

**Isolation and Evaluation of Marine Actinomycetes from Mangrove Forests in South of Iran against Some Human Bacterial Pathogens**

**Kafilzadeh F\*<sup>1</sup>, Dehdari F<sup>1</sup>, Namdar N<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Department of Biology, School of Basic Sciences, Islamic Azad University, Jahrom Branch, Jahrom, Iran

\*Corresponding Author. Tel: +989171140799 Fax: +987913331019 E-mail: Kafilzadeh@jia.ac.ir

Received: 30 December 2011 Accepted: 23 December 2012

**ABSTRACT**

**Background & Objectives:** Recent studies have shown that aquatic actinomycetes can be a source of new biological products such as antibiotics and industrial products. This study was designed to examine the aquatic actinomycetes isolated from mangrove forests in South of Iran and their antibacterial activities against some human pathogens.

**Methods:** In this study 115 samples were randomly taken from different places of a mangrove forests in South of Iran. Isolation was based on serial dilution of the samples and plating them on starch casein agar medium. Agar well diffusion and disc diffusion assays were used to examine the antibacterial activity of the isolated purified aquatic actinomycetes.

**Results:** The aquatic actinomycetes were isolated from 83 samples (70%). Of them, 66 (80 percent) showed antibacterial activity and 17 (20%) could not inhibit the human pathogenic bacteria. The diameter of the inhibitory zones (ZOI) ranged from 4 to 11 mm and the biggest zone belonged to *Bacillus cereus* ( $p \leq 0.05$ ).

**Conclusion:** The findings showed that the various and useful aquatic actinomycetes for production of new antibiotic compounds are isolated easily from the mangrove forests in South of Iran. Considering the vast spreading of mangrove forests in South of Iran and the economic and simplicity of isolation of actinomycetes for industrial usage, these source can be an important and new place for research and industry.

**Keywords:** Aquatic Actinomycetes; Mangrove Forests; Well Diffusion Assay; Disc Diffusion Assay

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

فرشید کفیل زاده<sup>۱\*</sup>، فرانک دهداری<sup>۱</sup>، نجمه نامدار<sup>۱</sup>

<sup>۱</sup> گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد جهرم، جهرم، ایران

\*نویسنده مسئول. تلفن: ۰۹۱۷۱۱۴۰۷۹۹ فاکس: ۰۷۹۱۳۳۳۱۰۱۹ E-mail: Kafilzadeh@jia.ac.ir

### چکیده

**زمینه و هدف:** تحقیقات اخیر نشان داده که اکتینومایست‌های آبی می‌توانند منبعی از فرآورده‌های بیولوژیک جدید از جمله آنتی‌بیوتیک‌ها و محصولات صنعتی به شمار آیند. هدف از این تحقیق، مطالعه اکتینومایست‌های آبی 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 آبی، در محیط نشاسته کازئین آگار خالص سازی شد. برای بررسی فعالیت ضدباکتریایی اکتینومایست‌های آبی جداسازی و خالص شده، از دو روش استاندارد چاهک گذاری و دیسک گذاری استفاده گردید.

**یافته‌ها:** اکتینومایست آبی 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 ۱۱-۴ میلی متر بود که بیشترین هاله مربوط به باسیلوس سرئوس بود ( $p < 0/05$ ).

**نتیجه‌گیری:** نتایج نشان داد اکتینومایست‌های آبی 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 آبی از این مناطق، می‌تواند به عنوان یک قطب مهم و جدید برای تحقیق و صنعت محسوب شود.

**کلمات کلیدی:** اکتینومایست‌های آبی، جنگل‌های حرا، روش چاهک گذاری، روش دیسک گذاری

دریافت: ۹۰/۹/۳۰ پذیرش: ۹۱/۱۰/۳

### مقدمه

غذایی و آفت کش‌ها را دارند [۴]. 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 بیماری‌زا نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های 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].

