج نشـان داد که تنها استرپتومیسس‌های جداشده از مناطق بیابانی، دارای فعالیت‌های ضدباکتریایی بودند. در مرحله بعد تاثیر پارامترهای اکولوژیکی (دما – pH منابع کربن- نیتروژن) بر روی فعالیت ضد میکروبی مطالعه شـد. نتایج نشـان داد که مناسب‌ترین و اپتیمم شرایط برای فعالیت ضد میکروبی به قرار زیر است:pH برابر ۷/۲ – ۶/۹، منابع کربن گلوکز و لاکتوز هر کدام به میزان ۱۰ گرم در لیتر دمای ۳۶-۳۳ درجه سانتی‌گراد و سولفات آمونیوم به میزان ۱۰ گرم در لیتر و نیز اسیدهای آمینه متیونین و تریپتوفان هر کدام به میزان۱گرم در لیتر به عنوان منابع نیتروژن.این عوامل می‌توانند باعث افزایش و سرعت دهی فعالیت ضدباکتریایی شوند. ما همچنین دریافتیم که حساسـیت باکتریهای گرم مثبت نسـبت به فعالیت ضدباکتریایی استرپتومیسس‌های جداشده از خاک در مقایسه با باکتریهای گرم منفی، بیشتر بود.

کلمات کلیدی: خواص ضد میکروبی، استرپتومیسس‌ها، قارچ‌ها، خاک

www.SID.ir

Archive of SID

Pajouhesh & Sazandegi No:79 pp: 119-124

Study of antimicrobial effects of isolated streptomyces and fungi from Amol forest & Kahrizak and Hassan abad khalese deserts soil

By: N. Babaee, Microbiologist (MSc.), Azad University of Tehran
Malekzadeh F. Professor of Tehran University
Emami M. Professor of Tehran University
Babaee M. Azad University, Garmsar

Nowadays most of the pathogenic microbs are resistant to many kind of antibiotics and make complication in treatment of infections diseases. The objective of this research was to isolate microorganisms which produce antimicrobial substances, from soils in Iran. In this study various soil samples were collected (Amol forest , Kahrizak , Hassan Abad Khalese desert) and were cultured on nutrient agar and saboroud dextrose agar and the patent isolates were purified. Four gram positive and gram negative bacteria were used to investigate the antimicrobial activities against them. The results showed that the only streptomycess exhibited antibacterial activities. In the next step the effects of some ecological parameters (temperature , pH , carbon and nitrogen sources) were studied on the antimicrobial activity. The results obtained showed that the optimized conditions for the antimicrobial activities were as follow: Temperature 33 - 36 °C , pH= 6.9 - 7.2 , carbon sources (glucose and lactose 10 g / l) amonium sulphate (10 g / l) and amino acids (Methionin and tryptophane as the nitrogen source 1 g / l). They can increase and accelerate the antibacterial activity. We also found that the gram positive bacteria were more sensitive than the gram negative bacteria.

Key words: Antimicrobial , Streptomyces , Fungi , Soil

مقدمه

خاک محیطی غنی بوده و حاوی میکروارگانیسم‌هایی از جمله قارچها، باکتری‌ها و استرپتومیسس‌هایی است که در تولید آنتی بیوتیک‌ها نقش دارند.بسیاری از آنتی بیوتیک‌ها از این ارگانیسم‌های بومی‌خاک بدست می‌آید(۱، ۱۲).

آنتی بیوتیک‌ها موادی هستند که از میکروارگانیسم‌ها بدست می‌آید و قادر به مهار رشد و یا از بین بردن میکروارگانیسم‌های دیگر به خصوص باکتری‌ها هستند. یکی از پیشگامان دانش آنتی بیوتیکی مدرن لوئی پاستور بود. وی در قرن ۱۹ دریافت که بعضی از سویه‌های میکروارگانیسم‌ها قادر به کشتن سایر میکروارگانیسم‌ها هستند(۸). پنی سیلین اولین آنتی بیوتیکی بود که بیشترین طیف اثر را داشت و توسط الکساندر فلمینگ در سال ۱۹۲۹ از قارچ *Penicillium notatum* بدست آورده شد. پس از کشف مهم پنی سیلین واکسمن در سال ۱۹۴۳ استرپتومایسین را از استرپتومیسس بدست آورد. با گذشت زمان به علت پیدایش مقاومت دارویی درباکتری‌ها تاثیر آنتی بیوتیک‌ها برروی باکتری‌ها روز به روز کمتر شده و درمان بیماریهای عفونی مشکل ساز شد. درنتیجه تلاش دانشمندان کشف و تولید آنتی بیوتیک‌های جدید بوده تا بتوان علیه سویه‌های مقاوم به آنتی بیوتیک‌ها مبارزه کرده و بتوان بیماری‌های عفونی را بهتر وسریع‌تر درمان کرد. در راستای تحقق این هدف Silva و همکاران از *Penicillium corylophilum* dierckx آنتی بیوتیک جداکرد که علیه باکتری‌های *Staauveus* و *Micrococcus Leutaus* خاصیت ضد میکروبی داشت(۱۳).

