جداسازی و ارزیابی اکتینومایست‌های آبزی از جنگل‌های حرای جنوب ایران علیه برخی از باکتری‌های پاتوژن انسانی

فرشید کفیل زاده[1]*، فرانک دهداری[1]، نجمه نامدار[1]

[1] گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد جهرم، جهرم، ایران

*نویسنده مسئول. تلفن: ۰۹۱۷۱۱٤۰۷۹۹ فاکس: ۰۷۹۱۳۳۳۱۰۱۹ E-mail: Kafilzadeh@jia.ac.ir

چکیده

زمینه و هدف: تحقیقات اخیر نشان داده که اکتینومایست‌های آبزی می‌توانند منبعی از فرآورده‌های بیولوژیک جدید از جمله آنتی‌بیوتیک‌ها و محصولات صنعتی به شمار آیند. هدف از این تحقیق، مطالعه اکتینومایست‌های آبزی جداسازی شده از جنگل‌های «حرا» در جنوب ایران و بررسی فعالیت ضد باکتریایی آنها علیه سویه‌های بیماری‌زای انسانی می‌باشد.

روش کار: در این مطالعه به طور تصادفی از ۱۱۵ ایستگاه در سواحل جنگل‌های «حرا» جنوب ایران نمونه برداری شد. پس از تهیه رقت و جداسازی کلنی‌های اکتینومایست آبزی، در محیط نشاسته کازئین آگار خالص سازی شد. برای بررسی فعالیت ضدباکتریایی اکتینومایست‌های آبزی جداسازی و خالص شده، از دو روش استاندارد چاهک گذاری و دیسک گذاری استفاده گردید.

یافته‌ها: اکتینومایست آبزی از ۸۳ نمونه (٪۷۰) جداسازی شدند. از این میان ۶۶ ایزوله (٪۸۰) دارای فعالیت ضدباکتریایی و ۱۷ ایزوله (٪۲۰) قادر به مهار رشد باکتری‌های بیماری‌زای انسانی نبودند. قطر هاله عدم رشد بین ۱۱-٤ میلی متر بود که بیشترین هاله مربوط به باسیلوس سرئوس بود ($p < ۰/۰۵$).

نتیجه‌گیری: نتایج نشان داد اکتینومایست‌های آبزی متنوع و مفید جهت تولید ترکیبات آنتی‌بیوتیکی جدید، به راحتی از جنگل‌های «حرا» در جنوب ایران جداسازی می‌شوند. با توجه به مساحت زیاد این جنگل‌ها در جنوب ایران، مقرون به صرفه بودن و جداسازی آسان اکتینومایست‌های آبزی از این مناطق، می‌تواند به عنوان یک قطب مهم و جدید برای تحقیق و صنعت محسوب شود.

کلمات کلیدی: اکتینومایست‌های آبزی، جنگل‌های حرا، روش چاهک گذاری، روش دیسک گذاری

دریافت: ۹۰/۹/۳۰ **پذیرش:** ۹۱/۱۰/۳

مقدمه

اکتینومایست‌ها باکتری‌های گرم مثبت و رشته‌ای هستند که به صورت آزاد یا ساپروفیت در زیستگاه‌های اکولوژیک متفاوتی از جمله: خاک، آب‌های گرم، رسوبات دریایی و غیره یافت می‌شوند [۲-۱]. از نظر رده‌بندی دارای جنس‌های مهمی مانند: میکرومونوسپرا، نوکاردیا و استرپتومایسس می‌باشند [۳] که به دلیل بزرگی ژنومشان توانایی تولید انواعی از متابولیت‌های ثانویه از جمله آنتی بیوتیک‌ها، آنزیم‌های صنعتی، مواد ضد توموری، متابولیت‌های غذایی و آفت کش‌ها را دارند [٤]. خاک منبع مهمی برای جداسازی اکتینومایست‌ها است [۵]. از اواخر دهه‌ی ۱۹۸۰ گزارش‌هایی مبنی بر جداسازی ترکیبات جدید از میکروارگانیسم‌های خشکی کاهش یافت، همچنین با گذشت زمان باکتری‌های بیماری زا نسبت به آنتی بیوتیک‌های در دسترس از خود مقاومت نشان دادند و این امر باعث شد محققین به سمت کشف و بررسی توانایی‌های میکروارگانیسم‌های محیطهای دریایی روی آورند [۶].

