Original Article

Iranian Journal of Medical Microbiology

Iran J Med Microbiol: Volume 9, Number 4 (02-2016)

Journal homepage: www.ijmm.ir

Screening, isolation and study of antifungal activity of marine actinomycetes from Deylam nearshore sediments

Mehregan Jabari[1], Soheila Matroodi[1], Hossein zolgharnein[1], Ali Sharafi[2], Isaac Zamani[1]

1. Department of Marine biology, Faculty of Marine Science, Khoramshahr University of marine science and technology, Iran.

2. School of Pharmacy, Zanjan University of Medical Sciences, Zanjan, Iran

Article Information

Article history:
Received: 2015/10/20
Accepted: 2016/01/13
Available online:2016/01/10

Article Subject:
Medical Mycology

IJMM 1394; 9(4): 87-94

Corresponding author at:
Dr Ali Sharafi

School of Pharmacy, Zanjan University of Medical Sciences, Zanjan, Iran

Tel:
-

Email:
alisharafi@zums.ac.ir

Abstract

Background and Aim: Marine actinomycetes, gram positive bacteria, have been prolific sources of novel secondary metabolites with a range of biological antibacterial activities. Marine sediments are potential sources for isolation of novel actinomycetes yielding new products and are recognized as source of novel antibiotic. In this study, we reported the isolation, characterization and antifungal activities of 8 actinomycetes isolated from Deylam nearshore sediments.

Materials and Methods: The marine soil sediment samples were collected from Deylam nearshore at the depth of 10 cm. The treated samples were serially diluted and used starch casein agar as a culture medium. Morphological and biochemical characterization of isolated strain was carried out by using standard methods. Antifungal assay of the bacterial extracts was performed using standard well diffusion assay.

Results: In this study, 8 marine actinomycetes were isolated from Deylam near shore sediments according to their morphology. All of isolate was belonged to *Streptomyces* genus. Differential analyses results for catalase and Gram test were positive for all isolates, the positive isolates for TSI, simmon citrate and ornitin decarboxylase were 1, 2 and 5 respectively, all isolates were negative for lysine decarboxylase, VP, MR and indol test, SIM test results showed that all isolates were non-motile, one isolate was produced H_2S and some isolates formed pigmented colony. Most isolates showed antifungal activity against tested pathogenic fungi.

Conclusions: Results of this investigation revealed that the marine actinomycetes of Deylam nearshore sediments were potent source of bioactive compounds with antifungal activity.

Key Words: Marine actinomycetes, Deylam nearshore, Antifungal activity.

Copyright © 2016 Iranian Journal of Medical Microbiology. All rights reserved.

How to cite this article:

Jabari M, Matroodi S, Zolgharnein H, Sharafi A, Zamani I. Screening, isolation and study of antifungal activity of marine actinomycetes from Deylam nearshore sediments. Iran J Med Microbiol. 2016; 9 (4) :87-94

مقاله پژوهشی

مجله میکروب‌شناسی پزشکی ایران
سال ۹ – شماره ۴– زمستان ۱۳۹۴
Journal homepage: www.ijmm.ir

جداسازی اکتینومیست‌های دریایی رسوبات بین جزر و مدی ساحل دیلم و مطالعه خواص ضدقارچی آن‌ها

مهرگان جباری[۱]، سهیلا مطرودی[۱]، حسین ذوالقرنین[۱]، علی شرفی[۲]، اسحاق زمانی[۱]

۱. گروه زیست شناسی دریا، دانشکده علوم دریایی، دانشگاه علوم وفنون دریایی خرمشهر، ایران.
۲. گروه بیوتکنولوژی، دارویی دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی زنجان، ایران.

اطلاعات مقاله

تاریخچه مقاله
دریافت:۱۳۹۴/۰۷/۲۸
پذیرش:۱۳۹۴/۱۰/۲۳
انتشار آنلاین:۱۳۹۳/۱۰/۲۰
موضوع:
قارچ شناسی پزشکی
IJMM 1394; 9(4): 87-94

نویسنده مسئول:
دکتر علی شرفی
گروه بیوتکنولوژی، دارویی دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی زنجان، ایران.
تلفن: -
پست الکترونیک:
alisharafi@zums.ac.ir

چکیده

زمینه و هدف: اکتینومیست‌های دریایی، باکتری‌های گرم مثبت، شمار زیادی متابولیت‌های ثانویه جدید تولید می‌کنند و منبع غنی از ترکیبات فعال زیستی ضدمیکروبی می‌باشند. از جمله منابع مهم اکتینومیست‌های جدید، رسوبات دریایی هستند که بعنوان منبعی از آنتی‌بیوتیک‌های جدید شناخته شده‌اند. هدف از این تحقیق جداسازی اکتینومیست‌های دریایی تولید کننده ترکیبات فعال زیستی از رسوبات بستر ساحل دیلم و بررسی پتانسیل تولید متابولیت‌های ضدقارچی توسط این میکروارگانیسم‌ها بود.