Brandi و همکاران در سال ۲۰۰۶ سویه‌ای از استرپتومیسس را از خاک جدا کردند که خاصیت ضد باکتریایی و مهار رشد باکتری‌ها را داشت(۳).

Busti در سال ۲۰۰۶ در کشور ایتالیا اکتینومسیت جدیدی از نمونه‌های خاک را پیدا کرد که خاصیت ضدمیکروبی و آنتی بیوتیکی داشت(۴). در ادامه کارها و مطالعات انجام شده توسط سایر دانشمندان هدف از این تحقیق و مطالعه نیز کشف آنتی بیوتیک‌ها و داروهای ضد میکروبی جدید از میکروارگانیسم‌های خاک‌های مناطق بومی ایران بوده تا مواد ضد میکروبی جدیدی را از خاک‌های بومی ایران بتوان بدست آورد چراکه امروزه صرفه اقتصادی یکی از شروط اصلی و اساسی می‌باشد. در مرحله دیگر این مطالعه برای تولید بیشتر و بهتر مواد ضد میکروبی از میکروارگانیسم‌های خاکزی، تاثیر پارامترها و عوامل محیطی و اکولوژیکی در روند میزان فعالیت ضد میکروبی میکروارگانیسم‌های جدا شده از خاک بررسی شد تا مشخص شودکه آیا با تغییرات محیطی و اکولوژیکی می‌توان میزان فعالیت و تولید مواد ضد میکروبی را افزایش داد یا خیر؟

مواد وروش‌ها

۱) نمونه برداری از خاک جنگل آمل و منطقه حسن آباد خالصه و کهریزک.

۲) غربالگری و جداسازی: تهیه رقت‌های سریالی و کشت برروی محیط‌های نوترین آگار، سابورودکستروز آگار و Soil agar و انکوبه شدن در دمای ۲۸-۲۵ درجه سانتی گراد به مدت یک هفته.

۳) خالص سازی: پاساژ کشت کلنیهای ظاهر شده قارچها و استرپتومیسس‌ها بر روی محیط‌های ذکر شده در دمای ۲۸-۲۵ درجه سانتی گراد به مدت یک هفته.

۴) بررسی خواص ضد میکروبی و تولید آنتی بیوتیک حاصل از قارچها و استرپتومیسس‌های خالص شده بر روی

چهار باکتری گرم مثبت (دو نوع استرپتوکوکوس، *Bacillus subtilis*، *Corynebacterium diphteriae*) و چهار نوع باکتری گرم منفی (پروتئوس، شیگلا، سالمونلا، *E.coli*) انتخاب شده به پنج روش

www.SID.ir

Archive of SID

کشت داده شدند که عبارت بودند از:

الف) روش شیاری: که درگوشه‌ای از پلیت به کمک اسکالپل استریل شیاری از بین ژلوز محیط ایجاد کرده سپس هر کدام از سوسپانسیون‌های قارچها و یا استرپتومیسس‌های کشف شده از مناطق جنگل و یا بیابان را درون هر شیار به طور جداگانه ریخته و سپس عمود بر این شیار و نزدیک آن باکتری‌ها به طور خطی و صاف کشت داده شد.

ب) روش چاهک گذاری: همانند روش شیاری بوده با این تفاوت که تنها در سطح پلیت سوسپانسیون هر باکتری به طور جداگانه کشت داده شده و داخل چاهکهای کنده شده در سطح پلیت نیز سوسپانسیون هر قارچ و یا هر استرپتومیسس کشف شده، ریخته شد.

ج) روش کشت خطی: در گوشه‌ای از پلیت‌ها قطعه‌ای از کلنی قارچها و استرپتومیس‌های خالص یافت شده، به طور خطی کشت داده و سپس عمود بر این خط و نزدیک به آن باکتری‌های انتخاب شده به طور خطی کشت داده شدند.