www.SID.ir

میکروارگانیسم‌های آبزی منبع مهمی از مولکول‌ها جهت تحقیقات صنعتی هستند و امروزه تمایل به استفاده صنعتی و دانشگاهی از این میکروارگانیسم‌های آبزی در حال افزایش است، زیرا متابولیت‌های این میکروارگانیسم‌های آبزی از نظر زیستی بی‌نظیر می باشند [۷]. تحقیقات اخیر نشان داده است که اکتینومایست‌های آبزی می‌توانند یک منبع خوب و مهم برای شناسایی و کشف محصولات بیولوژیک جدید از جمله مولکول‌های باارزش آنتی بیوتیکی و آنزیم‌های صنعتی (سلولاز، آمیلاز، کیتیناز و ژلاتیناز) به شمار آیند [۸]. بررسی اکتینومایست‌های آبزی به لحاظ اقتصادی مقرون به صرفه است زیرا ثابت شده که از لحاظ متابولیکی در محیط آبی بسیار فعال‌اند و منجر به تولید انبوه ترکیبات آنتی‌بیوتیکی و آنزیمی می‌شوند [۶،۷]. بررسی منابع و داده‌ها نشان می‌دهد که تا کنون مطالعه جامعی در مورد اکتینومایست‌های آبزی و بررسی توانایی‌های آن‌ها در زمینه تولید متابولیت‌های ثانویه صورت نگرفته و این مسئله زمانی اهمیت پیدا می‌کند که بدانیم کشورمان دارای متنوع‌ترین اقلیم‌ها در بین کشورهای منطقه است که می‌توان سویه‌های متنوع اکتینومایست‌ها با توانایی‌های قابل توجه در زمینه تولید متابولیت‌های ثانویه به‌ویژه آنتی‌بیوتیک‌ها را در آن جداسازی و شناسایی کرد [۹]. از جمله این اقلیم‌ها می‌توان جنگل‌های مانگرو[1] جنوب ایران را نام برد که معروف به جنگل‌های «حرا» می‌باشند [۱۰] و با وسعتی بالغ بر ۲۰۰۰۰ هکتار در مناطق ساحلی در حد فاصل مدارهای ۲۵ درجه و ۱۱ دقیقه تا ۲۷ درجه و ۵۲ دقیقه گسترش یافته‌اند [۱۱]. این مناطق به دلیل ارتباط مداوم با جذر و مد، تبدیل به مکان مناسبی برای رشد میکروارگانیسم‌های متفاوت و شکل‌گیری جریانات حاصله، شده است [۱۲].

بنابراین باتوجه به اهمیت متابولیت‌های ثانویه تولید شده توسط اکتینومایست‌های آبزی، هدف از این تحقیق جداسازی اکتینومایست‌های آبزی از جنگل‌های «حرا» در جنوب ایران و بررسی فعالیت ضد باکتریایی آن‌ها علیه سویه‌های بیماری‌زای انسانی شامل: اشریشیاکلی[2]، پروتئوس میرابیلیس[3]، استافیلوکوکوس اورئوس[4]، باسیلوس سرئوس[5]، سودوموناس ائروجینوزا[6] می‌باشد.

روش کار

در این مطالعه ۱۱۵ ایستگاه با مسافت ۲۵۰ متر در سواحل جنگل‌های حرا (منطقه‌ی برد خون استان بوشهر) انتخاب گردید و نمونه‌ها از عمق ۵-۲ سانتیمتری سطح رسوب توسط قاشک‌های استریل درون ظروف استریل جمع‌آوری گردید (قابل ذکر است که نمونه گیری به صورت تصادفی انجام شد). سپس نمونه‌ها در زمان کمتر از ۲٤ ساعت به آزمایشگاه انتقال داده شد [۶].