مواد و روش ها: رسوبات از عمق ده سانتی‌متری ناحیه بین جزر و مدی ساحل دیلم جمع آوری شد. ابتدا نمونه‌های رسوب رقیق سازی شده و برای جداسازی اکتینومیست‌ها از محیط کشت استارچ کازئین آگار استفاده شد. جدایه‌ها توسط روش مورفولوژی و بیوشیمیایی شناسایی و جداسازی شدند. برای ارزیابی فعالیت ضد قارچی جدایه‌ها، از محیط کشت فاقد باکتری (مایع‌روئی) و از روش ایجاد چاهک استفاده شد.

یافته‌ها: در این تحقیق ۸ جدایه اکتینومیست جداسازی و شناسایی شد. جدایه‌ها متعلق به جنس استرپتومایسس تشخیص داده شدند. نتایج تست‌های افتراقی نشان داد که : همه جدایه‌ها کاتالاز و گرم مثبت، تعداد جدایه‌هایی که TSI، سیمون سیترات و اورنیتین دکربوکسیلاز مثبت بودند به‌ترتیب یک، دو و پنج جدایه بود. همه ایزوله‌ها لیزین دکربوکسیلاز، MR، VP، TSI و ایندول منفی بودند نتایج آزمون SIM نشان داد که همه ایزوله‌ها غیرمتحرک هستند، یک جدایه H_2S تولید می‌کند و برخی از جدایه‌ها رنگیزه تولید می‌کنند. بیشتر جدایه ها فعالیت ضدقارچی مناسبی علیه قارچهای بیماریزا نشان دادند.

نتیجه‌گیری: نتایج این تحقیق نشان داد که اکتینومیست‌های دریایی رسوبات ساحل دیلم منابع غنی از ترکیبات فعال زیستی هستند که فعالیت ضدقارچی قابل توجهی را نشان می دهند.

کلمات کلیدی:اکتینومیست‌های دریایی، ساحل دیلم، فعالیت ضدقارچی

کپی‌رایت ©: حق چاپ، نشر و استفاده علمی از این مقاله برای مجله میکروب‌شناسی پزشکی ایران محفوظ است.

مقدمه

محیط‌های دریایی منابع غنی برای جداسازی متابولیت‌های ثانویه فعال از میکروارگانیسم‌ها هستند. در میان میکروارگانیسم‌ها، اکتینومیست‌ها به دلیل تولید ترکیبات شیمیایی متنوع با طیف وسیعی از فعالیتهای بیولوژیکی شناخته شده مانند فعالیت ضدمیکروبی، دارای اهمیت بسیاری هستند (۱). حدود ۲۳۰۰۰ متابولیت ثانویه فعال زیستی توسط میکروارگانیسم‌ها گزارش شده است، که از این تعداد حدودا ۱۰۰۰۰ متابولیت توسط اکتینومیست‌ها تولید شده است. بنابراین، اکتینومیست‌ها نماینده‌ی ۴۵٪ از همه متابولیت‌های میکروبی فعال زیستی کشف شده هستند. در میان متابولیت‌های تولید شده‌ی اکتینومیست‌ها مقدار ۷۶۰۰ متابولیت توسط گونه‌های استرپتومایسس استخراج شده‌اند. تعداد زیادی از این متابولیت‌های ثانویه خواص آنتی‌بیوتیکی دارند. استرپتومایسس‌ها به‌عنوان ارگانیسم‌هایی که عمده‌ترین آنتی‌بیوتیک‌ها را تولید می‌کنند در صنعت داروسازی شناخته شده‌اند (۲).

اکتینومیست‌های دریایی به دلیل تولید متابولیت‌های منحصر به‌فرد و توانایی‌های فیزیولوژیکی به میزان زیادی مورد توجه هستند. این میکروارگانیسم‌ها در اکثر زیستگاه‌ها یافت می‌شوند و قادر به تولید ترکیبات ضدباکتریایی و دیگر ترکیبات

مرسوم دارویی هستند، که تا کنون در ارگانیسمهای خشکی‌زی مشاهده نشده است (۳،۴). این گروه از باکتری، گرم مثبت، هوازی و غیرمتحرک با درصد GC بالایی هستند، که رشته‌های شاخه‌ای یا هیف و اسپورهای غیرجنسی تشکیل می‌دهند. بهترین رشد آنها در دمای ۲۵ درجه و در محدوده pH ۹-۸ است. این باکتری‌ها شباهت خیلی زیادی به قارچها در ریخت‌شناسی کلی دارند. احتمالاً این شباهت به‌علت سازش در زیستگاه‌های مشابه می‌باشد (۵). با توجه به اهمیت بیماری‌های قارچی و پیدایش مقاومت دارویی، یافتن منابع جدید ضد قارچی با سمیت انتخابی بر میزبان آسان نیست. نمونه های خشکی زی اکتینومیست‌ها بطور قابل ملاحظه‌ای جمعیت کثیری از آنتی‌بیوتیک ها را تولید می‌کنند، ولی در این زمینه اکتینومیست‌های دریایی کمتر مورد مطالعه قرار گرفته اند، لذا در این تحقیق اکتینومیست‌های ساحل دیلم جداسازی و شناسایی شده و فعالیت ضدقارچی جدایه‌ها مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش ها