د) روش دیسک گذاری: همانند روش چاهک گذاری است با این تفاوت که به جای چاهک، دیسک‌های آغشته به سوسپانسیون قارچها و استرپتومیس‌های یافت شده، در روی سطح محیطی که توسط سوسپانسیون باکتری‌ها کشت داده شده بود، قرار داده شد.

ه) روش کشت نقطه‌ای: همانند روش کشت دیسک گذاری است با این تفاوت که به جای دیسک آغشته به سوسپانسیون قارچها و استرپتومیس‌ها، تکه‌ای از کلنی قارچها و استرپتومیس‌ها همراه با تکه‌ای از ژلوز محیط کشت را برروی سطح محیط کشتی که توسط سوسپانسیون باکتری‌های انتخاب شده نام برده، کشت داده شده بود، قرار داده شد.

در تمامی این پنج روش محیط‌های کشت زیر استفاده شدند که عبارت بودند از:

نوترین براث – نوترین براث همراه با اسید لاکتیک۲٪ - سابورو دکستروز براث – پوتیتو دکستروز براث – نوترین آگار – نوترین آگارهمراه با اسید لاکتیک ۲٪ - سابورودکستروز آگار – پوتیتو دکستروزآگار – مولر هینتون آگار – تریپتوکیز سوی آگار – نوترین آگار همراه با نمک کلرید کلسیم.

۵) تاثیر عوامل و پارامترهای محیطی بر روی میزان فعالیت ضد میکروبی:

در این مرحله میکروارگانیسم‌هایی که خاصیت ضد میکروبی بیشتری از خود نشان دادند یعنی استرپتومیس‌ها انتخاب شدند. سپس تاثیر پارامترهای محیطی از جمله دما – اسیدیته – منبع کربن – منبع ازت و اسیدهای آمینه یکبار به تنهایی و یکبار همه پارامترها با هم برروی میزان فعالیت و خاصیت ضد میکروبی استرپتومیس‌ها بررسی شد. در مورد دما سه دمای ۳۰-۲۹، ۳۳-۳۲/۵ و ۳۷-۳۶ درجه سانتی گراد انتخاب شد و در مورد اسیدیته نیز سه نوع خنثی ۷/۲ – ۶/۹، اسیدی ۴/۶ و قلیایی ۸/۶ در نظر گرفته شد. قندهای گلوکز و لاکتوز به عنوان منبع کربن و سولفات آمونیوم و اسید آمینه متیونین و تریپتوفان نیز به عنوان منبع ازت بکار برده شدند.

۶) بررسی میزان رشد با میزان تولید آنتی بیوتیک در استرپتومیس‌ها به کمک دستگاه اسپکتروفتومتر:

در این مرحله استرپتومیس‌ها که نسبت به قارچها بیشترین فعالیت ضد میکروبی داشتند انتخاب شدند. از بین استرپتومیس‌ها نیز استرپتومیسی که بیشترین میزان فعالیت ضد میکروبی را داشت انتخاب شد و در دو وضعیت کشت داده شد یک وضعیت قبل از تغییر پارامترهای محیطی بود و وضعیت دیگر بعد از تغییر پارامترهای محیطی بود. برای این کار سه نوع محیط کشت مایع در نظر گرفته شد که عبارت بودند از:

۱) نوترین براث + نمک کلرید کلسیم (۱ گرم در لیتر)

۲) نوترین براث + نمک کلرید کلسیم (۱ گرم در لیتر) + قند لاکتوز (۱۰ گرم در لیتر) + سولفات آمونیوم (۱۰ گرم در لیتر)

۳) نوترین براث + نمک کلرید کلسیم (۱ گرم در لیتر) + قند گلوکز (۱۰ گرم در لیتر) + سولفات آمونیوم (۱۰ گرم در لیتر)

استرپتومیس‌ها درتمام این سه محیط کشت داده شدند. در مرحله بعد به کمک دستگاه اسپکتروفتومتر و با طول موج ۵۷۰ نانومتر منحنی رشد هر استرپتومیس به فاصله هر ۴ ساعت یکبار و در دمای ۳۳-۳۲/۵ درجه سانتی گراد که بهترین دما برای فعالیت ضد میکروبی و تولید آنتی بیوتیک توسط استرپتومیس‌ها بود، رسم شد به علاوه اینکه در هر فازی از منحنی رشد فعالیت ضد میکروبی استرپتومیس‌ها نیز تعیین شد.