جداسازی و خالص سازی اکتینومایست‌های آبزی

نمونه‌های جمع‌آوری شده قبل از رقیق‌سازی به مدت ۶۰ دقیقه در حمام آب گرم با دمای ۵۰ درجه سانتیگراد گرمادهی شدند [۱۳]. سپس رقت 10^{-1} تا 10^{-10} از نمونه‌ها تهیه گردید و ۱۰۰ میکرولیتر از نمونه‌های رقیق‌شده روی محیط کشت نوترینت آگار کشت داده و به مدت یک هفته در دمای ۲۷ درجه سانتیگراد انکوبه شد. نمونه های رشد کرده بعد از مدت زمان انکوباسیون، از نظر مشخصات ظاهری کلنی از قبیل رنگ، جنس، نوع کنیدی و همچنین با استفاده از تست های بیوشیمیایی و رنگ آمیزی گرم بررسی گردید. سپس از هر نوع کلنی به طور مجزا بر روی محیط کشت نشاسته کازئین آگار[7] و وودروف[8] به صورت خطی کشت داده شد

[1] Mangrove

[2] *E. coli*
[3] *Proteus mirabilis*
[4] *Staphylococcus aureus*
[5] *Bacillus cereus*
[6] *Pseudomonas aeruginosa*
[7] Starch Casein Agar
[8] Woodruff

Archive of SID

www.SID.ir

تا نمونه ها خالص گردند [۱٤]. همچنین برای اطمینان یافتن از هویت باکتری های جداسازی شده به عنوان اکتینومایست، از جداول و تست های تائیدی کتاب برگی[1] کمک گرفته شد [۱۵].

تهیه سویه باکتری‌های پاتوژن انسانی

سویه‌های باکتریایی پاتوژن انسانی مورد استفاده در این مطالعه شامل: استافیلوکوکوس اورئوس (10831 ATCC)، پروتئوس میرابیلیس (12453 ATCC)، اشریشیاکلی (25922 ATCC)، سودوموناس آئروجینوزا (10145 ATCC) و باسیلوس سرئوس (جداسازی شده از بیماران بیمارستانی) می‌باشد که از آزمایشگاه تحقیقاتی دانشگاه آزاد اسلامی واحد جهرم تهیه گردیدند.

بررسی فعالیت ضد میکروبی

در این مطالعه برای بررسی فعالیت ضد پاتوژنیسیته اکتینومایست‌های آبزی جداسازی شده از دو روش چاهک گذاری[2] و دیسک گذاری[3] استفاده شد [۱۶].

روش چاهک گذاری

در این روش کلنی‌های خالص شده‌ی اکتینومایست‌های آبزی در محیط کشت نوترینت براث تلقیح شد سپس به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ٤- درجه با دور ٤۵۰۰ rpm سانتریفیوژ و محلول رویی جداسازی گردید [۱۷]. پس از تهیه سوسپانسیون باکتری‌های پاتوژن مورد استفاده در این پژوهش با کشت ۲٤ ساعته (تهیه غلظت معادل با نیم مک فارلند)، یک سی‌سی از سوسپانسیون باکتریایی روی محیط کشت مولرهینتون آگار به صورت سطحی کشت داده شد. پس از جذب سوسپانسیون باکتریایی در محیط کشت، چاهک‌هایی به قطر ۶-٤ میلی‌متر روی سطح محیط کشت تعبیه و درون هر چاهک مقادیر مشخصی (۱۰۰-۷۰ میکرولیتر) از سوپرناتانت اکتینومایست‌های آبزی ریخته شد. سپس برای بررسی قطر هاله عدم رشد، پلیت‌ها به مدت ۲٤ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد انکوبه گردیدند.

روش دیسک گذاری

در این روش نیز تمام موارد مشابه روش چاهک انجام گردید (تهیه محیط کشت اکتینومایست‌ها، تهیه سوپرناتانت و کشت باکتری‌های پاتوژن). سپس دیسک‌های کاغذی به قطر ۳ میلی‌متر تهیه و استریل شد. این دیسک‌ها به مدت زمان‌های مختلف (۳۰-۵ دقیقه) در سوپرناتانت اکتینومایست‌های آبزی قرار داده شد و پس از کشت سطحی باکتری‌های پاتوژن (کشت ۲٤ ساعته) روی سطح محیط مولرهینتون آگار، این دیسک‌ها با فاصله‌ی معین از یکدیگر (۲/۵ سانتیمتر) روی سطح محیط کشت قرار داده شدند. در نهایت نتایج هاله عدم رشد پس از ۲٤ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد بررسی گردید.

