Open Access

مجلة جامعة الانبار للعلوم الصرفة (JUAPS)

P- ISSN 1991-8941 , E-ISSN 2706-6703
2008 ,(2), (3) :69-81

اختبار الكفاءة التثبيطية لعزلتين محليتين من بكتريا الستربتومايسس باستخدام نشارة الخشب كمصدر كربوني.

ثامر يوسف مطر

جامعة الانبار –كلية العلوم

معلومات البحث:

تاريخ التسليم: 2008/4/16
تاريخ القبول: 2008/10/20
تاريخ النشر: 14/ 06/ 2012
DOI: 10.37652/juaps.2008.15635

الكلمات المفتاحية:

بكتريا الستربتومايسس،
فعالية تثبيطية،
استهلاك السليلوز ،
مصادر كربونية.

الخلاصة:

استخدمت في هذه الدراسه عزلتين محليتين من بكتريا الستربتومايسس*Streptomyces O3* و *Streptomyces TS36*، تم عزل العزلة *Stre. O3* من احدى ترب مدينة الرمادي واختيرت العزلة على اساس قدرتها على انتاج انزيم السليليز من خلال قدرتها على استهلاك نشارة الخشب كوسط زرعي لاختبار الفعالية التثبيطية لها تجاه بعض البكتريا المرضية كما تم استخدام العزلة *Stre. TS36* المشخصة مسبقا في كلية العلوم–جامعة الانبار، وصفت العزلة *Streptomyces O3* مظهريا وفسلجيا وباستخدام اوساط زرعية عديدة كما شخصت مظهريا بدرجات حرارية مختلفة واختبرت قدرتها على النمو في تراكيز ملحية مختلفة واس هيدروجيني مختلف حيث تم اختيار الظروف المثلى لها لانتاج الفعالية التثبيطية تجاه بكتريا الاختبار المرضية المكورات العنقودية الذهبية والاشريكيا القولونية.

اظهرت النتائج قدرة عزلتي بكتريا الستربتومايسس المستخدمه في الدراسة على استهلاك نشارة الخشب كمصدر كربوني في النمو وانتاج الفعالية التثبيطية تجاه البكتريا المرضيه ، اذ استخدمت طريقتي المزارع الصلبه والسائلة في تنمية عزلتي بكتريا الستربتومايسس لانتاج الفعالية التثبيطية بوجود نشارة الخشب حيث تمكنت كلتا العزلتين من انتاج الفعالية التثبيطية في المزارع الصلبة والسائلة، اذ تمكنت العزلتين *Str O3* و *Str TS36* من انتاج الفعالية التثبيطية في الاوساط الاختبارية 2و3و4 الحاوية 0.3و0.7و1.5 غم/مل على التوالي من نشارة الخشب تجاه بكتريا *Staphylococcus aureus* بصورة مماثلة او افضل بقليل من وسط السيطرة الغير حاوي على نشارة الخشب،كما تمكنت العزلة *Str O3* من انتاج الفعالية التثبيطية في نفس الاوساط الاختبارية السابقة تجاه بكتريا *E coli* ، واظهرت العزلة *Str O3* استقرارية عالية بدرجات حرارية عالية اذ تمكنت من النمو وانتاج الفعالية التثبيطية بدرجة حرارة 40م مقارنة بالعزلة *Str TS36* التي تمكنت من النمو وانتاج الفعالية بدرجة حرارة 28م.

المقدمة:

يعد جنس الستربتومايسيس احد اهم الاجناس للبكتريا الخيطية من الناحية الاقتصادية، يعود هذا الجنس لعائلة Streptomycetaceae ضمن رتبة Actinomycetales (1) . وهي بكتريا خيطية، موجبة لملون غرام، هوائية المعيشة، وتتميز بتكوينها لمايسيليا أرضية ومايسيليا هوائية واسعة التفرع تتحول إلى سلاسل من الابواغ (2). وهي من اكبر المجاميع البكتيرية التي تمتلك خصائص تميزها عن بقية الاحياء المجهرية رمية التغذية، والتي لها دور كبير في تدوير العناصر في التربة (3)(4). حيث اجريت عليها دراسات عديدة جدا بسبب قدرتها على انتاج مركبات ايض ثانوية مثل المضادات الحيوية والانزيمات خارج خلوية (5) .

ينفرد جنس الستربتومايسيس بإنتاج عدد كبير من مضادات الحيوية، حيث تتمكن البكتريا الخيطية من انتاج 58 % من المضادات

* Corresponding author at: Anbar University - College of Science, Iraq;
E-mail address: thamer_bio@yahoo.com

الحيوية المعروفة ومعظم هذه المضادات تنتج من قبل بكتريا الستربتومايسس (6) .

كما لها القدرة على انتاج مركبات تدخل في فعاليات حيوية كثيرة التي تستخدم في تطبيقات التقانات الاحيائية (7)(8) .

تشكل كلفة الأوساط الزرعية الإنتاجية جزءا كبيرا من الكلفة الإجمالية للتخمرات الصناعية، اذ يتطلب إيجاد الوسط التخمري الأمثل عددا لا حصر له من عمليات التقييس والتحوير لنسب مكونات الوسط الزرعي لكي تواكب بثبات عمليات التخمر ، إذ يجب إخضاع الخامات المستخدمة والأوساط الأساس الجديدة إلى عمليات تقييس صارمة في التجارب التخمرية قبل استخدامها الفعلي في الإنتاج ، إذ تعتمد عملية التقييم على كلفة المادة الخام وحاصل الإنتاج الفعلي ونوعيته وكفاءة عملية الاستخلاص (9) .

لذلك اتجه الباحثون الى ايجاد مخلفات زراعية وصناعية كمصادر كربونية ونيتروجينية غير مكلفة لعمليات الانتاج وهي من التقنيات التي تم استخدامها في الوقت الحالي في تحسين إنتاج العديد من مضادات الحيوية (10) .