نتایج و بحث

از مقایسه دو اکوسیستم جنگل و بیابان مشخص شد که قارچهای اکوسیستم جنگل از تنوع بیشتری نسبت به قارچهای اکوسیستم بیابان برخوردار بوده و نیز استرپتومیس‌ها تنها از اکوسیستم بیابان جدا شد. از اکوسیستم جنگل قارچهای پنی سیلیوم – آسپرژیلوس – موکور – ریزوپوس – ائوروبازیدیوم جدا شد و از اکوسیستم بیابان نیز قارچهای پنی سیلیوم – آسپرژیلوس – موکور – ریزوپوس وباکتری‌هایی از جمله باسیلوس‌ها و استرپتومیس‌ها جدا شد. در این تحقیق استرپتومیس‌ها تنها در حد جنس مشخص شدند و تعیین گونه‌های آن در کشور عزیزمان، ایران، مقدور نبوده و در خارج از کشور نیز برای تعیین هر گونه مبلغ چهار هزار دلار هزینه داشت که تامین آن نیز مقدور نبوده، لذا ۶ نوع استرپتومیس جدا شده از ناحیه بیابان تنها در حد جنس و با ذکر شماره مشخص شد و نامگذاری گونه‌های آن با مشکلات نام برده شده روبرو بود و درنتیجه شناسایی استرپتومیس‌های جداشده در حد جنس بسنده شد..

بررسی خواص ضد میکروبی قارچها و استرپتومیس‌ها

در روش شیاری، روش چاهک گذاری و روش دیسک گذاری، از بین تمامی محیطهای کشت بکار برده شده، باکتری‌ها تنها بر روی محیط‌های نوترین آگار – مولر هینتون آگار – تریپتوکیزسوی آگار و نوترین آگار همراه با نمک کلرید کلسیم قادر به رشد بودند و از بین محیطهای کشت مایع بکار برده شده، محیط نوترین براث همراه با اسید لاکتیک ۲٪ بیشترین تاثیر را بر روی باکتری‌ها داشت ولی این مسئله به علت حضور اسیدلاکتیک ۲درصد در محیط بود که باعث از بین رفتن باکتری‌ها می‌شد و هیچ ارتباطی به خاصیت ضد میکروبی قارچها و استرپتومیس‌ها نداشت. از بین چهار محیط کشتی که باکتری‌ها برروی آن رشد خوبی داشتند، محیط نوترین آگار همراه با نمک کلرید کلسیم بهترین نتیجه را در برداشت. در

www.SID.ir

Archive of SID

جدول -۱: میانگین فعالیت ضد میکروبی استرپتومیسس(۳) در محیطهای مختلف و فازهای مختلف منحنی رشد

فازهای منحنی رشد / انواع محیط کشت	فاز تاخیری	فاز لگاریتمی	فاز رکود	فاز مرگ
نوترین براث + کلرید کلسیم	۰/۱۲۵	۰/۶۲۵	۰/۵	۰/۰۱۲۶
نوترین براث + کلرید کلسیم +لاکتوز + سولفات آمونیوم	۰/۵۶۲۵	۱/۰۱۲۵	۰/۷۹	۰
نوترین براث + کلرید کلسیم + گلوکز + سولفات آمونیوم	۰/۵	۱/۱	۰/۷۵۲	۰/۰۳۷۵

روش کشت خطی خاصیت ضد میکروبی استرپتومیسس‌ها و قارچها کمتر و دیرتر نشان داده شد. در روش کشت نقطه‌ای خاصیت ضد میکروبی بهتر و بیشتر از چهار روش کشت دیگر مشخص بود و این مسئله را این‌گونه می‌توان بیان کرد که استرپتومیسس‌ها به راحتی در ژلوز محیط نفوذ کرده و می‌توانند خاصیت ضد میکروبی خود را نشان دهند واین خاصیت را به‌صورت هاله عدم رشد باکتری در اطراف تکه کلنی استرپتومیسس، نشان می‌دهند. در این روش چون مستقیما خود کلنی استرپتومیسس در تماس با باکتری کشت داده شده است، بیشتر و بهتر می‌توانند باکتری‌ها را از بین ببرند و باعث عدم رشد و مهار رشد باکتری‌ها شوند. ولی در سه روش شیاری و چاهک گذاری و دیسک گذاری سوسپانسیون استرپتومیسس‌ها و قارچها بر روی باکتری‌ها اثر کرده و در این حالت استرپتومیسس‌ها و قارچها در محیطهای براث قرار داشته و خاصیت ضد میکروبی خود را کمتر از حالتی که مستقیماً کلنی استرپتومیسس‌ها و قارچها برروی باکتری‌ها قرار دارد نشان می‌دهند. در روش کشت خطی چون کلنی قارچها و استرپتومیسس‌ها از باکتری‌ها فاصله دارد مدت زمان بیشتری طول می‌کشد تا این ارگانیسم‌ها بتوانند در محیط نفوذ کرده و خود را به باکتری‌ها برسانند و در نتیجه خاصیت ضد میکروبی قارچها و استرپتومیسس‌ها را کمتر از روش کشت نقطه‌ای نشان می‌دهند. پس با بیان دلایل بالا این نکته بدست می‌آید که روش کشت نقطه‌ای بهتر از چهار روش شیاری، چاهک گذاری، دیسک گذاری و روش کشت خطی، می‌تواند خاصیت ضد میکروبی استرپتومیسس‌ها و قارچها را نشان دهد. از مقایسه هر پنج روش بکار برده شده نکات زیر بدست آمد:

۱ – از بین استرپتومیسس‌ها و قارچهای جدا شده از اکوسیستم بیابان و جنگل، استرپتومیسس‌ها بیشتر از قارچها ازخود خاصیت ضد میکروبی نشان دادند.

۲ – از بین باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی، باکتری‌های گرم مثبت در رویارویی با استرپتومیسس‌ها و قارچها، حساسیت بیشتری نشان دادند و باکتری‌های گرم منفی تقریباً هیچ حساسیتی در رویارویی با استرپتومیسس‌ها و قارچها نشان ندادند.

۳ – باکتری‌های گرم مثبت که بیشتر بر روی محیط بلاد آگاررشد خوبی دارند در روی محیط نوترین آگار همراه با نمک کلرید کلسیم نیز می‌توانند همانند محیط بلاد آگار رشد خوب و سریعی داشته باشند.

تغییر شرایط و عوامل محیطی بر روی فعالیت و خاصیت ضد میکروبی

برای این منظور استرپتومیسس‌ها که فعالیت ضد میکروبی بیشتری نسبت به قارچهای جدا شده داشتند، انتخاب شدند. در این مرحله از کار عوامل و پارامترهای مختلفی از جمله دما، اسیدیته، منبع کربن، منبع ازت و اسیدهای آمینه بر روی فعالیت ضد میکروبی استرپتومیسس‌ها بررسی و آزمایش شدند به علاوه اینکه از بین چهار باکتری گرم مثبت، *B.subtilis* بیشتر ازسایر باکتری‌ها در رویارویی با استرپتومیسس‌ها از خود حساسیت نشان داد که این حساسیت به صورت‌هاله عدم رشد باکتری *B.subtilis* در اطراف کلنی استرپتومیسس، نشان داده شد. نتایج بعدی نشان داد که در اکثر استرپتومیسس‌های جداشده دمای بین ۳۲/۵ تا ۳۳ درجه سانتی گراد و اسیدیته حدود ۶/۹ تا ۷/۲ و افزایش منبع کربن از جمله گلوکز و لاکتوز و منبع ازت ا زجمله سولفات آمونیوم هر کدام به میزان ده گرم در یک لیتر در تولید آنتی بیوتیک و فعالیت ضد باکتریایی و ضد میکروبی، بیشترین تاثیر را داشت. اسیدهای آمینه ازجمله متیونین و تریپتوفان هرکدام به میزان یک گرم در یک لیتر تاثیر چندانی نداشته و تنها سبب تسریع فعالیت ضد باکتریایی و ضد میکروبی می‌شود.