همچنین پلیت‌هایی با محیط مشابه (بدون تلقیح سوپرناتانت اکتینومایست‌های آبزی) نیز به صورت همزمان با باکتری‌های پاتوژن انسانی کشت داده شد تا به عنوان کنترل مورد استفاده قرار گیرند [۶]. همه‌ی آزمایش‌ها با ۳ بار تکرار انجام گردید.

تجزیه و تحلیل آماری

نتایج بدست آمده با نرم افزار SPSS و آزمون‌های آماری تجزیه واریانس[4] و دانکن[5] صورت گرفت و در در مرز معنی داری در سطح $p \leq ۰/۰۵$ قرار داده شد.

یافته ها

از بین نمونه‌های جمع‌آوری شده از ۱۱۵ ایستگاه، در ۸۳ ایستگاه اکتینومایست آبزی جداسازی شد که معادل با ٪۷۰ کل نمونه‌ها می‌باشد. تمامی این ۸۳ اکتینومایست آبزی ایزوله شده برای وجود فعالیت

[1] Bergey's Manual of Systematic Bacteriology
[2] Well Diffusion Assay
[3] Disc Diffusion Assay
[4] ANOVA
[5] Duncan

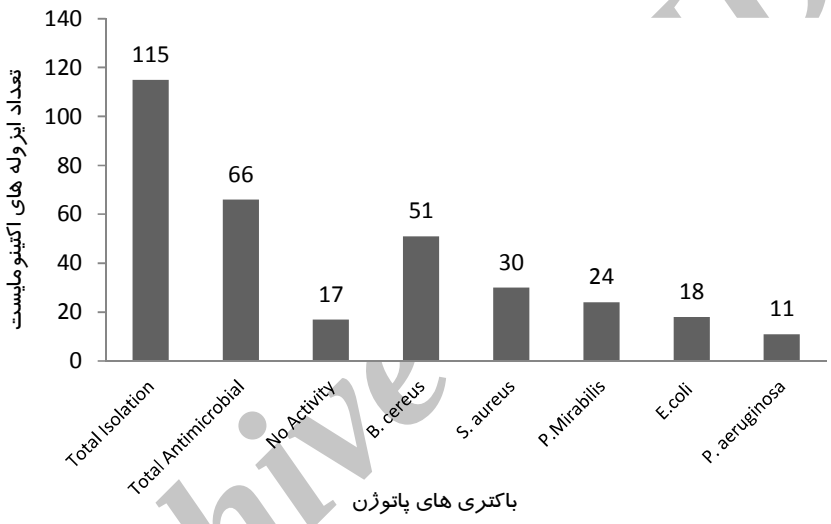
Archive of SID

www.SID.ir

ضد باکتریایی مورد بررسی قرار گرفتند و از این میان ۶۶ ایزوله (معادل با ٪۸۰ ایزوله‌ها) قادر به مهار رشد باکتری‌های بیماری‌زای انسانی می‌باشند و ۱۷ ایزوله(معادل با ٪۲۰ ایزوله‌ها) هیچ فعالیت ضد باکتریایی نداشتند. از بین ۶۶ ایزوله‌ی دارای فعالیت ضد میکروبی: ۵۱ ایزوله نسبت به باسیلوس سرئوس، ۳۰ ایزوله نسبت به استافیلوکوکوس اورئوس، ۲٤ ایزوله نسبت به پروتئوس میرابیلیس، ۱۸ ایزوله نسبت به اشریشیاکلی و ۱۱ ایزوله نسبت به سودوموناس ائروجینوزا بازدارندگی رشد نشان دادند (نمودار ۱).

قطر هاله عدم رشد بین ۱۱-٤ میلی متر متغیر بود که بیشترین قطر هاله عدم رشد مربوط به باسیلوس سرئوس می‌باشد ($p < ۰/۰۵$) (جدول ۱ و شکل ۱).

همچنین نتایج این تحقیق نشان داد که قطر هاله عدم رشد در روش چاهک گذاری نسبت به روش دیسک گذاری بیشتر است و در روش دیسک گذاری قطر هاله عدم رشد با مدت زمان ماندگاری دیسک‌های کاغذی در سوپرناتانت رابطه مستقیم دارد.