وفي هذا المجال اجريت دراسات عديدة في البرازيل لعزل بكتريا الستربتومايسس لها القدرة على استخدام المخلفات واستهلاك مركبات السليلوز للحصول على عزلة ذات كفاءة عالية في الانتاج لاستخدامها في التقنيات الاحيائية (11) .

حيث أمكن استخدام رماد نوى التمر في تحسين إنتاج مضاد الحيوية ألاوكسي تتراسايكلين Oxytetracyclin (12) ، واستخدم دقيق الصويا في إنتاج Clavulanic acid من النوع Streptomyces clavuligerus (13).

واستخدمت القيسي (14) كسبة زهرة الشمس مصدرا كاربونيا في تحسين الفعالية التثبيطية لعزلة الستربتومايسيس LMS22، ورماد نوى التمر مصدرا نيتروجينيا في زيادة الفعالية التثبيطية لنفس العزلة. كما استخدم الدليمي (15) مخلفات بذور القطن ومخلفات فول الصويا كمصادر كربونية ونتروجينية في تحسين الفعالية التثبيطية لبكتريا الستربتومايسس تجاه البكتريا المرضية.

المواد وطرائق العمل :

* تحديد الفعالية التثبيطية:

تم تحديد الفعالية التثبيطية تجاه بكتريا الاختبار باستخدام طريقة الانتشار حول أقراص الاكار Agar Disc Diffusion وطريقة المزارع السائلة باستخدام الحاضنة الهزازة (16) .

* التوصيف المظهري :

من أجل التوصيف المظهري لعزلات الستربتومايسس استخدمت الأوساط الزرعية آلاتية :

1- وسط الأملاح اللاعضوية–النشا الصلب.2- وسط مستخلص الخميرة–مستخلص الشعير الصلب.3- وسط الكليسيرول–اسباراجين الصلب.4- وسط التايروسين الصلب.5- وسط النشا–كازائين الصلب.

6- الوسط المغذي الصلب. حيث حددت كثافة النمو لبكتريا الستربتومايسيس O3 Streptomyces بالاعتماد على حجم المستعمرات وكثافة الابواغ وكالاتي:

(++++) كثافة نمو ممتازة، (+++) كثافة نمو جيدة جدا، (++) كثافة نمو جيدة، (+) كثافة نمو متوسطة، (+) كثافة نمو ضعيفة، (–) عدم النمو

* الاختبارات الكيموحيوية والفسلجية:

اجريت الاختبارات التالية للتوصيف:

انتاج انزيم Catalase , انتاج انزيم Oxidase، الكشف عن اختزال النترات، الكشف عن انزيم اليوريز، النمو بوجود الفينول، تحليل التايروسين، تحليل النشا، الكشف عن انتاج S2H، الكشف عن تحليل

الجيلاتين، الكشف عن استهلاك السترات، اختبار Lecithvetillen L.V.المدى الحراري للنمو، النمو في الاس الهيدروجيني 4.3، الكشف عن تحلل Tween-40، وتحلل Tween-80 ،اختبار تحلل كريات الدم الحمراء ،وفحص تكوين الاندول.

كما تم اختبار حساسية العزلة O3 Streptomyces لعدد من المضادات الحيوية.

* تأثير درجة الحرارة في نمو العزلة Streptomyces O3 والتوصيف المظهري لها:

لقحت اطباق كاوزا الصلب بمزروع العزلة بطريقة التخطيط وحضنت الاطباق بدرجات حرارية مختلفة (17,20,28,37,42,47,50) ولمدة 14 يوم ووصفت مظهريا خلال نموها في الدرجات الحرارية المختلفة وذلك بملاحظة المايسليا الارضية والهوائية ولونهما وانتاج الصبغات الذائبة (17) .

* اختبار النمو بوجود تراكيز ملحية مختلفة:

لقحت الاطباق الحاوية على وسط كاوزا الصلب ذات النسب الملحية المختلفة (4،7،10،13)% بطريقة التخطيط وحضنت الاطباق بدرجة حرارة 28م لمدة 14 يوم (18) .

* الاوساط الاختبارية:

تم عمل سلسلة من الاوساط الاختبارية السائله من خلال اضافة مسحوق نشارة الخشب بنسب مختلفة بديلا عن المصدر الكاربوني (الكلوكوز) في سلسلة الأوساط الاختبارية من1 إلى6 والتي تختلف بمحتواها من نشارة الخشب والكلوكوز جدول1 .

وبالنسبة للأوساط ألصلبه حضرت نفس الأوساط ألسابقه وأضيف إليها مادة الاكر وبنسبة 15 غم/لتر.

* بكتريا الاختبار المرضية:

استخدمت البكتريا المرضيه المشخصه المكورات العنقودية الذهبية Staph. aureus وبكتريا الاشريكيا القولونية E. coli والتي تم الحصول عليها من مختبرات كلية العلوم–جامعة الانبار والمعزولة من حالات مرضية.

النتائج والمناقشة:

اختيرت العزلة *Streptomyces O3* المعزولة محليا على اساس قدرتها على استخدام السليلوز(نشارة الخشب) كمصدر كربوني في انتاج الفعالية التثبيطية تجاه البكتريا المرضيه *Staph. aureus* و *E. coli* كما تم استخدام العزلة *Streptomyces TS36* المشخصه مسبقا في كلية العلوم– جامعة الانبار والتي تمتاز بفعاليتها العالية في تثبيط البكتريا الموجبة لصبغة كرام.