نمونه برداری

رسوبات بستر ساحل دیلم از عمق ۱۰ سانتیمتری توسط بیلچه جمع آوری شد و در کیسه‌های پلی اتیلن استریل در کوتاه ترین زمان به آزمایشگاه منتقل شدند.

جداسازی اکتینومیست‌ها

برای جداسازی اکتینومیست‌ها از روش رقیق سازی متوالی استفاده شد. مقدار g ۱۶ رسوب با آب دریا استـــــریل به حجم ml ۱۰۰ تهیه گردید و به مدت ۱ ساعت بر روی شیکر در دمای ۲۸ سانتی‌گراد تکان داده شد. سپس از این سوسپانسیون تهیه شده، رقتهای مختلفی از 10^{-1} تا 10^{-6} و همچنین بدون رقت آماده گردید (۶). یک میلی لیتر از هر رقت در محیط کشت اختصاصی استارچ کازئین آگار (SCA) کشت داده شدند. برای جلوگیری از رشد قارچ و باکتریهای احتمالی به ترتیب مقدار µg/ml ۱۰ آنتی‌بیوتیک نیستاتین و µg/ml ۲ ریفامپیسین به محیط کشت افزوده گردید (۷ و ۸). پس از تلقیح، پلیت‌ها در دمای ۲۸ درجه سلسیوس به مدت ۱۰ روز انکوبه شدند. کلنی‌های متعددی بر روی همه پلیت‌ها با رقتهای مختلف ایجاد شد. شناسایی مورفولوژی اکتینومیستها با استفاده از کلید شناسایی و فصل شناسایی باکتریها از کتاب راهنمای برجی (۹) انجام گردید. جدایه‌ها توسط لوپ از سطح محیط کشت آگار جداسازی شدند و به صورت خطی در محیط کشت SCA رشد داده شدند و به این ترتیب برای مراحل بعدی جدایه‌های خالص شده در دمای ۲۸ درجه به مدت ۱۰ روز نگهداری شدند.

شناسایی با استفاده از تستهای افتراقی

شناسایی افتراقی اکتینومیست‌ها توسط روشهای استاندارد صورت گرفت (۱۰). برای این منظور از تست گرم، کاتالاز، MR-VP، TSI، SIM، سیمون سیترات، اندول، اورنیتین دکربوکسیلاز و لیزین دکربوکسیلاز استفاده شد.

استخراج متابولیت‌های ضدقارچی جدایه‌های اکتینومیست

برای استخراج متابولیتهای ضدقارچی، هر یک از جدایه‌های اکتینومیست در ۱۰۰ میلی‌لیتر محیط کشت مایع القایی (شامل ۱۰گرم مالتوز، ۵ گرم عصاره مخمر، ۲/۹ گرم سدیم فسفات، ۳/۲ گرم پتاسیم فسفات، ۱گرم آمونیوم کلرید، ۰/۵ گرم منیزیم سولفات، ۰/۵ گرم کلسیم کربنات، ۲۰ میکرولیتر سولفات آهن، ۱۰۰ میلی‌گرم سولفات روی، ۳۰۰ میلی‌گرم اسیدبوریک، ۲۰۰ میلی‌گرم کلرید کبالت، ۳۰ میلی‌گرم کلرید منگنز، ۳۰ میلی‌گرم سدیم مولیبدن، ۲۰ میلی‌گرم نیترات نیکل و ۱۰ میلی‌گرم نیترات مس) تلقیح شدند (۱۱). ارلن‌ها در دمای ۲۸ درجه سلسیوس به مدت ۱۰ روز در انکوباتور شیکردار با دور ۱۰۰ دور در دقیقه قرار شدند. برای جداسازی میسلیوم‌ها از فاز مایع، محیط کشت فیلتر و در دور ۱۲۰۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. رسوب دور ریخته شد و از مایع‌روئی برای بررسی فعالیت ضدقارچی استفاده گردید.