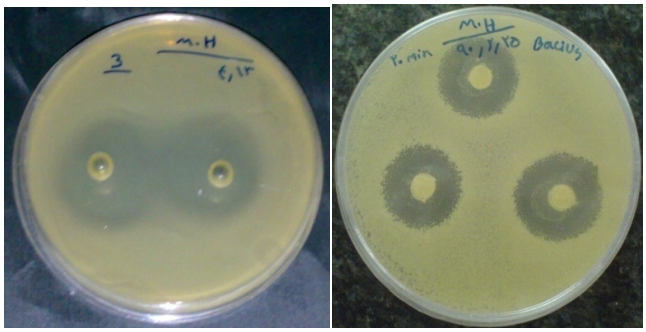
نمودار۱. نتایج مربوط به فعالیت ضد باکتریایی اکتینومایست های جداسازی شده

جدول۱. نتایج مربوط به قطر هاله‌ی عدم رشد باکتری های پاتوژن

قطر هاله عدم رشد (mm)				
مدت زمان ماندگاری دیسک‌های کاغذی در سوپرناتانت (دقیقه) / باکتری‌های پاتوژن انسانی	۵ دقیقه	۱۰ دقیقه	۱۵ دقیقه	۲۰ دقیقه
B. cereus	۵	۷/۵	۹	۱۱
E. coli	٤/۵	٤	۶	۶
P. mirabilis	٤	۵/۵	۵/۵	۷
S. aureus	۵/۵	۶	۷/۵	۹
P. aeruginosa	٤	٤	٤/۵	۶

Archive of SID

www.SID.ir



شکل ۱. تصاویر مربوط به نتایج قطر هاله عدم رشد در دو روش دیسک و چاهک

بحث

بر اساس مطالعات صورت گرفته اکتینومایست ها بزرگترین گروه باکتری‌های تولید کننده متابولیت‌های ثانویه و به‌ویژه مواد ضد باکتریایی هستند [۲] که طی ۶۰ سال گذشته به عنوان منبع مهمی برای تحقیقات بوده اند. کشف ترکیبات بیواکتیو جدید هرگز به پایان نمی رسد چرا که تقاضا برای داروهای جدید و سایر بیومولکول‌هایی که خاصیت ضد میکروبی و درمانی دارند همیشه وجود دارد[۶]. از این رو اگرچه خاک، بعنوان منبع مهمی برای جداسازی اکتینومایست‌های مفید به شمار می‌آید، اما شناسایی اکتینومایست‌های جدیدتر و کمیاب از زیستگاه‌های دیگر نیز حائز اهمیت است [۱۸]. بررسی منابع و داده‌ها نشان داده است که تا کنون مطالعه جامعی در زمینه‌ی جداسازی و شناسایی اکتینومایست‌های آبزی در کشورمان صورت نگرفته است. لذا با توجه به اهمیت این باکتری‌ها در زمینه‌ی تولید انواع آنتی‌بیوتیک‌ها و همچنین با در نظر گرفتن این موضوع که محیط‌های آبی کشورمان (جنگل‌های «حرا») یکی از بزرگترین منابع دارای تنوع شیمیایی و بیولوژیکی می‌باشد، در این تحقیق اقدام به جداسازی و بررسی اکتینومایست‌های آبزی مستعد دارای فعالیت ضدمیکروبی از سواحل جنگل‌های «حرا» جنوب ایران گردید.

تا کنون تحقیقاتی مبنی بر جداسازی اکتینومایست‌های آبزی از رسوبات جنگل‌های مانگرو در جهان صورت گرفته است. از آن جمله: فیدلر[1] و همکارانش در سال ۲۰۰۵ موفق به جداسازی و شناسایی اکتینومایست‌های آبزی متنوعی از محیط های آبی شدند [۱۹]. همچنین مالدونادو[2] و همکارانش در سال ۲۰۰۵ از سواحل دریاهای استرالیا اقدام به جداسازی و شناسایی اکتینومایست‌های آبزی نمودند. تمام گونه‌های جداسازی شده متعلق به جنس استرپتومایسس بودند [۲۰]. در برزیل نیز دیاس[3] و همکارانش در سال ۲۰۰۹ اقدام به جداسازی باکتری‌های موجود در رسوبات مانگرو نمودند که در این مطالعه ۲۰۸ باکتری متنوع جداسازی شد که از این میان نیمی از گونه‌ها متعلق به خانواده‌ی اکتینومایست بود [۲۱]. همچنین دیگر محققین از جمله فنیکال[4] و جنسن[5] در سال ۲۰۰۶ و رامش[6] و متیوانان[7] در سال ۲۰۰۹ نیز موفق به جداسازی و شناسایی گونه‌های متنوع و مفیدی از اکتینومایست‌های آبزی از سواحل مانگروهای هند شدند [۶،۲۲]. در تحقیق حاضر نیز اکتینومایست‌های آبزی زیادی از رسوبات سواحل جنگل‌های حرا جنوب ایران جداسازی گردید که نتایج با یافته‌های سایر محققین هم خوانی داشت.

