تقدير أعداد الأكتينوميسيتات من تربة حديقة كلية العلوم جامعة مصراتة-ليبيا وتحديد فعاليتها التضادية

هناء عمر إبراهيم صافار، أفطيمة صالح الفقيه، منى محمد الخضوري
قسم الأحياء، شعبة الأحياء الدقيقة، كلية العلوم، جامعة مصراتة، ليبيا
h.safar@sci.misuratau.edu.ly

تاريخ التقديم: 9.6.2020, تاريخ القبول 9.7.2020. تاريخ النشر الكترونى فى 1.8.2020
https://www.misuratau.edu.ly/journal/sci/upload/file/R-12 62-ISSUE-10%20PAGES%2035-39.pdf

الملخص: أجريت هذه الدراسة لغرض عزل وتقدير أعداد الأكتينوميسيتات من تربة حديقة مبنى كلية العلوم –جامعة مصراتة، وتشخيصها وتحديد فعاليتها التضادية ضد أنواع من البكتيريا والفطريات. جمعت 6 عينات من التربة بطريقة عشوائية من حديقة مبنى كلية العلوم، تراوحت درجات الحموضة لها ما بين 7.94-8.09. بينت نتائج العد للأكتينوميسيتات من عينات التربة باستخدام وسط أجار النشأ والكازين باتباع طريقة التخفيف أن أعدادها تراوحت ما بين $2.2 \times 10^5 - 6.9 \times 10^5$ خلية/جم تربة جافة. تم الحصول على 38 عزلة نقية درست صفاتها المورفولوجية باستخدام وسط أجار الشوفان، أظهرت النتائج تنوع في ألوان الميسيليوم الهوائي حيث قسمت العزلات إلى 7 مجاميع لونية (الرمادي، الأبيض، الأصفر، البنفسجي، الأحمر، البني والأخضر) كانت نسبة العزلات الرمادية الأعلى بنسبة 34.21%، كما قسمت أيضا على أساس الميسيليوم الخضري إلى مجموعتين (مميزة وغير مميزة) كانت نسبة العزلات غير المميزة الأعلى بنسبة 57.80%، كما تم تقسيم العزلات على أساس إنتاجها للصبغات الذائبة وكانت نسبة العزلات المنتجة الأعلى بنسبة 65.78%. أيضا أظهرت نتائج الفحص المجهري أن العزلات تميزت بوجود ميسيليوم هوائي يحمل سلسلة من الجراثيم الكونيدية المميزة لجنس *Streptomyces*. بينت نتائج الفعالية التضادية للعزلات أن 71% من العزلات كانت نشطة ضد واحد أو أكثر من بكتيريا وفطريات الاختبار، و أن 33.3% من العزلات النشطة كانت ذات فعالية تضادية ضد واحد أو أكثر من بكتيريا الاختبار *Klebsiella sp. Staphylococcus aureus, Escherichia .coli , Pseudomonas* sp.، و96.2% كانت ذات فعالية تضادية ضد واحد أو أكثر من فطريات الاختبار *Candida albicans*، *Alternaria alternata*، *Fusarium oxysporum*، وأن 29.6 % أظهرت فعالية تضادية ضد كلا من بكتيريا وفطريات الاختبار.

الكلمات المفتاحية: تربة، الأكتينوميسيتات، الفعالية التضادية.

المقدمة

الأكتينوميسيتات هي بكتيريا خيطية، أغلبها هوائية، موجبة لصبغة جرام، اشتقت تسميتها من الكلمة اليونانية "aktis" بمعنى شعاع و"Mykes" بمعنى فطريات [1]، ويرجع ذلك لتكوينها هيفات شبيهة من الناحية المورفولوجية لهيفات الفطريات ولكنها أرفع إذ يبلغ قطرها حوالي 1 ميكروميتر مقارنة بقطر الهيفات الفطرية التي يصل قطرها إلى حوالي من 5-10 ميكروميتر [2]. الأكتينوميسيتات واسعة الانتشار في الطبيعة، ومن أهم البيئات التي تتواجد بها بيئة التربة والماء [3]. ففي التربة تقدر أعدادها بحوالي من 10^6-10^9 خلية لكل جرام تربة [4].