التشخيص المظهري والفسلجي للعزلة *Str. O3:*

تم تشخيص العزلة *Str O3* باستخدام الاختبارات الكيموحيوية والفسلجية وقد وجد ان هذه الصفات مشابهة لصفات بكتريا الستربتومايسس وحسب ماورد في Bergy's Manual (19)، اظهرت النتائج تباين في الوان المايسيليا الهوائية والارضية باختلاف الوسط الزرعي المستخدم، فقد تباينت الوان المايسيليا الارضية بين الجوزي الغامق والكريمي وتباينت الوان المايسيليا الهوائية بين الرصاصي والبني وتمكنت من انتاج الصبغة الذائبة في جميع الأوساط ألمستخدمه جدول 2 .

وصفت العزلة *Str O3* فسلجيا باستخدام عدد من الاختبارات الفسلجية والكيموحيوية اذ تمكنت من انتاج انزيمي الكاتليز واليوريز وتحليل التايروسين والنشأ ومن النمو في وسط ذي اس هيدروجيني 4.3 جدول 3 ، وتمكنت العزلة من مقاومة معظم انواع المضادات الحيوية المستخدمة لملاحظة حساسية هذه العزلة تجاه انواع المضادات الحيوية جدول 4 وهذا دليل على قدرة هذ العزلة على انتاج أنواع متعددة من

مركبات الايض الثانوية مثل المضادات الحيوية على اعتبار ان البكتريا المنتجـه لمضـادات متعـددة تـتمكن مـن مقاومـة انـواع عديـدة مـن المضادات الحيوية (20).

اختيار درجة الحرارة المثلى لنمو العزلة*Str O3* والتوصيف المظهري لها:

تمكنت العزلة *Str O3* من النمو بدرجات حرارية تراوحت بين 17–50م ووجد ان لهذه العزلة القدرة على تحمل درجات الحرارة العالية، اذ انها نمت بصورة افضل وانتجت الصبغة الذائبة بارتفاع درجة الحرارة، اذ كان نموها ممتاز بدرجة حرارة 37 ثم انخفض النمو قليلا ليصبح جيد جدا بدرجات الحرارة 42و47م وجيد بدرجة حرارة 50م جدول5 ، حيث تباينت الوان المايسيليا الهوائية باختلاف درجة الحرارة بين البني والجوزي والقهوائي وكانت الوان المايسيليا الارضية بين الابيض والرصاصي وتمكنت من انتاج الصبغة الذائبة بصورة ممتازة بارتفاع درجة الحرارة وصولا الى درجة 42م لينخفض قليلا انتاج الصبغه ولكنها تمكنت من انتاج الصبغه وصولا الى درجة 50م وهذا يتفق مع ما اشار اليه (21) على قدرة العزلة *Streptomyces strain BA7* على انتاج بعض الانزيمات المحللة والصبغات بارتفاع درجة الحرارة التي قد تصل الى 50 م.

قدرة العزلة *Str O3* على النمو بتراكيز ملحية عالية:

تمكنت هذه العزلة من النمو بتراكيز ملحية مختلفة حيث تمكنت من النمو في وسط بتركيز ملحي 7% جدول 6 وهذا يشير الى انها متحملة للملوحة halotolerant لانها تنمو بصورة جيدة بدون وجود تراكيز ملحية ولكنها تمكنت من النمو وانتاج الفعالية التثبيطية (بصورة ضعيفة) بوجود 7% وقد يفسر هذا قدرة هذه العزلة على انتاج انزيم السليليز اذ اشار (22) الى وجود بعض الاجناس البكتيرية التي تمتاز بتحملها للملوحة والقدرة العالية على انتاج انزيم السليليز، حيث تتراوح معظم انواع بكتريا الستربتومايسس من حساسة جدا الى عالية التحمل (23) .

قدرة عزلتي الستربتومايسس *Str O3, Str TS36* على استخدام نشارة الخشب كمصدر كربوني في انتاج الفعالية التثبيطية:

تمكنت كلتا العزلتين من استخدام نشارة الخشب بصورة ممتازة لانتاج الفعالية التثبيطية تجاه بكتريا *Staphylococcus aureus* ، حيث تمكنت العزلة *Str O3* من النمو وانتاج الفعالية التثبيطية في اوساط اختبارية صلبة تجاه بكتريا الاختبار *Staphylococcus aureus* في الاوساط الاختبارية 2و3و4و5 بصورة مماثلة لوسط السيطرة 1 الخالي من نشارة الخشب وكانت اعلى فعالية في الوسط الاختباري 4 اذ بلغ قطر التثبيط 18 ملمتر صورة 1 شكل 1 وايضا تمكنت من انتاج الفعالية التثبيطية تجاه بكتريا الاختبار *E. coli* في نفس الاوساط الاختبارية اعلاه وبصورة مماثلة ايضا لوسط السيطرة 1 صورة 2 شكل 1 ، كما تمكنت العزلة *Str TS36* ايضا من النمو وانتاج الفعالية التثبيطية تجاه بكتريا *Stahpylococcus aureus* فقط وبصورة ممتازة صورة 3و4 شكل 2 اذ كان اعلى انتاج لها في وسطي الاختبار 2و3 وكان مماثل لوسط السيطرة 1 وهذا دليل على قدرة هاتين العزلتين على انتاج انزيم السليليز وتحطيم السليلوز الموجود في نشارة الخشب وتحويله الى الكلوكوز واستخدامه كمصدر كربوني لانتاج الفعالية التثبيطية اذ يتالف السليلوز من وحدات من الكلوكوز المرتبطه مع بعضها بواسطةβ-D-1.4 glycosidic bonds (24) اذ يتمكن انزيم السليليز من تحطيم الاواصر glucosidic bonds الموجودة بين وحدات الكلوكوز بواسطة الية acid hydrolysis mechanism (25)، او يحول السليلوز الى الاوليكوسكرايد والتي هي عبارة عن ثلاث مركبات رئيسية β- 1.4- glucanase(E.C.3.2.1.4) , β- 1.4- glucanase(E.C.3.2..1.19) and β- glucosidase(E.C.3.2.1.21) (26).