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 [۱-۲]. از نظر رده‌بندی دارای جنس‌های مهمی مانند: میکرومونوسپرا، نوکاردیا و استریپتومایسس می‌باشند [۳] که به دلیل بزرگی ژنومشان توانایی تولید انواعی از متابولیت‌های ثانویه از جمله آنتی‌بیوتیک‌ها، آنزیم‌های صنعتی، مواد ضد توموری، متابولیت‌های

تحقیق جداسازی اکتینومایست‌های آبرزی از جنگل‌های «حرا» در جنوب ایران و بررسی فعالیت ضد باکتریایی آن‌ها علیه سویه‌های بیماری‌زای انسانی شامل: اش‌ریشیاکلی<sup>۲</sup>، پروتئوس میرابیلیس<sup>۳</sup>، استافیلوکوکوس اورئوس<sup>۴</sup>، باسیلوس سرئوس<sup>۵</sup>، سودوموناس اثر و جینوزا<sup>۶</sup> 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 نمونه‌گیری به صورت تصادفی انجام شد). سپس نمونه‌ها در زمان کمتر از ۲۴ ساعت به آزمایشگاه انتقال داده شد [۶].

### جداسازی و خالص سازی اکتینومایست‌های آبرزی

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. نمونه‌های رشد کرده بعد از مدت زمان انکوباسیون، از نظر مشخصات ظاهری کلنی از قبیل رنگ، جنس، نوع کنیدی و همچنین با استفاده از تست‌های بیوشیمیایی و رنگ آمیزی گرم بررسی گردید. سپس از هر نوع کلنی به طور مجزا بر روی محیط کشت نشاسته کازئین آگار<sup>۷</sup> و وودروف<sup>۸</sup> به صورت خطی کشت داده شد

میکروارگانیزم‌های آبرزی منبع مهمی از مولکول‌ها جهت تحقیقات صنعتی هستند و امروزه تمایل به استفاده صنعتی و دانشگاهی از این میکروارگانیزم‌های آبرزی در حال افزایش است، زیرا متابولیت‌های این میکروارگانیزم‌های آبرزی از نظر زیستی بی‌نظیر می‌باشند [۷]. تحقیقات اخیر نشان داده است که اکتینومایست‌های آبرزی می‌توانند یک منبع خوب و مهم برای شناسایی و کشف محصولات بیولوژیک جدید از جمله مولکول‌های باارزش آنتی‌بیوتیکی و آنزیم‌های صنعتی (سلولاز، آمیلاز، کیتیناز و ژلاتیناز) به شمار آیند [۸]. بررسی اکتینومایست‌های آبرزی 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 [۷، ۶]. بررسی منابع و داده‌ها نشان می‌دهد که تا کنون مطالعه جامعی در مورد اکتینومایست‌های آبرزی 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<sup>۱</sup> 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 میکروارگانیزم‌های متفاوت و شکل‌گیری جریان‌ها حاصله، شده است [۱۲].

بنابراین باتوجه به اهمیت متابولیت‌های ثانویه تولید شده توسط اکتینومایست‌های آبرزی، هدف از این

<sup>1</sup> Mangrove

<sup>2</sup> *E. coli*

<sup>3</sup> *Proteus mirabilis*

<sup>4</sup> *Staphylococcus aureus*

<sup>5</sup> *Bacillus cereus*

<sup>6</sup> *Pseudomonas aeruginosa*

<sup>7</sup> Starch Casein Agar

<sup>8</sup> Woodruff

ریخته شد. سپس برای بررسی قطر هاله عدم رشد، پلیت‌ها به مدت ۲۴ 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 آبی قرار داده شد و پس از کشت سطحی باکتری‌های پاتوژن (کشت ۲۴ ساعته) روی سطح محیط مولر هینتون 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 ۲۴ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد بررسی گردید.

همچنین پلیت‌هایی با محیط مشابه (بدون تلقیح سوپرناتانت اکتینومایست‌های آبی) 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<sup>۴</sup> و دانکن<sup>۵</sup> صورت گرفت و در مرز معنی داری در سطح  $p \leq 0.05$  قرار داده شد.

#### یافته‌ها

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

تا نمونه‌ها خالص کردند [۱۴]. همچنین برای اطمینان یافتن از هویت باکتری‌های جداسازی شده به عنوان اکتینومایست، از جداول و تست‌های تأییدی کتاب برگ<sup>۱</sup> کمک گرفته شد [۱۵].