بررسی میزان رشد با میزان تولید آنتی بیوتیک در استرپتومیسس‌ها

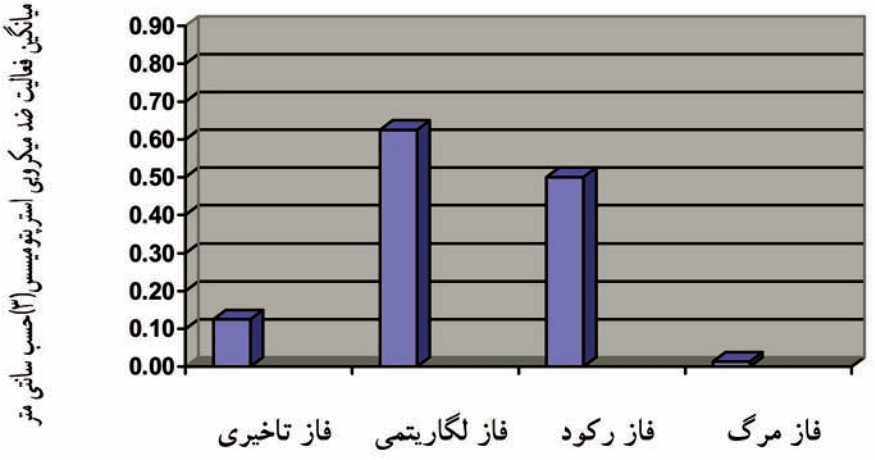
نتایج بدست آمده نشان داد که در فاز لگاریتمی‌که بیشترین میزان رشد دیده می‌شود، تولید آنتی بیوتیک نیز در بالاترین سطح قراردارد و میزان رشد با میزان تولید آنتی بیوتیک رابطه مستقیم دارد. منحنی‌های رشد یکی از استرپتومیسس‌های جداشده از مناطق بیابانی که بیشتر از سایر استرپتومیسس‌ها فعالیت ضد میکروبی از خود نشان می‌داد (استرپتومیسس(۳))، در محیطها و فازهای مختلف از منحنی رشد نشان داده شده است (منحنیهای ۱تا۳). به علاوه اینکه درهر کدام از فازهای منحنی رشد، خاصیت ضد میکروبی و تولید آنتی بیوتیک نیز بررسی شد و نتایج نشان داد که در تمامی‌منحنی‌ها در فاز لگاریتمی‌که بیشترین میزان رشد وجود دارد، تولید آنتی بیوتیک و خاصیت و فعالیت ضد میکروبی نیز در بالاترین سطح قرار دارد و میزان رشد با میزان تولید آنتی بیوتیک رابطه

www.SID.ir

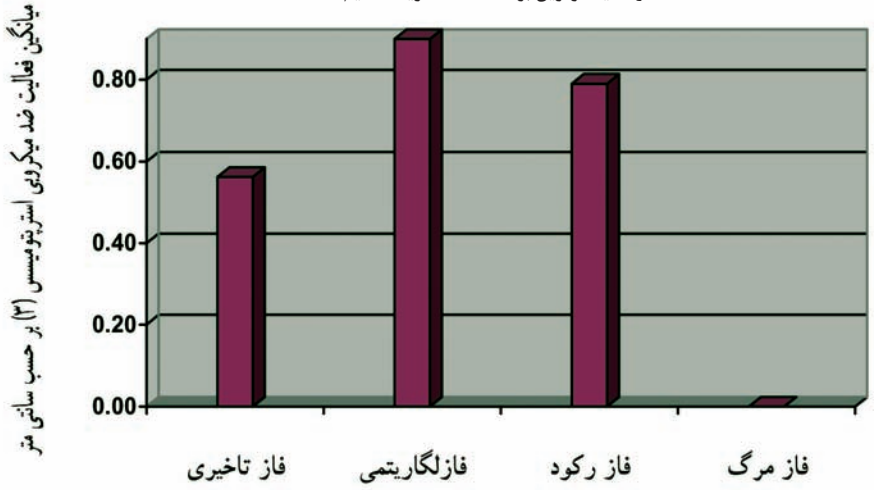
Archive of SID

مستقیم دارد. جدول(۱) زیر نیز به خوبی این مطلب را نشان می‌دهد.