وهـذا يتفـق مـع (27) و(28) علـى ان معظـم أنـواع بكتريـا الستربتومايسس لها القدرة على تحليل السليلوز بصورته المعقدة، وهي لها الدور الكبير في تحليل السليلوز بصورة كاملة في التربة والمخلفات العضوية .

استخدمت طريقتي المزارع الصلبة والمزارع السائلة لتنمية عزلتي الستربتومايسس المستخدمة قيد البحث بوجود نشارة الخشب، حيث اظهرت النتائج قدرة العزلة *Str TS36* من انتاج الفعالية التثبيطة تجاه بكتريا الاختبار بصورة ممتازة سواء في الاوساط الصلبة او السائلة صورة 3و4 شكل 2 في حين لم تتمكن العزلة *Str O3* من انتاج الفعالية في الاوساط السائلة بصورة جيدة وهذا يعود ربما لقدرة العزلة على انتاج مركبات الايض الثانوي بتخمرات الحالة الصلبة افضل من المزارع السائلة كما في العزلة *Str TS36* وهذا ما اشار اليه (29) على قدرة بعض الاحياء المجهرية من انتاج مركبات الايض الثانوية بظروف التخمرات الصلبة افضل من المزارع السائلة.

اذ تلعب ظروف المزرعة دورا مهما في المساعدة على انتاج مركبات الايض الثانوية ومنها المضادات الحيوية (30)(31)، حيث استخدم (32)السليلوز كمصدر كربوني في تنمية عزلات بكتريا الستربتومايسس لانتاج بعض مركبات الايض الخارجية في مزارع سائلة تحت ظروف الحاضنة الهزازة.

كما اظهرت النتائج عدم قدرة كلتا العزلتين من انتاج الفعالية التثبيطية بصورة جيدة في الوسط الاختباري 6 الخالي من الكلوكوز والحاوي فقط على 2غم من نشارة الخشب كمصدر كربوني صورة 1و3 شكل 1و2، وهذا قد يعود لاستخدام كلتا العزلتين الكلوكوز الموجود في بقية الاوساط الاختبارية في طور النمو السريع لايصالها الى طور الانتاج حيث تبدأ باستخدام السليلوز الموجود في نشارة الخشب وتقوم بتحطيمه وبالتالي انتاج مركبات ضد ميكروبية التي تعمل على تثبيط البكتريا المرضية وهذا يتفق مع ما اشار اليه (33) من عدم تمكن بكتريا الستربتومايسس من استخدام السليلوز كمصدر اولي بوجود الكلوكوز حيث اشار الى ان بكتريا الستربتومايسس تستخدم الكلوكوز في بداية نموها الى ان تصل الى مرحلة الانتاج لتبدأ بعدها باستخدام مركبات السليلوز كمركبات ثانوية في الوسط.

المصادر:

[1] Goodfellow, M. and Cross, T. (1984). Classification. In:(Goodfellow, M.;Mordarski, M. and Williams, S. T. eds). The biology of the actinomycetes. Academic press, London. Pp.7-163.

[2] Locci, R. (1989). Streptomycetes and related genera. In: (Williams, S. T.; Sharpe, M. E. and Holt, J. G. eds.) Bergy's manual of systematic bacteriology. Williamsand Wilkins Co., Baltimore.4:2451-2508.

[3] Semeˆdo, L. T. A. S., Linhares, A. A., Gomes, R. C., Manfio, G. P., Alviano, C. S., Linhares, L. F. and Coelho, R. R. R. (2001). Isolation and characterization of actinomycetes from Brazilian tropical soils. Microbiol Res 155: 291–299.

[4] Williams, S. T.; Lanning,S. and Wellington E.M.(1983). Ecology of Actinomycetes. In: Actinomycetes (goodfellow, M.; Mordarski, M. and Williams, S. T. eds.)Academic press, London. pp 481-528.

[5] Inbar, E.; Green, S.J.; Hadar, Y.; Minz, D. (2005). Competing factors of compost concentration and proximity to root affect the distribution.of .streptomycetes..Microb-iology Ecology. 50:73-81.

[6] Edawrd, D. I. (1980) History of chemotherapy. In: Antimicrobial Drug Action. MacMillan press Ltd. Pp1-9.

[7] Okami, Y. and Hotta, K.(1988). Search and discovery of new antibiotics. In: Actinomycetes in Biotechnology. Edition by Goodfellow, M.; Williams, S. T. and Mordarski, M.)Academic press, London. pp.37-67.

[8] Bull, A. T.; Goodfellow, M. and Slater, J. H.(1992). Biodiversity as a source of innovation in biotechnology. Annu Rev. Microbiol. 46:219-252.

[9] العبيدي، اياد محمد علي (1996). دراسة فسلجية ووراثية لبكتريا الستربتومايسس المنتجه لمضادات الحيوية المعزولة محليا. اطروحة دكتوراه، كلية العلوم–جامعة بغداد.

[10] Bourret, R. B.; Borkovich, K. A. and Simon, M. I.(1991). Cited by: Vining, L. C. (1993). Genetic and environmental control of antibiotic production. Biotechnol., London.

[11] Hopkins, D. W.; MacNaughton, S. J. and O'Donnell, A. G. (1991). A dispersion and differential centrifugation technique for representation sampling microorganisms from soil. Soil Biol Biochem. 23:217-225.

[12] Ali, A. Z.; Abdelrahman, N. and Baghlaf, A. (1993). Use of data products in production of Oxytetracycline by Streptomyces rimosus. J. Biotechnol. 57:987-988.

[13] Sircar, A.; Sridhar, P. and Das, P. K. (1998). Optimization of solid state medium for the production of clavulanic acid by streptomyces clavuligerus. Biochem. 33:283-289.