#### تهیه سوبه باکتری‌های پاتوژن انسانی

سوبه‌های باکتریایی پاتوژن انسانی مورد استفاده در این مطالعه شامل: استافیلوکوکوس اورئوس (10831 ATCC)، پروتئوس میرابیلیس (12453 ATCC)، اش‌ریشیاکلی (25922 ATCC)، سودوموناس آئروچینوزا (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 پاتوژنیسته اکتینومایست‌های آبی جداسازی شده از دو روش چاهک گذاری<sup>۲</sup> و دیسک گذاری<sup>۳</sup> استفاده شد [۱۶].

#### روش چاهک گذاری

در این روش کلنی‌های خالص شده‌ی اکتینومایست‌های آبی در محیط کشت نوترینت برات تلقیح شد سپس به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۴- درجه با دور ۴۵۰۰ rpm سانتریفیوژ و محلول رویی جداسازی گردید [۱۷]. پس از تهیه سوسپانسیون باکتری‌های پاتوژن مورد استفاده در این پژوهش با کشت ۲۴ ساعته (تهیه غلظت معادل با نیم مک فارلند)، یک سی‌سی از سوسپانسیون باکتریایی روی محیط کشت مولر هینتون آگار به صورت سطحی کشت داده شد. پس از جذب سوسپانسیون باکتریایی در محیط کشت، چاهک‌هایی به قطر ۶-۴ میلی‌متر روی سطح محیط کشت تعبیه و درون هر چاهک مقادیر مشخصی (۷۰-۱۰۰ میکرولیتر) از سوپرناتانت اکتینومایست‌های آبی

<sup>1</sup> Bergey's Manual of Systematic Bacteriology

<sup>2</sup> Well Diffusion Assay

<sup>3</sup> Disc Diffusion Assay

<sup>4</sup> ANOVA

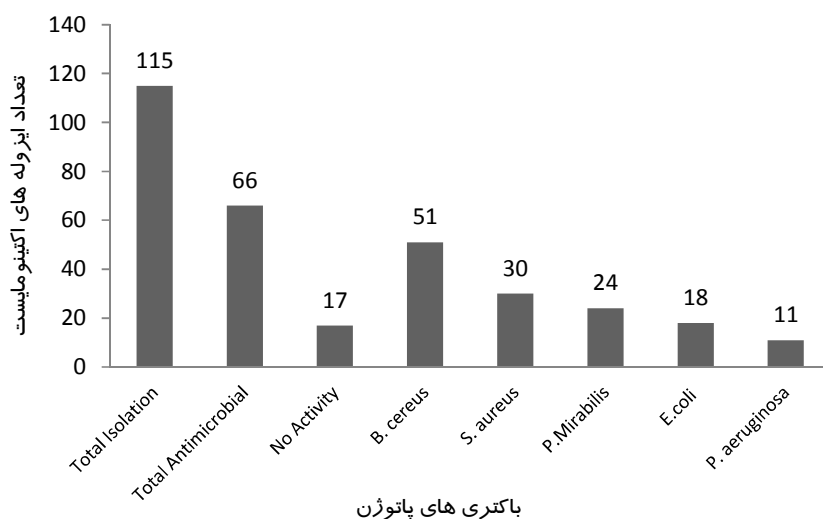
<sup>5</sup> Duncan

سودوموناس ائروچینوزا بازدارندگی رشد نشان دادند (نمودار ۱).

قطر هاله عدم رشد بین ۱۱-۴ میلی متر متغیر بود که بیشترین قطر هاله عدم رشد مربوط به باسیلوس سرئوس می‌باشد ( $p < 0.05$ ) (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.

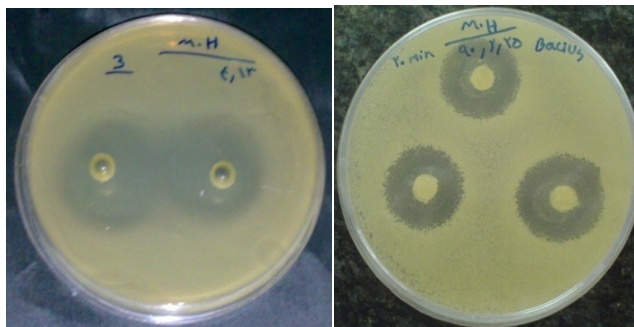
ضد باکتریایی مورد بررسی قرار گرفتند و از این میان ۶۶ ایزوله (معادل با ۸۰٪ ایزوله‌ها) قادر به مهار رشد باکتری‌های بیماری‌زای انسانی می‌باشند و ۱۷ ایزوله (معادل با ۲۰٪ ایزوله‌ها) هیچ فعالیت ضد باکتریایی نداشتند. از بین ۶۶ ایزوله‌ی دارای فعالیت ضد میکروبی: ۵۱ ایزوله نسبت به باسیلوس سرئوس، ۳۰ ایزوله نسبت به استافیلوکوکوس اورئوس، ۲۴ ایزوله نسبت به پروتئوس میرابیلیس، ۱۸ ایزوله نسبت به اشیریشیاکلی و ۱۱ ایزوله نسبت به