بررسی فعالیت ضدقارچی جدایه‌ها

بررسی اثرات ضدقارچی عصاره خام جدایه‌ها، به روش ایجاد چاهک، با استـفاده از قارچهای *Aspergillus flavus ,Aspergillus niger,Microsporum gypseum ,Trichophyton mentagrophytes, Candida albicans* و *Penicillium* ssp. انجام گرفت. قارچهای مورد مطالعه از دانشگاه علوم پزشکی زنجان تهیه شدند. از محیط کشت PDA (Agar Dextrose Potato) برای بررسی فعالیت ضدقارچی استفاده گردید و قارچهای بیماریزا در مرکز این محیط کشت رشد داده شدند. روزانه ۴ مرتبه، مقدار۱۰۰میکرولیتر از عصاره جدایه‌ها به چاهک‌های ۶ میلیمتر ایجاد شده در محیط کشت PDA اضافه شد. این روند به مدت ۲ الی ۸ روز، متناسب با رشد هر قارچ تا رسیدن به انتهای پلیت، در دمای محیط (۳۷ درجه سلسیوس) ادامه پیدا کرد. از محیط کشت القایی به عنوان شاهد منفی استفاده شد.

آنالیز نتایج

کلیه آزمایشها با سه مرتبه تکرار انجام شد. در نتایج داده‌ها به صورت میانگین ±خطای استاندارد (SD ±mean) بیان شده و قطر هاله های عدم رشد (منطقه شفاف اطراف چاهک ها) توسط نرم افزار Corel Draw اندازه گیری شدند. برای آنالیز آماری از نرم افزار۱۶.SPSS استفاده شد.

جدول۱: مشخصات ظاهری اکتینومیست‌های جدا شده

سویه‌ها	ویژگی‌های مورفولوژی
AMJ1	رنگ روی کلنی‌ها سفید و پشت کلنی‌ها زرد می‌باشند، میسلیوم زمینی خاکستری ومیسلیوم هوایی سفید رنگ ایجاد می‌کنند. رنگیزه های زرد رنگ تولید می‌کنند. تک کلنی این سویه چتری شکل است.
AMJ2	دارای تک کلنی سفید هاله ای، میسلیوم زمینی سفید رنگ و میسلیوم هوایی خاکستری ایجاد می‌کند. روی کلنی‌ها خاکستری و پشت کلنی‌ها شیری رنگ هستند. قطره های براق روی کلنی‌ها وجود دارد.
AMJ3	کلنی‌های چرمی و روغنی شکل دارد که رنگ روی کلنی‌ها شیری رنگ و پشت کلنی‌ها زرد کمرنگ متمایل به شیری می‌باشد.
AMJ4	میسلیوم زمینی سفید رنگ و میسلیوم هوایی خاکستری رنگ تولید می‌کند. رنگ تک کلنی سفید و پشت کلونی صورتی کمرنگ می‌باشد.
AMJ5	دارای تک کلنی‌های چتری ضربدری شکل هستند که میسلیوم‌های هوایی خاکستری رنگ تولید می‌کند. رنگ روی کلنی سفید و پشت کلنی صورتی کمرنگ می‌باشد.
AMJ6	تک کلنی‌های این سویه به‌صورت چتری شکل هستند که مرکز این کلنی‌ها خاکستری تیره و اطرافش هاله‌ی خاکستری روشن تا سفید وجود دارد. رنگ پشت کلنی‌ها شیری رنگ می‌باشد.
AMJ7	دارای کلنی‌های سفید رنگ با میسلیوم‌های هوایی خاکستری رنگ می‌باشند. رنگ پشت کلنی شیری تیره متمایل به صورتی است.
AMJ8	رنگ رویی و پشتی کلنی صورتی رنگ است. این سویه رنگیزه صورتی رنگ تولید می‌کند. دارای تک کلنی‌های دایرهای شکل نیز می‌باشد.

جدول۲: نتایج تست‌های بیوشیمیایی اکتینومیست‌های جدا شده

تست‌ها		AMJ1	AMJ2	AMJ3	AMJ4	AMJ5	AMJ6	AMJ7	AMJ8
Catalase		+	+	+	+	+	+	+	+
MR		-	-	-	-	-	-	-	-
VP		-	-	-	-	-	-	-	-
TSI		-	-	+	-	-	-	-	-
Indol		-	-	-	-	-	-	-	-
Simmon citrate		-	-	-	-	-	-	+	+
Ornithine decarboxylase		-	+	+	+	-	-	+	+
Lysine decarboxylase		-	-	-	-	-	-	-	-
H_2S	SIM	-	-	-	-	-	-	-	+
Motility	SIM	-	-	-	-	-	-	-	-
Gram		+	+	+	+	+	+	+	+

جدول۳: فعالیت ضدقارچی عصاره جدایه های شناسایی شده علیه قارچ‌ها به صورت هاله ممانعت از رشد بر حسب میلی‌متر(داده ها با سه بار تکرار نشان داده شده است).