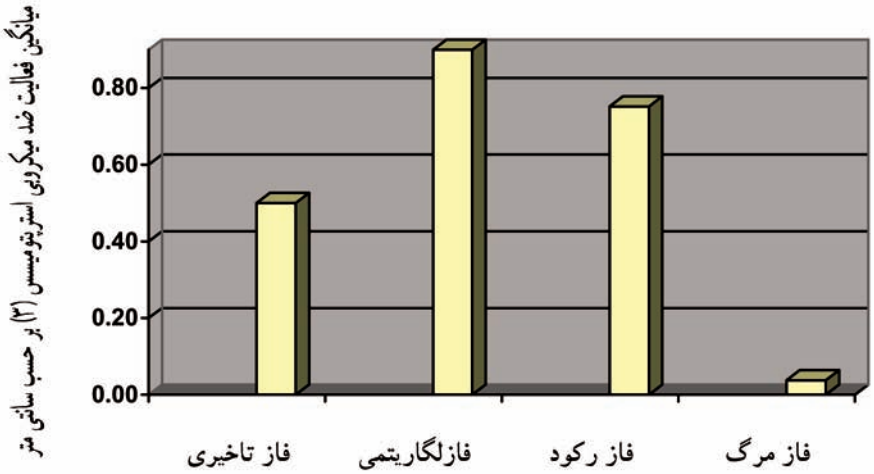
نکته قابل توجه اینکه فعالیت ضد میکروبی استرپتومیسس‌ها به صورت‌هاله عدم رشد باکتری‌های کشت داده شده در اطراف کلنی استرپتومیسس‌ها بود زیرا همان طور که قبلا نیز در قسمت مواد و روش‌ها بیان شد در روش کشت نقطه‌ای، ابتدا بر روی سطح محیط کشت باکتری مورد نظر را کشت داده و سپس تکه‌ای از کلنی استرپتومیسس‌ها را بر روی سطح محیط کشتی که به وسیله باکتری مورد نظر کشت داده شده بود، قرار داده شد و بعد از طی مدت انکوباسیون (گرما دهی) نتیجه به صورت‌هاله عدم رشد باکتری کشت داده شده در اطراف کلنی استرپتومیسس که نشان دهنده فعالیت ضد میکروبی استرپتومیسس‌ها بود، بیان شد همانطور که از منحنی‌های ۱ تا ۳ مشخص است میزان رشد استرپتومیسس مورد نظردر محیط‌های مختلف متفاوت است بعلاوه اینکه در تمام منحنی‌ها در فاز لگاریتمی‌که بیشترین میزان رشد وجود دارد تولید آنتی بیوتیک و فعالیت ضد میکروبی نیز در بالاترین سطح قرار دارد و میزان رشد با میزان تولید آنتی بیوتیک رابطه مستقیم دارد. همانطور که از نتایج بدست آمده معلوم است در بسیاری از استرپتومیسس‌ها منبع کربن گلوکز و یا لاکتوز باعث افزایش فعالیت ضد میکروبی استرپتومیسس‌ها می‌شود. Gesheva و همکاران در سال ۲۰۰۵ در کشور بلغارستان نشان دادند که جایگزینی گلوکزبا لاکتوز یا گلیسرول به عنوان منبع کربن توسط *Streptomyces* باعث افزایش تولید آنتی بیوتیک ماکرولید *scopicus* می‌شود.(۶) AK-۱۱۱-۸۱ این مطلب توسط Barun و همکاران در سال ۱۹۹۸ نیز بیان شده است (۲). در مورد منبع ازت نیز در این تحقیق نتایج نشان داد که اضافه کردن سولفات آمونیوم به محیط کشت نیز دربعضی از نمونه‌های استرپتومیسس‌ها باعث افزایش فعالیت ضد میکروبی می‌شود. در بررسیهای انجام شده توسط Lee و همکاران در کشور آمریکا در سال ۱۹۹۷ نشان دادند که سولفات آمونیوم در محیط کشت در مقایسه با دیگر منابع نیتروژن‌دار آلی مانند آسپارتات، آرژینین و هیستیدین، باعث افزایش تولید آنتی بیوتیک راپامایسین توسط *S. hygroscopicus* می‌شود(۱۱). استفاده از اسیدهای آمینه متیونین و تریپتوفان در این تحقیق تاثیر چندانی در فعالیت ضد میکروبی استرپتومیسس‌ها نداشت و تنها سبب تسریع



نمودار ۱- میانگین فعالیت ضد میکروبی استرپتومیسس (۳)
در محیط نوترین براث + نمک کلرید کلسیم



نمودار ۲- میانگین فعالیت ضد میکروبی استرپتومیسس (۳)
در محیط نوترین براث + نمک کلرید کلسیم+ لاکتوز + سولفات آلومینیوم



نمودار ۳- میانگین فعالیت ضد میکروبی استرپتومیسس (۳)
در محیط نوترین براث + نمک کلرید کلسیم + گلوکز + سولفات آلومینیوم

www.SID.ir

Archive of SID

واکنش و فعالیت ضد میکروبی استرپتومیسس‌ها شد در مطالعات انجام شده توسط Ying و همکاران درکشور آمریکا در سال ۲۰۰۱ نشان داده شد که در محیط کشت حاوی آسپارتات، آرژینین و هیستیدین، اضافه‌کردن اسید آمینه L- لیزین باعث افزایش تولید آنتی‌بیوتیک راپامایسین تا ۱۵٪ می‌شود(۱۴).