[14] القيسي، لقاء مجيد .(2001). دراسة تاثير بعض العوامل في نمو بكتريا الستربتومايسس وفعاليتها ضد الميكروبية. رسالة ماجستير، كلية العلوم–جامعة الانبار.

[15] الدليمي، ثامر يوسف (2004). دراسة انتاجية المواد الضد ميكروبية من عزلات محلية لبكتريا الستربتومايسس باستغلال بدائل محلية للاوساط الغذائية. رسالة ماجستير، كلية العلوم–جامعة الانبار.

[16] Egorov, N. S. (1985). Antibiotic a scientific approach. Mir publisher. Moscow.

[17] Shirling, E. B. and Gottlieb, D. (1966). Methods for characterization of Streptomyces ssp. Int.J. Sys. Bacteriol. 16:313-340.

[18] Kutzner, H.J. (1981). The family streptomycetaceae. In: (Starr, M. P.; Stolp, H.; Truper, H. G.; Balows, A. and Schlegal, H.G.

isolated Amazon Bacillus strains using soya been industrial residue based Solid state cultivation. Braz. J. Microbiol., 33:213-218.

[25] Hild´en, L., Johansson, G. (2004). Recent developments on cellulases and carbohydrate-binding modules with cellulose affinity. Biotechnol. Lett. 26: 1683–1694.

[26] Ishaque, M. and Kluepful, D. (1980). Cellulase complex of mesophilic Streptomyces strain. Can. J. Microbiol. 26:183-189.

[27] Tomme, P.; Warren, R. A. and Gilkes, N. (1995). Cellulose hydrolysis by bacteria and fungi. Advances in Microbial Physiology. 37:1-81.

[28] Semeˆdo, L.T.; Gomes, R.C.; Linhares,A.A.;..Duarte,G.F.;..Nascimento,R. P.; Rosado,A. S.; Margis-Pinheiro,M.; Margis,R.; Silva,K. R. A.; Alviano,C. S.; Manfio,G. P.; Soares,R. M.; Linhares L. F. and Coelho, R. R.(2004). Streptomyces drozdowiczii sp. nov., a novel.cellulolytic streptomycete from soil in Brazil. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. 54: 1323–1328

[29] Roberto, D.S.; Ellen, S.L.; Carolina, W.; Mariana, M.; Youg, K.P.and Eleni, G. (2005). Production of xylanase and CMCase on solid-state fermentation in different residues by Theroascus..aurantiacus..MIEHE.Braz.J.Microbiol.:36, 235-241.

eds.). The prokaryotes: A handbook on habitat, isolation and identification of bacteria.Springer-Verlag, berlin. Pp.2028-2089.

[19] Stanley, T. and Williams, S. T. (1989). Bergey's Manual of Determinative Bacteriology.(Williams and Wilkins, eds.).Vol. 4. Wilkins and Williams Co., Baltimore.

[20] Vining, L. C. (1979). Antibiotic tolerance in producer organisms. Adv. Applied Microbiol. 25:147-168.

[21] Korkmazi, H.; Unaldi, M. N.; Aslani, B.; Coral, G.; Arikan, B.; DiNcer, S. and Colak, O. (2003). Keratinolytic activity of Streptomyces strain BA7, a new isolate from Turkey. Annals of Microbiology, Department of Biology, Mersin, Turkey. 53, 85-93

[22] Voget, S.; Steele, H.L. and Streit, W.R. (2006). Characterization of a metagenome-derived halotolerant cellulose. Molecular Enzyme, Journal of Biotechnology. Duisburg, Germany. 126:26–36

[23] Kuster, E. and Neumeier, W. (1981). Halotolerance in some Streptomycetes producing tetracyclins. In: Actinomycetes (Schaal, P. K. and Pulverer, G. eds.). Guster Fischer Verlag, Stuttgart, NY.pp:312-315.

[24] Heck, J. X.; Hertz, P. F. and Ayub, M. A. Z.(2002). Cellulase and xylanase production by

نشارة الخشب	-	0.3غم	0.7غم	1.5غم	2غم	10غم

جدول (2) التوصيف المظهري للعزلة Str O3 باستخدام اوساط زرعية مختلفة لمدة 14 يوم بدرجة 28م

نوع الوسط المستخدم	المايسيليا الارضية ولونها	المايسيليا الهوائية ولونها	انتاج الصبغات الذائبة
وسط التايروسين الصلب	جوزي غامق ++++	رصاصي ++++	بيجي غامق +++
وسط النشأ- كازائين الصلب	جوزي غامق ++++	رصاصي +++	بني فاتح ++++
وسط كليسيرول- اسبارجين الصلب	جوزي غامق +++	رصاصي +++	بني فاتح ++
وسط YEME	جوزي ++++	رصاصي ++++	بني الى جوزي ++
وسط الاملاح اللاعضوية- النشأ الصلب	جوزي +++	بني الى رصاصي +++	بني فاتح +++
الوسط المغذي الصلب	كريمي +++	رصاصي فاتح +	بني فاتح ++

(++++) نمو ممتاز ، (+++) نمو جيد جدا ، (++) نمو جيد ، (+) نمو متوسط ،

جدول (3) حساسية العزلة *Str O3* تجاه بعض المضادات الحيوية

Type of antibiotics	Response to antibiotic

[30] Levin, L. and Forchiassian, F. (1995). Effect of carbon and Nitrogen sources on cellulatic activity of Trametes trogii. Rev. Argent. Microbiol. 27:11-20.

[31] Chellapandi, P.and Himanshu, M.J. (2002). Culture condition for enhanced endoglucanase production by the native strains of Streptomyces sp. International conference of SAARC countries on Biotechnology in Environment, Agriculture and Industry, Karad, India, p.80.

[32] Harchand, R. K. and Singh, S. (1997). Characterization of cellulase complex of Streptomyces albaduncus . J. Basic. Microbiol. 37:93-103.