پاتوژن ها / عصاره	*T. mentagrophytes*	*M. gypseum*	*C. albicans*	*A. niger*	*A. flavus*	*Penicillium* spp.
	_	_	_	۵/۶۶ ^{c}	۶۱/۰۴ ± /۲^{a}	۱۲/۷۵ ± /۲^{a}
AMJ1	_	_	_	_	۹/۴۳^{b}	۱۶/۰۵ ± /۴^{a}
AMJ2	_	_	_	۵/۸۴^{b}	۶/۱۰±/۲^{b}	۱۵/۹۶^{b}
AMJ3	_	_	۱۸/۱۵^{a}	_	_	_
AMJ4	_	_	۱۸/۶۹ ±/۴^{a}	_	۵/۰۹ /±/۲^{b}	_
AMJ5	_	_	۳۱/۰۳ ± /۴^{a}	_	۱۵/۰۱±/۴^{b}	_
AMJ6	_	_	_	_	_	_
AMJ7	۱۸/۰۴^{a}	_	_	_	_	_
AMJ8	_	_	_	_	_	_

(–) نشان دهنده عدم تشکیل هاله ممانعت از رشد، حروف a، b و c در هر ردیف نشانه وجود اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های آزمایشی است.

یافته ها

در این پژوهش تعداد ۳ نمونه رسوب دریا بررسی شد و کلنی‌های اکتینومیست پس از ۱۰ روز نمایان شدند. همانگونه که در جدول ۱ مشاهده می‌شود در این تحقیق هشت ایزوله مختلف با توجه به شکل کلنی، رنگ میسلیوم و رنگیزه‌هایی که تولید می‌کنند جداسازی شدند. اکثر ایزوله‌ها کلنی‌های چتری شکل تولید می‌کنند. غالباً رنگ میسلیوم‌های هوایی و زمینی متفاوتی ایجاد می‌کنند و رنگیزه‌هایی که توسط این ایزوله‌ها تولید می‌شود معمولاً به رنگ صورتی، زرد و خاکستری می‌باشد.

همانگونه که شده در جدول ۲ ملاحظه می‌شود، تمامی ایزوله‌ها گرم مثبت و فاقد تحرک بودند. تست اندول، VP-MR و لیزین دکربوکسیلاز نیز برای هر هشت ایزوله جدا شده منفی و تست کاتالاز مثبت بود. ایزوله AMJ۸ تنها ایزوله از میان ایزوله‌های جدا شده است که قادر به تولید گاز هیدروژن سولفید بود و همچنین تست TSI تنها برای ایزوله AMJ۳ مثبت بود. تست اورنیتین دکربوکسیلاز برای پنج ایزوله مثبت و سه ایزوله باقیمانده منفی بود. سیمون سیترات نیز تنها برای ایزوله‌های AMJ۷ و AMJ۸ مثبت بود.

فعالیت ضدقارچی عصاره‌های اکتینومیست‌ها علیه شش قارچ بیماریزای انسانی به روش ایجاد چاهک مورد آزمون قرار گرفتند. از محیط کشت القایی به عنوان کنترل منفی استفاده گردید (جدول ۳). همه ایزوله‌ها بجز AMJ۷، حداقل بر روی یکی از قارچها موثر بودند و هیچ کدام از ایزوله‌ها بر روی قارچ *میکروسپوریوم جیپسیوم* فعالیت مهاری نشان ندادند. عصاره حاصل از ایزوله AMJ۱ بیشترین اثر مهاری را بر علیه قارچ *آسپرژیلوس فلاووس* (۱۶/۴ میلی‌متر) نشان داد و همچنین بر علیه *آسپرژیلوس نیجر* (۵/۶۶ میلی‌متر)، پنی‌سیلیوم (۷۵/۱۲) و AMJ۲ در برابر *آسپرژیلوس فلاووس* (۹/۴۳ میلی‌متر)، پنی‌سیلیوم (۰۵/ ۱۶ میلیمتر) و AMJ۳ در برابر پنی‌سیلیوم (۱۵/۹۶ میلیمتر)، *آسپرژیلوس فلاووس* (۱/ ۶ میلی‌متر) ، *آسپرژیلوس نیجر* (۵/۸۴ میلی‌متر) و AMJ۴ مقابل *کاندیدا آلبیکنس*(۱۸/۱۵ میلی‌متر) و AMJ۵ در برابر *کاندیدا آلبیکنس* (۱۸/۶۹ میلیمتر)، *آسپرژیلوس فلاووس* (۵/۰۹) و AMJ۶ مقابل *کاندیدا آلبیکنس* (۲۱/۰۳ میلی‌متر)، *آسپرژیلوس فلاووس* (۱۵/۰۹ میلی‌متر) و AMJ۸ در برابر *تریکوفیتون منتاگروفیتس* (۱۸/۰۴ میلیمتر) بدست آمد.