در مورد پارامتر (اسیدیته) برای استرپتومیسس‌های جداشده از خاک‌های مناطق بیابانی ایران در تولید آنتی بیوتیک بهترین pH بین ۶/۹ -۷/۲ pH می‌باشد. در مطالعه انجام گرفته در کشور هندوستان درسال ۲۰۰۳ برروی سویه‌ای از استرپتومیسس‌ها، نشان داده شد که استفاده از سوکروز به عنوان منبع کربن و پپتون به عنوان منبع نیتروژن بیشترین تاثیر را درافزایش تولید آنتی بیوتیک دارد(۷). در این تحقیق دمای ۳۳ – ۳۲/ ۵ بهترین دما و ۷= ۲ pH ۶/۹-۷/۲ می‌باشد. برای رشد استرپتومیسس‌ها و تولید آنتی بیوتیک توسط آن‌ها بود. در بررسی انجام شده توسط James P.D و همکاران در کشور انگلستان در سال ۲۰۰۳ نشان داده شد که در ساخت آنتی بیوتیک گراناتاسین از استرپتومیسس ترمو‌ویولاسئوس در دمای ۴۵ درجه سانتی گراد حداکثر میزان محصول بدست می‌آید در حالی که در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد سرعت سنتز بالاتر است. در حالیکه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد سرعت سنتز بالاتر است(۹) Deeble Vj و همکاران در کشور انگلستان در سال ۲۰۰۵ نشان دادند. که تولید استرپتومایسین توسط استرپتومیسس گریزئوس در دمای ۳۴ درجه سانتی گراد و بالاتر از آن متوقف می‌شود. (۵)

نتیجه دیگر از این تحقیق نشان داد که درفاز لگاریتمی‌از منحنی رشد استرپتومیسس‌ها که بیشترین میزان رشد وجود دارد، تولید آنتی بیوتیک‌ها و فعالیت ضد میکروبی استرپتومیسس‌ها نیز در بالاترین سطح دیده می‌شودوحداکثر میزان فعالیت ضد میکروبی استرپتومیسس‌ها وجود دارد و میزان تولید آنتی بیوتیک‌ها با میزان رشد استرپتومیسس‌ها رابطه مستقیم دارد. Jonsbu Nielsen در سال ۲۰۰۲ نشان داد که تولید متابولیتهای ثانویه از جمله آنتی بیوتیک‌ها در فاز لگاریتمی از منحنی رشد که بالاترین میزان رشد وجود دارد، در حداکثر میزان خود است(۱۰).

منابع مورد استفاده

۱- خوشخوی، م. شیبانی، ب. روحانی، ا. تفضلی، ع. ۱۳۸۳؛ اصول باغبانی –انتشارات دانشگاه شیراز – صفحه ۲۴۴- چاپ دوازدهم.

2- Barun K. Bhattacharyya , Sushil C.pal , Sukonta K.Sen 1998; Anitibiotic production by *Streptomyces hygroscopicus* D1.5 , cultural effect. Rev.microbial.vol 29.n.3 , p.254-257.

3- Brandi L .2006; New Streptomycete in soil for production of antibiotics , journal of drugs , p 612-618 .

4- Busti E , Yushi OU.2006; Media conditions for growthing Actinomycetes , microbial Res , p 424-427.

5- Deeble vj ,Fazeli MR,Cove JH , Baumberg S.2005 ; Effects of temperature on production of antibiotics in *Sterptomyces griseus* , journal of antibiotics ,p.171-178.

6- Gesheva V. , Ivanova V, Genava R .2005; Effects of nutrients on the production of macrolide antibiotic by *Streptomyces hygroscopicus* , microbial Res , 160 (3), p 243-248.

7- Guimares LM , Furlan RL , Garrido LM , Ventura A , Padilla G , Faciotti MC.2004 ; Efects of pH on the production of the antitumor , antibiotic Retamycin by *Streptomyces olindensis* ,biotechnol biochem , 40 (pt 1) , p 107 -111 .

8- Gray , William D. Jacobs , Francine.2003 ; Penicillin: the first miracle drug , Journal of Drug , p 390-396.

9- James PD, Edwards C ; The effects of temperature on growth and production of the antibiotic granaticin by thermotolerant streptomycete , J. Gen microbiology, p 135 -137 .

10- Jonsbu Nielson , MCIntyre.2002 ; Antibiotic drugs , Journal of Antibiotics , vol 34 , p 356-370.

11- Lee MS , Kojima , Demain AL .1997; Effects of nitrogen source on production of antibiotic , Journal of Microbiology , p 412 – 422 .

12- Matseliukh BP , Dona RL .1998; Streptomyces , Soil microbiology , vol.1, p 285-302 .

13- Silva MG , Anne Dose.2004 ; The best penicillin for resistant bacteria , Journal of Antibiotics ,vol 48 , p 562-569.

14- Ying Yh , Marta MS .2001; Effects of L- lysine on production of rapamycine , Journal of Drugs , p 102 – 105 .

www.SID.ir