[1] Fiedler
[2] Maldonado
[3] Dias
[4] Fenical
[5] Jensen
[6] Ramesh
[7] Mathivanan

Archive of SID

www.SID.ir

تاکنون تحقیقات زیادی نیز در زمینه‌ی تولید آنتی بیوتیک های مختلف بوسیله‌ی اکتینومایست‌ها، صورت گرفته است که از جمله می توان به تحقیقات زیر اشاره کرد:

ایمادا[1] در سال ۲۰۰۵، موفق به جداسازی ۱۰۰ اکتینومایست از خلیج اوتسوچی[2] شد که نیمی از اکتینومایست‌های جداسازی شده در این مطالعه از فعالیت ضد باکتریایی بالایی برخوردار بودند [۲۳]. همچنین میترا[3] و همکارانش در سال ۲۰۰۸، تحقیقی مبنی بر جداسازی ۳۵۰ اکتینومایست آبزی از جنگل‌های مانگروهای کشور هند انجام دادند که نتایج این تحقیق نشان داد اکثر اکتینومایست‌های جداسازی شده دارای فعالیت ضد باکتریایی علیه ۷ پاتوژن‌های گرم مثبت شامل: میکروکوکوس لوتئوس[4] (MTCC 106)، باسیلوس پومیلیس[5] (MTCC 1607)، باسیلوس سابتیلیس[6] (MTCC 441) ، لاکتوکوکوس لاکتیس[7] (MTCC 3038)،مایکوباکتریم اسمگماتیس[8] اسمگماتیس[8] (MTCC 06)، آرتروباکتر پروتوفورمیا[9] (MTCC 2682)، استافیلوکوکوس اورئوس (MTCC 96) و ۶ پاتوژن گرم منفی شامل: اشریشیاکلی (MTCC 739)، اشریشیاکلی (MTCC 2939)، سودوموناس ائروجینوزا (MTCC 2453)، پروتئوس میرابیلیس (MTCC 425)، سراشیا مارسسنس[10] (MTCC 86)، کلبسیلا نومونیا[11] (MTCC 618) بودند [۲۴]. در چین هونگ[12] و همکارانش در سال ۲۰۰۹، طی مطالعه ای در زمینه‌ی بررسی فعالیت ضد میکروبی باکتری‌های جداسازی شده از رسوب‌های مانگرو دریافتند که اکثر اکتینومایست‌های آبزی جداسازی شده بر علیه کاندیدا آلبیکنز[13] و استافیلوکوکوس اورئوس فعالیت ضد باکتریایی داشتند [۲۵]. سوجاتا[14] و همکارانش نیز در سال ۲۰۰۵ اکتینومایست‌هایی را از سواحل دریاهای جنوب غرب هند جداسازی کردند که قادر به تولید مقدار زیادی ترکیبات ضد میکروبی بر علیه گونه‌های بیماری‌زای کاندیدایی و استافیلوکوکوس اورئوس بودند [۲۶].

سوتیندهیران[15] و کانابیران[16] در سال ۲۰۱۰، موفق به جداسازی ۵۰ سویه‌ی اکتینومایست های آبزی از رسوبات سواحل خلیج بنگال شدند، که این گونه‌ها فعالیت ضد قارچی (علیه قارچ های اسپرژیلوس نایجر[17]، آسپرژیلوس فومیگاتوس[18] و کاندیدا آلبیکنز) و ضد باکتریایی (علیه استافیلوکوکوس اورئوس، باسیلوس سرئوس، اشریشیا کلی و کلبسیلا نومونیا) از خود نشان دادند [۲۷]. در تحقیق حاضر نیز اکتینومایست های آبزی جداسازی شده از جنگل های حرا جنوب ایران دارای فعالیت ضد باکتریایی قوی علیه استافیلوکوکوس اورئوس، باسیلوس سرئوس، اشریشیا کلی، پروتئوس میرابیلیس و سودوموناس ایروجینوزا می باشند که در این میان اکتینومایست های جداسازی شده بیشترین فعالیت ضد باکتریایی را بر علیه باسیلوس سرئوس از خود نشان دادند.

نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان داد که جنگل‌های «حرا» در جنوب ایران به دلیل تاثیر جزر و مد مداوم جزءِ مناطق با پتانسیل بالا جهت رشد میکروارگانیسم‌های

[1] Imada
[2] Otsuchi
[3] Mitra
[4] *Micrococcus luteus*
[5] *Bacillus pumilis*
[6] *Bacillus subtilis*
[7] *Lactococcus lactis*
[8] *Mycobacterium* smegmatis
[9] *Arthrobacter protophormiae*
[10] *Serratia marcescens*
[11] *Klebsiella pneumoniae*
[12] Hong
[13] *Candida albicans*
[14] Sujatha
[15] Suthindhiran
[16] Kannabiran
[17] *Aspergillus niger*
[18] *Aspergillus fumigatus*

Archive of SID

www.SID.ir

متنوع از جمله اکتینومایست‌های آبزی به شمار می‌آید. از آنجا که جداسازی اکتینومایست‌های آبزی دارای فعالیت‌های ضد میکروبی از این مناطق راحت و مقرون به صرفه می‌باشد و همچنین با توجه به مساحت بسیار زیاد این جنگل‌ها در سواحل گرمسیری و نیمه‌گرمسیری جنوب کشورمان، لذا جنگل‌های «حرا» در جنوب ایران می‌تواند به عنوان یک قطب مهم جهت تحقیقات صنعتی و دانشگاهی محسوب گردد و کشف اکتینومایست‌های آبزی متنوع و مفید جهت تولید ترکیبات آنتی‌بیوتیک جدید حائز اهمیت می باشد.

References

1- Singh LS, Baruah I, Bora TC. Actinomycetes of loktak habitat: isolation and screening for antimicrobial activities. Biotechnology. 2006 May; 5(2): 217-221.

2- Bredholt H, Fjaervik E, Johnsen G, Zotchev SB. Actinomycetes from sediments the trondheim Fjord، Norway: Diversity and biological activity. Drugs, 2008 Mar; 6(1): 12-24.

3- Anderson AS, Wellington MH. The taxonomy of Streptomyces and related genera. Int J Syst Evol Microbiol. 2001 May; 51(3): 797-814.

4- Salami F. Isolation and determination of Streptomyces that produce antibiotic from soil. Pajohesh-va-Sazandegi. 2004 Fall; 17(3): 41-47. (Full text in Persian)

5- Selvin J, Shanmughapriya S, Gandhimathi R, Seghal kiran G, Rajeetha Ravji T, Atarajaseenivasan K, et al. Optimization and production of novel antimicrobial agents from spong associated marine actinomycetes Nocardiopsis dassonillei MAD08. Appl Microbiol Biotechnol. 2009 Jun; 83(3):435-445.

6- Ramesh S, Mathivanan N. Screening of marine actinomycetes isolated from the Bay of Bengal, India for antimicrobial activity and industrial enzymes. World J Microbiol Biotechnol, 2009 Dec; 25(12): 2103-2111.

7- Jensen PR, Mincer TJ, Williams PG, Fenical W. Marine actinomycete diversity and natural product discovery. Antonie Van Leeuwenhoek. 2005 Jan; 87(1): 43-48.

8- Lam KS. Discovery of novel metabolites from marine actinomycetes. Curr Opin Microbiol, 2006 Jun; 9 (3): 245–251.

9- Dehnad AR, Nahaei MR, Parsa yeganeh L, Abdi Soufiani S. Molecular identification of actinomycetes with antibacterial activity on pathgenic bacteria isolated from east Azarbaijan soils. J Microb Biotechnol. 2010 Winter; 1(3):15-23. (Full text in Persian)

10- Amigues JP, Boulatoff (Broadhead) C, Desaigues B, Gauthier C, Keith JE. The benefits and costs of riparian analysis habitat preservation: a willingness to accept/willingness to pay contingent valuation. Ecol Econ, 2002 Nov; 43(1): 17-31.