نمودار ۱. نتایج مربوط به فعالیت ضد باکتریایی اکتینومایست های جداسازی شده

جدول ۱. نتایج مربوط به قطر هاله‌ی عدم رشد باکتری های پاتوژن

	قطر هاله عدم رشد (mm)			
	۵ دقیقه	۱۰ دقیقه	۱۵ دقیقه	۲۰ دقیقه
مدت زمان ماندگاری دیسک‌های کاغذی در سوپرناتانت (دقیقه)				
باکتری‌های پاتوژن انسانی				
<i>B. cereus</i>	۵	۷/۵	۹	۱۱
<i>E. coli</i>	۴/۵	۴	۶	۶
<i>P. mirabilis</i>	۴	۵/۵	۵/۵	۷
<i>S. aureus</i>	۵/۵	۶	۷/۵	۹
<i>P. aeruginosa</i>	۴	۴	۴/۵	۶



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

## بحث

بر اساس مطالعات صورت گرفته اکتینومایست‌ها 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 نمی‌رسد 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 آبی 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 آبی مستعد دارای فعالیت ضد میکروبی از سواحل جنگل‌های «حرا» جنوب ایران گردید.

تا کنون تحقیقاتی مبنی بر جداسازی اکتینومایست‌های آبی از رسوبات جنگل‌های مانگرو در جهان صورت

گرفته است. از آن جمله: فیدلر<sup>۱</sup> و همکارانش در سال ۲۰۰۵ موفق به جداسازی و شناسایی اکتینومایست‌های آبی متنوعی از محیط‌های آبی شدند [۱۹]. همچنین مالدونادو<sup>۲</sup> و همکارانش در سال ۲۰۰۵ از سواحل دریا‌های استرالیا اقدام به جداسازی و شناسایی اکتینومایست‌های آبی نمودند. تمام گونه‌های جداسازی شده متعلق به جنس استریپتومایسس بودند [۲۰] در برزیل نیز دیاس<sup>۳</sup> 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<sup>۴</sup> و جنسن<sup>۵</sup> در سال ۲۰۰۶ و رامش<sup>۶</sup> و متیوانان<sup>۷</sup> در سال ۲۰۰۹ نیز موفق به جداسازی و شناسایی گونه‌های متنوع و مفیدی از اکتینومایست‌های آبی از سواحل مانگروهای هند شدند [۶،۲۲]. در تحقیق حاضر نیز اکتینومایست‌های آبی زیادی از رسوبات سواحل جنگل‌های حرا جنوب ایران جداسازی گردید که نتایج با یافته‌های سایر محققین هم خوانی داشت.

<sup>1</sup> Fiedler

<sup>2</sup> Maldonado

<sup>3</sup> Dias

<sup>4</sup> Fenical

<sup>5</sup> Jensen

<sup>6</sup> Ramesh

<sup>7</sup> Mathivanan

شده از رسوب‌های مانگرو دریافتند که اکثر اکتینومایست‌های آبزی جداسازی شده بر علیه کاندیدا آلیکنز<sup>۱۳</sup> و استافیلوکوکوس اورئوس فعالیت ضد باکتریایی داشتند [۲۵]. سوجاتا<sup>۱۴</sup> 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 کاندیدیایی و استافیلوکوکوس اورئوس بودند [۲۶].