بحث

میزان مرگ و میر بیماریهای عفونی در کشورهای در حال توسعه و توسعه یافته در حال افزایش است و به این ترتیب میزان نیاز به منابع جدید دارویی در حال افزایش است (۱۲،۱۳). گزارش شده که ۳۳۵ بیماری عفونی بین سالهای ۱۹۴۰و ۲۰۰۴ در جمعیت انسانی جهان وارد شده است. بررسیهای اخیر حاکی از آن است که سیستم‌های ژنتیکی در میکروارگانیسم‌ها قادر به برنامه‌ریزی برای مقابله با عوامل تهدید کننده حیات آنها می‌باشد (۱۷-۱۴). تولیدات طبیعی یکی از مهم‌ترین منابع آنتی‌بیوتیک بوده (۱۸) و همچنین تولیدات طبیعی گرفته شده از منابع دریایی نقش مهمی را در کشف مولکولهای دارویی جدید و متنوع ایفا می‌کند (۱۹، ۱). در این خصوص اکتینومیست‌های دریایی شمار زیادی متابولیت‌های ثانویه جدید تولید می‌کنند (۲۰). چندین آنتی‌بیوتیک تاکنون از این میکروارگانیسم‌ها جدا شده‌اند (۲۱) و چندین گزارش از فعالیت ضدباکتریایی و ضدقارچی اکتینومیستهای دریایی در دسترس است. تحقیقات در زمینه ویژگیهای بیولوژیکی اکتینومیستها نشان داده است که این باکتریها پتانسیل تولید ترکیبات ضدقارچی را دارند. فعالیت ضدقارچی اکتینومیستهای دریایی از چندین کشور گزارش شده است (۲۶-۲۲). در کشور ما نیز مطالعات زیادی برای جداسازی اکتینومیستها با فعالیت ضدمیکروبی از مناطق مختلف صورت گرفته است (۱۴، ۲۷)، ولی تاکنون هیچ مطالعه ای بر روی اکتینومیست‌های بستر ساحل دیلم صورت نگرفته است. این گزارش‌ها اثبات محکمی است که رسوبات دریایی می‌توانند منابع قوی از ترکیبات ضدقارچی باشند.

در مطالعه حاضر هشت ایزوله اکتینومیست از رسوبات جدا شد که هفت ایزوله با روش ایجاد چاهک، دارای فعالیت ضدقارچی حداقل در برابر یک میکروارگانیسم مورد آزمایش یا بیشتر بود. بیشترین فعالیت مهاری را ایزوله AMJ۶ در برابر قارچ *کاندیدا آلبیکنس*(۲۱/۰۳ mm) نشان داد. اکتینومیست‌های جدا شده از رسوبات مانگرو Pichavaram واقع در هند، فعالیتهای بسیار خوبی در مقابل *کاندیدا آلبیکنس* نشان دادند (۲۸). Gandotra و همکاران در سال ۲۰۰۵ گزارش کردند که ٪۲۰ از ایزوله‌های اکتینومیست مورد مطالعه، در مقابل *کاندیدا آلبیکنس* فعال بودند. در مطالعات اخیر مشاهده شده که ٪۳۳/۳ از گونه‌های استرپتومایسس جدا شده در مقابل *Candida* spp. فعالیت نشان دادند (۲۹). از ۹ ایزوله استرپتومایسس مورد بررسی علیه *کاندیدا آلبیکنس*، ۵ ایزوله قادر به مهار نسبتاً خوبی بودند (۳۰). چندین مطالعه نیز ثابت کردند که اکتینومیستها دارای فعالیتهای ضدقارچی، بخصوص علیه *کاندیدا آلبیکنس* با میانگین ٪۴/۹ (۳۱) و ٪۱۲/۵ (۳۲) و ٪۲۰/۳ (۳۳) میباشند. بیشترین فعالیت ضدقارچی متعلق به جدایه AMJ۶ علیه قارچ *کاندیدا آلبیکنس* (۲۱/۰۳ mm) بود در حالیکه در مطالعات Tabrizi Goljanian در سال ۲۰۱۵، بیشترین هاله مهاری علیه قارچ *کاندیدا آلبیکنس* ۲۶ mm و در بقیه مطالعات هاله مهاری ایجاد شده بسیار کم بود. از ۱۰ نمونه رسوب جمع آوری شده از Bengal of Bay ، تعداد ۱۶ اکتینومیست دریایی جدا شد که همه ایزولهها متعلق به گونه استرپتومایسس بودند و سه ایزوله قارچ *آسپرژیلوس فلاوس* را مهار کردند.

در مطالعه حاضر هشت ایزوله اکتینومیست از رسوبات جدا

شد که هفت ایزوله با روش ایجاد چاهک، دارای فعالیت ضدقارچی حداقل در برابر یک میکروارگانیسم مورد آزمایش یا بیشتر بود. با مقایسه نتایج سایر مطالعات انجام شده، تعداد ایزوله‌های اکتینومیست جدا شده و همچنین پتانسیل ضدقارچی آنها قابل توجه است. بیشترین فعالیت مهاری را ایزوله AMJ۶ در برابر قارچ *کاندیدا آلبیکنس*(۲۱/۰۳ mm) و AMJ۱ در برابر *آسپرژیلوس فلاووس* (۱۶/۴ mm) داشت.