11- Rashvand S. Comparison of mangrove structure at Boushehr coastal province. [Dissertation] University of Gorgan; 1997. 109P.

12- Goodfellow M, Williams ST. Ecology of actinomycetes. Annu Rev Microbiol. 1983 Oct; 37: 189-216.

13- Takizawa M, Colwell RR, Hill RT. Isolation and diversity of actinomycetes in the Chesapeake Bay. Appl Environ Microbiol, 1993 Apr; 59(4): 997-1002.

14- Ramesh S. Marine actinomycetes diversity in Bay of Bengal, India: Isolation and characterization of bioactive compounds from Streptomyces fungicidicus MML1614. [Dissertation] University of Madras, Chennai, India. 2009.

15- Schaal KP. Genus *Actinomyces*. In: Krieg NR, Holt JG, editors. Bergey's manual of systematic bacteriology, 2nd ed. Baltimore: Williams and Wilkins, 1984. 1405.

16- Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld AS, Trevino EA. Methods for testing antimicrobial effectiveness. In: Baron EJ, Peterson LR, Finegold SM. Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology, 8th ed. Missouri: Mosby Co: St Louis, 1990, 171-194.

17- Amoozegar M, Malekzadeh F, Malik K. Production of amylase by newly isolated moderate halophile, *Halobacillus sp*. Strain MA-2. J Microbiol Methods, 2003 Mar; 52(3): 353-359.

Archive of SID

www.SID.ir

18- Malarvizhi K. Biodiversity and antagonistic potential of soil actinomycetes from south India: isolation, purification and characterization of antimicrobial metabolites produced by *Streptomyces* sp. MML1042. [Dissertation], University of Madras, Chennai, India; 2006.
19- Fiedler HP, Bruntner C, Bull AT, Ward AC, Goodfellow M, Potterat O, et al. Marine Actinomycetes as a source of novel secondary metabolites. Antonie Van Leeuwenhoek, 2005 Jan; 87(1): 37-42.
20- Maldonado LA, Fenical W, Jensen PR, Kauffman CA, Mincer TJ, Wrad AC, et al. *Salinispora arenicola* gen. nov., and *Salinispora tropica* nov., obligate marine actinomycetes belonging to the family Micromonosporaceae. Int J Syst Evol Microbiol, 2005 Sep; 55(5): 1759-1766.
21- Dias ACF, Andreote FD, Dini-Andreote F, Lacava PT, Sa ALB, Melo IS, et al. Diversity and biotechnological potential of culturable bacteria from Brazilian mangrove sediment. World J Microbiol Biotechnol. 2009 Jul; 25(7): 1305-1311.
22- Fenical W, Jensen PR. Developing a new resource for drug discovery: marine actinomycete bacteria. Nat Chem Biol, 2006 Dec; 2(12): 666-673.
23- Imada C. Enzyme inhibitors and other bioactive compounds from marine actinomycetes. Antonie von Leewenhoek. 2005 Jan; 87(1): 59-63.
24- Mitra A, Santra SC, Mukherjee J. Distribution of actinomycetes, their antagonistic behavior and the physico- chemical characteristics of the world's largest tidal mangrove forest. Appl Microbiol Biotechnol. 2008 Sep; 80(4): 685-695.
25- Hong K, Gao AH, Xie QY, Gao H, Zhuang L, Lin HP, et al. Actinomycetes for marine drug discovery isolation from mangrove soils and plants in China. Mar Drugs, 2009 Feb; 7(1): 24-44.
26- Sujatha P, Bapi Raju KV, Ramana T. Studies on a new marine Streptomycete BT-408 producing polyketide antibiotic SBR-22 effective against methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. Microbiol Res. 2005 Apr; 160(2): 119–126.
27- Suthindhiran K, Kannabiran K. Diversity and exploration of bioactive marine actinomycetes in the Bay of Bengal of the puducherry coast of India. Indian J Microbiol, 2010 Mar; 50(1): 76-82.

Archive of SID

www.SID.ir