[33] Chellapandi, P. and Himanshu, M. (2008). Production of endoglucanase by the native strains of Streptomyces isolates in submerged fermentation. Braz. J. Microbiol. 39:122-127.

جدول (1) سلسلة الأوساط الاختبارية

سلسلة الاوساط الاختبارية	سلسلة الاوساط الاختبارية					
	1	2	3	4	5	6
كلوكوز	2 غم	1.5غم	0.7غم	0.3غم	-	-
ببتون	10غم	10غم	10غم	10غم	10غم	-

Erythromycin E5	Naldixic acid NA30	Carbencillin CAR100	Streptomycin S10	Amoxycillin AML10	Clindamycin	Gentamycin CN 30	Nitrofurans F300	Trimethoprime w	Cloxacillin oB 5	Fusidic acid FD 10	Rifampicin RD 30
R	R	R	S	R	R	S	S	R	R	S	R

Lincomycin MY2	Cefotaxime CTX30	Tetracycline TE30	Polymyxin B PB300
R	R	R	S

R: Resistance **S: Sensitive**

جدول (4) الاختبارات الكيموحيوية التشخيصية للعزلة *Str. O3*

نوع الاختبار	Streptomyces O3
انتاج انزيم Catalase	+
انتاج انزيم Oxidase	–
الكشف عن اختزال النترات	–
الكشف عن انزيم اليوريز	+
النمو بوجود الفينول	+
تحليل التايروسين	+

تحليل النشا		+
الكشف عن انتاج H2S		–
الكشف عن تحليل الجيلاتين		++
الكشف عن استهلاك المنترات		+
اختبار Lecithvetill en L.V.		+
المدى الحراري للنمو	17–50 درجة مئوي	
النمو في الاس الهيدروجيني 4.3		+
الكشف عن تحلل Tween- 40		+
الكشف عن تحلل Tween- 80		+
اختبار تحلل كريات الدم الحمراء		+
تكوين الاندول		–

جدول (5) التوصيف المظهري للعزلة *Str O3* باستخدام وسط كاوزا الصلب بدرجات حرارية مختلفة

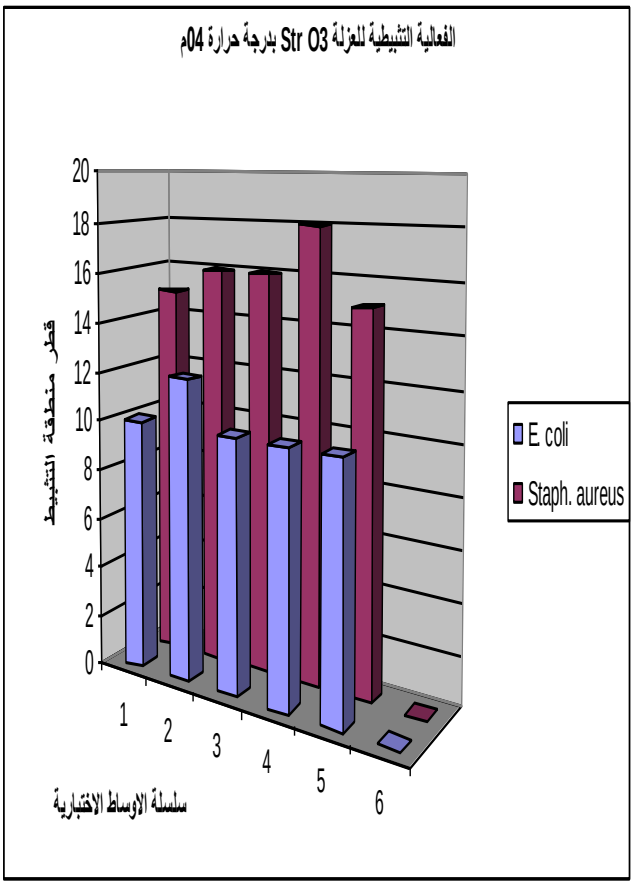
الصفة / درجة الحرارة	17م	20م	28م	37م	42م	47م	50م
لون المايسيليا الارضية ونموها	بني+	برتقالي +	جوزي +++	جوزي غامق ++++	جوزي غامق +++	جوزي غامق +++	قهواني الى بيجي +
لون المايسيليا الهوائية ونموها	بني فاتح+	ابيض مائل للبرتقالي +	رصاصي +++	رصاصي غامق ++++	رصاصي +++	رصاصي الى ابيض +++	رصاصي ++
انتاج صبغة الميلانين	–	–	قهواني ++	قهواني +++	بني الى جوزي +++	بني الى جوزي ++	بني الى جوزي +

(++++) نمو ممتاز ، (+++) نمو جيد جدا ، (++) نمو جيد ، (+) نمو متوسط ، (±) نمو ضعيف، (–) لا يوجد نمو

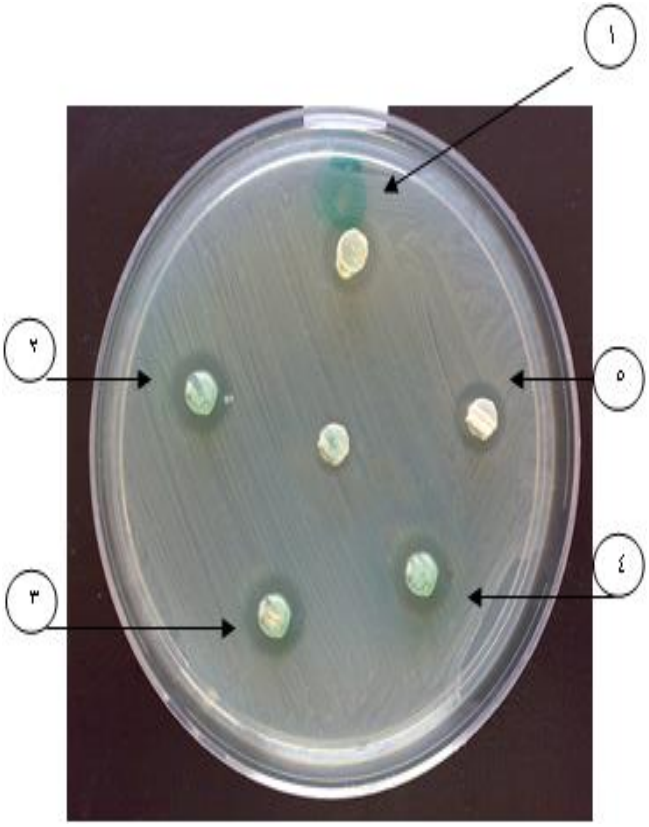
جدول (6) النمو في تراكيز ملحية مختلفة للعزلة *Str O3*