نتایج نشان داد که بستر ساحل دیلم میتواند به‌عنوان منبع غنی از اکتینومیست‌های فعال که توانایی تولید متابولیت‌های ضدقارچی و ضدباکتریایی جدید را دارند، مورد مطالعه دقیق‌تری قرار گیرد. با ارزیابی پتانسیل ضدمیکروبی عصاره‌های اکتینومیست‌های جدا شده، میتوان این ایزوله‌ها را به‌عنوان کاندیدهای مناسبی در طراحی و ساخت داروها و ترکیبات ضدمیکروبی معرفی نمود.

بنابراین با استخراج، خالص‌سازی و مطالعات بیشتر متابولیت‌های فعال از اکتینومیست‌های رسوبات بستر ساحل دیلم، شاید بتوان گامی پیشرو در جهت توسعه داروهای وسیع الطیف و موثر برای درمان بیماریهای عفونی ناشی از میکروارگانیسم‌های مقاوم، معرفی کرد.

تشکر و قدردانی

از دانشگاه علوم و فنون دریایی که امکان انجام این تحقیق را فراهم نمودند تشکر می شود. همچنین از مرکز تحقیقات زیست فناوری دارویی دانشگاه علوم پزشکی زنجان که در پیش برد اهداف این کار نقش داشتند، تشکر و قدردانی می‌شود. این کار بخشی از طرح به شماره ۲-۸۴۸-A۱۲ مرکز تحقیقات زیست فناوری دارویی دانشگاه علوم پزشکی زنجان میباشد.

Reference

1. Sosovele ME, Hosea KM, Lyimo TJ. In vitro antimicrobial activity of crude extracts from marine streptomyces isolated from mangrove sediments of Tanzania. J Biochem Tech. 2012; 3(4): 431-435.

2. Bredholt H, Fjaervik E, Jhonsen G, Zotechev SB. Actinomycetes from sediments in the Trondhein Fjrod, Norway: Diversity and biological activity. J Mar Drugs. 2008; 6: 12-24.

3. Ogunmwonyi IH, Mazomba N, Mabinya L, Ngwenya E, Green E, Akinpelu DA. Studies on the culturable marine actinomycetes isolated from the Nahoon beach in the Eastern Cape Province of South Africa. Afr J Microbiol Res. 2010; 4(21): 2223-2230

4. Silambarasan1 S, Praveen kumar1 E, Murugan T, Saravanan D, Balagurunathan R. Antibacterial and antifungal activities of Actinobacteria isolated from Rathnagiri hills. J Appl Pharm Sci. 2012; 099-103.

5. Anitha A, Rabeeth M, Degradation of fungal cell walls of phytopathogenic fungi by lytic enzyme of Streptomyces griseus. Afr J Plant Sci. 2010; 4: 61-66.

6. Kuster E, Williams S. Production of hydrogen sulphide by streptomyces and methods for its detection. Appl Microbiol. 1964; 12: 46-52.

7. Govindarajan G, Santhi VS, Jebakumar SRD. Antimicrobial potential of phylogenetically unique actinomycete, Streptomyces sp. JRG-04 from marine origin. Biologicals. 2014; 42: 305-311

8. Stankovic N, Senerovic L, Bojic-Trbojevic Z, Vuckovic I, Vicovac L, Vasiljevic B. Didehydroroflamycoin pentaene macrolide family from Streptomyces durmitorensis MS405T: production optimization and antimicrobial activity. J Appl Microbiol. 2013; 115:1297-306.

9. Jose PA, Jebakumar SRD. Unexplored hypersaline habitats are sources of novel actinomycetes. Front Microbiol. 2014; 5:242.

10. Tamura K, Nei M, Kumar S. Prospects for inferring very large phylogenies by using the Neighbor-Joining method. Proc Natl Acad Sci USA. 2004; 101:11030–11035.

11. Nonomura H. Key for the classification and identification of 458 speciese of Streptomycetes included in the isp. J ferment technol.1974; 52: 78-92.

12. Spizek J, Novotn J, Rezanka T, Demain LA. Do we need new antibiotics? The search for new targets. J Ind Microbiol Biotechnol. 2010; 37:1241-8.

13. Demain AL, Sanches S. Microbial drug discovery: 80 years f progress. J Antibiot. 2009; 62: 5-16.

14. Hashemi S, Nasrollahi Omra A, Pordeli H, Hosenian A. Study of Anti-fungal Effects of Isolated Streptomyces sp. from Gorgan Areas. Med Lab J Golestan Uni Med

Sci. 2010; 4(2): 7-16.