سوتیندهیران<sup>۱۵</sup> و کانابیران<sup>۱۶</sup> در سال ۲۰۱۰، موفق به جداسازی ۵۰ سویه‌ی اکتینومایست‌های آبزی از رسوبات سواحل خلیج بنگال شدند، که این گونه‌ها فعالیت ضد قارچی (علیه قارچ‌های اسپرژیلوس نایجر<sup>۱۷</sup>، اسپرژیلوس فومیگاتوس<sup>۱۸</sup> و کاندیدا آلیکنز) و ضد باکتریایی (علیه استافیلوکوکوس اورئوس، باسیلوس سرئوس، اشیشیا کلی و کلبسیلا نومونیا) از خود نشان دادند [۲۷]. در تحقیق حاضر نیز اکتینومایست‌های آبزی جداسازی شده از جنگل‌های حرا جنوب ایران دارای فعالیت ضد باکتریایی قوی علیه استافیلوکوکوس اورئوس، باسیلوس سرئوس، اشیشیا کلی، پروتئوس میرابیلیس و سودوموناس ایروچینوزا می‌باشند که در این میان اکتینومایست‌های 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 جزء مناطق با پتانسیل بالا جهت رشد میکروارگانیسم‌های

تاکنون تحقیقات زیادی نیز در زمینه‌ی تولید آنتی‌بیوتیک‌های مختلف بوسیله‌ی اکتینومایست‌ها، صورت گرفته است که از جمله می‌توان به تحقیقات زیر اشاره کرد:

ایمادا<sup>۱</sup> در سال ۲۰۰۵، موفق به جداسازی ۱۰۰ اکتینومایست از خلیج اوتسوچی<sup>۲</sup> شد که نیمی از اکتینومایست‌های جداسازی شده در این مطالعه از فعالیت ضد باکتریایی بالایی برخوردار بودند [۲۳]. همچنین میترا<sup>۳</sup> 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<sup>۴</sup> (MTCC 106)، باسیلوس پومیلیس<sup>۵</sup> (MTCC 1607)، باسیلوس سابتیلیس<sup>۶</sup> (MTCC 441)، لاکتوکوکوس لاکتیس<sup>۷</sup> (MTCC 3038)، مایکوباکتریم اسمگماتیس<sup>۸</sup> (MTCC 06)، آرتروباکتر پروتوفورمیا<sup>۹</sup> (MTCC 2682)، استافیلوکوکوس اورئوس (MTCC 96) و ۶ پاتوژن گرم منفی شامل: اشیشیا کلی (MTCC 739)، اشیشیا کلی (MTCC 2939)، سودوموناس ائروچینوزا (MTCC 2453)، پروتئوس میرابیلیس (MTCC 425)، سراشیا مارسسنس<sup>۱۰</sup> (MTCC 86)، کلبسیلا نومونیا<sup>۱۱</sup> (MTCC 618) بودند [۲۴]. در چین هونگ<sup>۱۲</sup> و همکارانش در سال ۲۰۰۹، طی مطالعه‌ای در زمینه‌ی بررسی فعالیت ضد میکروبی باکتری‌های جداسازی

<sup>1</sup> Imada

<sup>2</sup> Otsuchi

<sup>3</sup> Mitra

<sup>4</sup> *Micrococcus luteus*

<sup>5</sup> *Bacillus pumilus*

<sup>6</sup> *Bacillus subtilis*

<sup>7</sup> *Lactococcus lactis*

<sup>8</sup> *Mycobacterium smegmatis*

<sup>9</sup> *Arthrobacter protophormiae*

<sup>10</sup> *Serratia marcescens*

<sup>11</sup> *Klebsiella pneumoniae*

<sup>12</sup> Hong

<sup>13</sup> *Candida albicans*

<sup>14</sup> Sujatha

<sup>15</sup> Suthindhiran

<sup>16</sup> Kannabiran

<sup>17</sup> *Aspergillus niger*

<sup>18</sup> *Aspergillus fumigatus*

«حرا» در جنوب ایران می‌تواند به عنوان یک قطب مهم جهت تحقیقات صنعتی و دانشگاهی محسوب گردد و کشف اکتینومایست‌های آبی متنوع و مفید جهت تولید ترکیبات آنتی‌بیوتیک جدید حائز اهمیت می‌باشد.

متنوع از جمله اکتینومایست‌های آبی به شمار می‌آید. از آنجا که جداسازی اکتینومایست‌های آبی 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

## 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 *Nocardopsis 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, Desaignes 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*, 2<sup>nd</sup> 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*, 8<sup>th</sup> 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.



- 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.