التركيز	%4	%7	%10	%13
Streptomyces O3	++	+	–	–

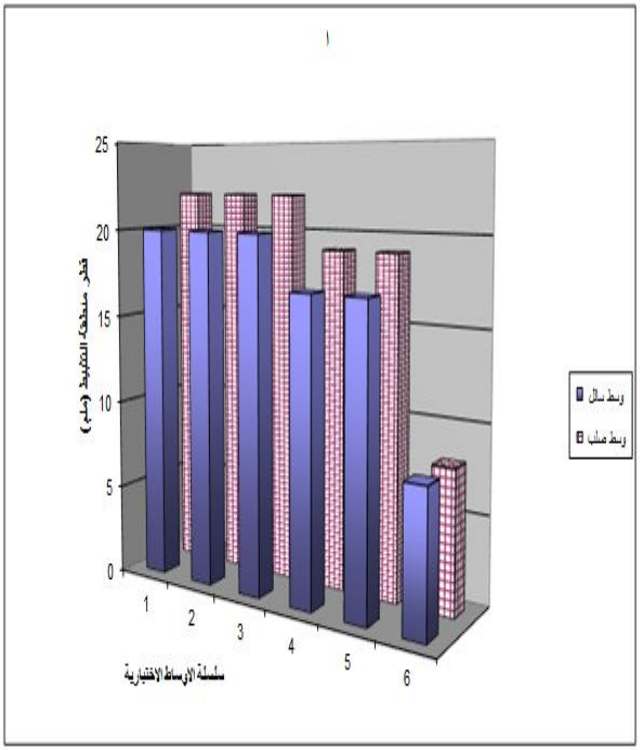
P- ISSN 1991-8941 , E-ISSN 2706-6703 (*JUAPS*) مجلة جامعة الانبار للعلوم الصرفة Open Access
2008 ,(2), (3) :69-81



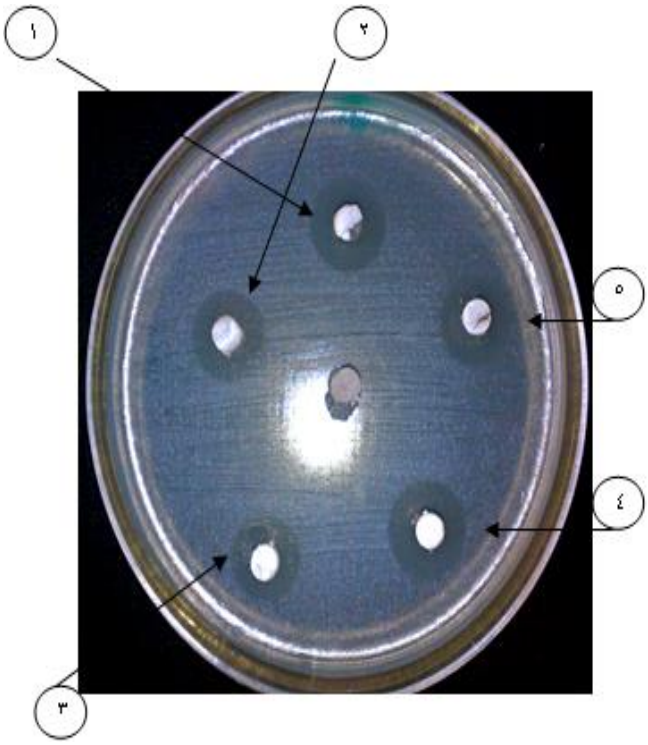
شكل (1) الفعالية التثبيطية في الاوساط الصلبة للعزلة *Streptomyces O3* بدرجة حرارة 40م



صورة (2) الفعالية التثبيطية للعزلة *Str O3* بوجود نشارة الخشب تجاه *E. coli* بدرجة حرارة 40م