15. Arasu MV, Duraipandiyan V, Ignacimuthu S. Antibacterial and antifungal activities of polyketide metabolite from marine Streptomyces sp. AP-123 and its cytotoxic effect. Chemosphere. 2013; 90: 479–487.

16. Zhang LH, Zhang W, Jin Y, Jin M, Yu X. A comparative study on the phylogenetic diversity of culturable actinobacteria isolated from five marine sponge species. Antonie Van Leeuwenhoek.2008; 93: 241-248.

17. Lam KS. Discovery of novel metabolites from marine actinomycetes. Curr. Opin. Microbiol.2006; 9: 245-251.available from: http://dx.doi.org/10.1016/j.mib.2006.03.004.

18. Baltz RH. Renaissance in antibacterial discovery from actinomycetes. Curr Opin Pharmacol.2008; 8: 557-563.

19. Suthindhiran K, Kannabiran K. Hemolytic activity of Streptomyces VITSDK1 spp. isolated from marine sediments in southern India. J Med Mycol. 2009; 19: 77-86.

20. Karthik L, Gaurav K, Bhaskara Rao KV. Diversity of marine actinomycetes from Nicobar marine sediments and its antifungal activity. Int J Pharm Pharm Sci. 2010; 1: 199-203.

21. Parthasarathi S, Sathya S, Bupesh G, Manikandan M, Kim CJ, Manikandan T, et al. Isolation, Characterization and Extraction of antimicrobial compound from marine actinomycete Streptomyces hygroscopicus BDUS 49. Res J Biotech. 2012; Vol 8 (3).

22. Usha Y, Koppula S, Vishnuvardhan Z. Bioactive metabolites from marine sediments (Streptomyces species) of three coastal areas. Drug Invent Today. 2011; 2(6): 114-117.

23. Reddy NG, Ramakrishna DPN, Rajagopal SV. A morphological physiological and biochemical studies of Streptomyces rochei MTCC 10109 showing antagonistic activity against selective Human Pathogenic Microorganisms. Asian J Biol Sci. 2011; 4(1): 1-14.

24. Ravikumar S, Inbaneson SJ, Uthiraselvam M, Priya SR, Ramu A, Banerjee MB. Diversity of endophytic actinomycetes from Karangkadu mangrove ecosystem and its antibacterial potential against bacterial pathogens. J Pharm Res. 2011; 4(1): 294-296

25. Arasu MV, Duraipandiyan V, Valan SI, Asha KRT, Duraipandiyan V, Ignacimuthu S, Agastian P. Characterization and phylogenetic analysis of novel polyene type antimicrobial metabolite producing actinomycetes from marine sediments: Bay of Bengal India. Asian Pac J Trop Biomed. 2012; 2 (10): 803–810.

26. Abdi Soofiani S, Dehnad AR, Nahaei MR, Parsa Yegane L, Barzegari A, Maleki Kakolr H. Molecular Identification of Streptomyces Spp. with Antibacterial Activity Isolated from East Azerbaijan Soils. Med J Tabriz Univ Med Sci. 2011; 33(2): 49-56. (In Persian).

27. Dehnad A, Bakhshi R, Parsa Yeganeh L, Monadi Sefidan A, Montazam SH, Abdi Soofiani S. Screening of Streptomycetes with Antibacterial Activity from Soil Samples of Azarbaijan Regions of Iran. J Microbial Biotechnol. 2009; 1(1): 18-22.

28. Sujatha, P., K.V.V.S.N.B. Raju and T. Ramana. Studies on a new marine Streptomycete BT-408 producing polyketide antibiotic SBR - 22 effective against methicillin resistant Staphylococcus aureus. Microbio l Resear. , 2005; 160: 119-126.

29. Gandotra S, Bisht GR, Saharan BS. Antifungal activity of endophytic actinomycetes (Streptomyces) against species. Int J Microb. Resour. Technol.2012; 1: 375-378.

30. Hong K, Gao A, Xie Q, Gao H, Zhuang L, Lin H, et al. Actinomycetes for Marine Drug Discovery Isolated from Mangrove Soils and Plants in China. Mar Drugs.2009;7: 24-44.

31. Susithra MP, Thenmozhi M, Kannabiran K. Anticandidal activity of Streptomyces paraguyensis isolated from marine sediment samples collected at the Puducherry coast, Bay of Bengal, India. Pharmacologyonline.2009; 2: 527-537.

32. Remya M, Vijayakumar R. isolation and charac-

terization of marine antagonistic actinomycetes from west coast of india. Facta universitatis: series med biol. 2008; 15(1): 9-13.

33. Jagan Mohan YSYV, Sirisha B, Prathyusha K, PolaSudhakara Rao. Isolation, Screening and Characterization of Actinomycetes from Marine Sediments for their Potential to Produce Antifungal Agents. G.J.B.A.H.S.2014; 4:131-137.