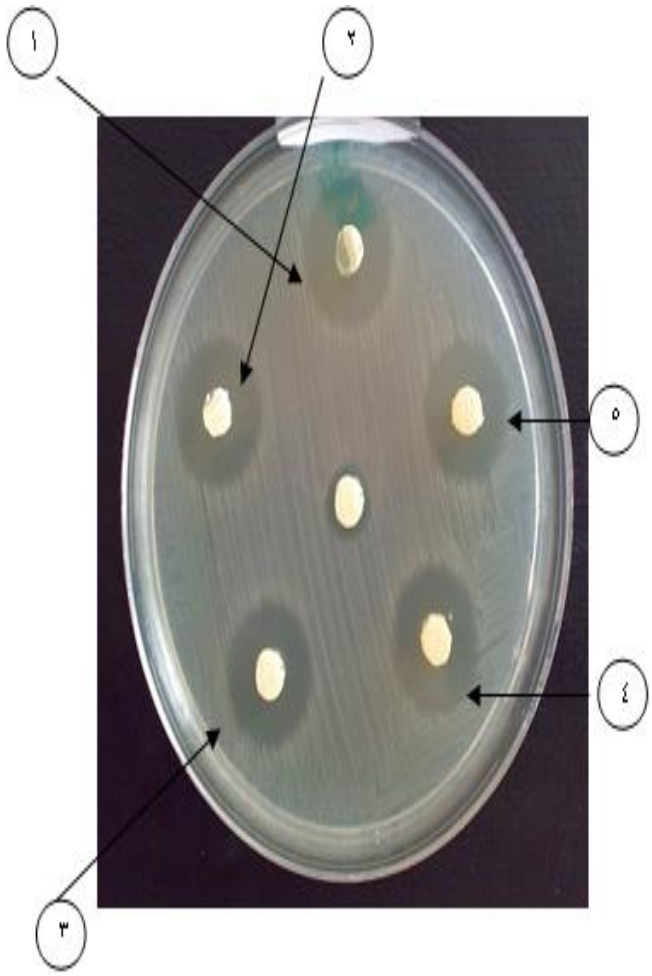


شكل (2) الفعالية التثبيطية للعزلة *Str TS36* تجاه بكتريا *Staph. aureus* بدرجة حرارة 28م

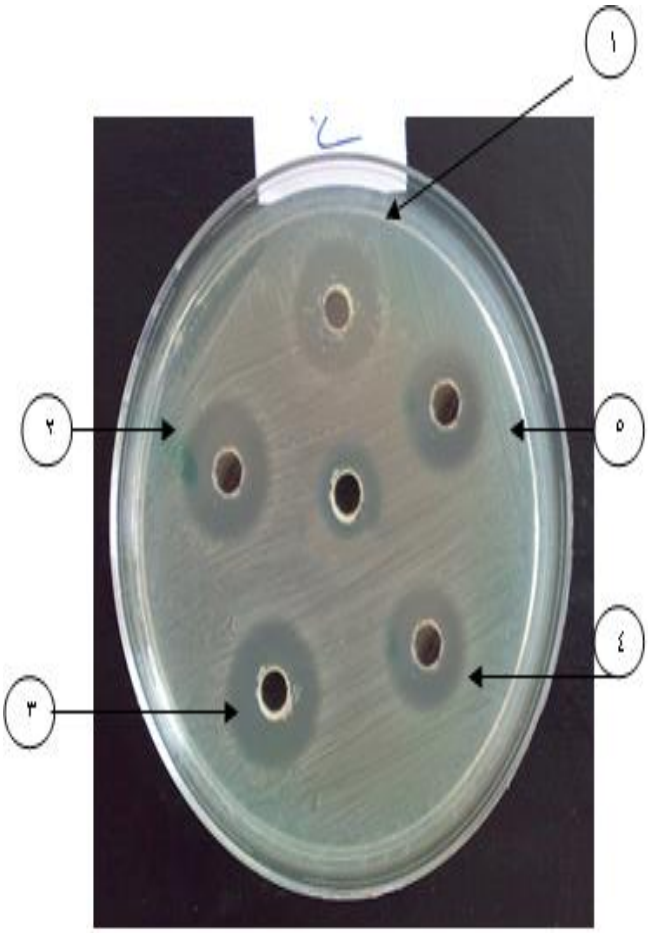


صورة (1) الفعالية التثبيطية للعزلة *Str O3* بوجود نشارة الخشب تجاه *Staph. Aureus* بدرجة حرارة 40م

P- ISSN 1991-8941 , E-ISSN 2706-6703 (*JUAPS*) مجلة جامعة الانبار للعلوم الصرفة Open Access
2008 ,(2), (3) :69-81



صورة (3) الفعالية التثبيطية للعزلة ***Str TS36*** بوجود نشارة الخشب في الاوساط الصلبة تجاه ***Staph. Aureus*** بدرجة حرارة 28م



صورة (4) الفعالية التثبيطية للعزلة ***Str TS36*** بوجود نشارة الخشب في الاوساط السائلة تجاه ***Staph. Aureus*** بدرجة حرارة 28م

P- ISSN 1991-8941 , E-ISSN 2706-6703 (*JUAPS*) مجلة جامعة الانبار للعلوم الصرفة Open Access
2008 ,(2), (3) :69-81

Test the inhibition activity of two local Streptomyces isolates by used sawdust as a carbone source

Thamer Yousif Motr

Email: thamer_bio@yahoo.com

Abstract:

Two local Streptomyces (*Streptomyces O3 & Streptomyces TS36*) was used in this study. The isolate *Str. O3* has been isolated from one of Ramadi city soil, the isolate has been selected based on it's ability of producing cellulase through it's ability of digesting sawdust as culture medium to test inhibition activity against some pathogenic bacteria. The isolate *Stre.TS36* prediagnosed in college of science-University of Al-Anbar has also been used. The isolate *Str.O3* was described phenotypically and physiologically by many cultures media, also has been diagnosed by different temperatures, and it's ability of growth in different salt concentrations and different pH was also tested, in which selected optimum conditions to producing inhibition activity against tested pathogenic bacteria *Staphylococcus aureus* & *E. coli*..

Result showed the ability of the two selected streptomyces used in studying it's utilization of sawdust as a carbon source for growth and production of inhibition activity against pathogenic bacteria, in which the solid culture and liquid culture methods were used to grow the two local isolates to produce the inhibition activity in presence of sawdust, both isolates were able to produce the inhibition activity in both solid and liquid cultures, the isolates *Str.O3* and *Str.TS36* were able to produce inhibition activity in test cultures 2,3 and 4 containing 0.3, 0.7 and 1.5 g/ml of sawdust respectively against *Staphylococcus aureus* similar to or little better than control culture that does not contain sawdust, also the isolates *Str.O3* was able of producing inhibition activity in the same previous test cultures against *E. coli*, the isolate *Str. O3* showed high stability in high temperature in which it was able to grow and produce inhibition activity in temperature 40C^0 comparing with isolate *Str.TS36* that was able to grow and produce inhibition activity in 28 C^0.