تضم الأكتينوميسيتات أعداد كثيرة من الأجناس من أهمها جنس *Streptomyces* الذي يمثل حوالي 95% من إجمالي الأكتينوميسيتات الموجودة في التربة [5]، هو المسؤول عن إعطاء التربة رائحتها المميزة، خاصة بعد حرثها نتيجة لإفرازها زيوت طياره تسمى geosmin [2]، أيضا يفرز جنس *Streptomyces* في التربة العديد من الإنزيمات المحللة والتي تلعب دور مهم في تحليل العديد من المركبات العضوية المعقدة [6]. بالإضافة إلى ذلك يعتبر جنس *Streptomyces* مصدرا مهما للعديد من النواتج الأيضية الثانوية المفيدة من الناحية الاقتصادية والطبية كالمضادات الحيوية [7]، فحوالي 80% من المضادات الحيوية التي يتم تسويقها تجاريا لعلاج الكثير من الأمراض هي مضادات حيوية مصدرها *Streptomyces* [8]. من الأمثلة على هذه المضادات الحيوية streptomycin، neomycin وchloramphenicol التي تعتبر من المضادات البكتيرية ذات مجال ميكروبي متسع ضد كل من البكتيريا الموجبة والسالبة لصبغة جرام، أيضا من الأمثلة الأخرى مضاد cycloheximide وnystatin وهي من المضادات الفطرية التي تلعب دور مهم في علاج العديد من الأمراض الفطرية التي تصيب الإنسان [2].

من ناحية أخرى، يلعب جنس *Streptomyces* دورا مهما في مجال المكافحة الحيوية، وكبديل للمبيدات الزراعية الكيميائية المستخدمة في مكافحة أمراض النبات، وخاصة الممرضات الفطرية، وهذا راجع لقدرتها على إنتاج مضادات فطرية أو إنزيمات محللة للجدار الخلوي مثل إنزيم chitinase و glucanase 3-1α التي تمنع نمو العديد من الفطريات الممرضة لنبات[9] مثل *A. alternata* و *Fusarium solani* وبالتالي تثبط نموها وتساهم في حماية النبات من الأمراض[10].

بناء على ما سبق ونظرا لأهمية هذه البكتيريا سواء من الناحية الطبية أو الزراعية، هدفت هذه الدراسة إلى عزل الأكتينوميسيتات من تربة حديقة مبنى كلية العلوم-جامعة مصراتة/ليبيا، تقدير كثافتها العددية، تشخيصها وتحديد فعاليتها التضادية ضد أنواع من بكتيريا وفطريات الاختبار.

المواد وطرائق العمل

جمع عينات التربة

جمعت 6 عينات تربة بطريقة عشوائية من حديقة مبنى كلية العلوم/ جامعة مصراتة، كل عينة كانت عبارة عن خليط من 3-4 حفر أخذت بعمق حوالي 5 سم من سطح التربة، وضعت كل عينة في كيس من النايلون النظيف ثم نقلت إلى معمل الأحياء الدقيقة بالكلية، وتمت غربلتها لتخلص من الحصى والشوائب العالقة بها، ثم جففت عند درجة حرارة الغرفة، بعدها حفظت في أكياس نايلون نظيفة جديدة لحين استعمالها [11].

قياس درجة الحموضة (pH) لعينات التربة

حضر معلق من التربة لكل عينة في ماء مقطر بنسبة 2:1 (وزن: حجم)، بعد ذلك تم قياس درجة الحموضة باستخدام مقياس pH meter [12].

عزل الأكتينوميسيتات من عينات التربة

وزن 1 جم من كل عينة تربة، ثم وضعت في أنابيب تحتوي كل منها 9 ملي ماء مقطر معقم، بعد ذلك حضرت سلسلة من التخفيفات العشرية لكل معلق تربة، ثم نقل 1 ملي من كل تخفيف إلى سطح أطباق بتري تحتوي على وسط أجار النشأ والكازين (Starch Casein Agar) (3 مكررات لكل تخفيف)، تم نشرها أو توزيعها على سطح الوسط باستخدام ساق زجاجي معقم علي شكل حرف L، ثم حضنت الأطباق عند درجة حرارة 28°م لمدة 7-14 يوم إلى حين نمو مستعمرات الأكتينوميسيتات [13]. بعد التحضين تم تقدير أعداد الأكتينوميسيتات لكل جرام تربة جافة بإتباع القانون التالي:

تركيز عدد الخلايا /جم تربة جافة = متوسط عدد المستعمرات × مقلوب التخفيف [14]

تنقية العزلات

تم نقل كل مستعمرة من الأكتينوميسيتات باستخدام إبرة التلقيح ذات العقدة المعقمة إلى أطباق بتري تحتوي على نفس الوسط الذي عزلت منه لغرض تنقيتها باستخدام طريقة التخطيط [12].

تحديد الصفات المورفولوجية

الصفات اللونية للمستعمرات

حددت صفات اللونية لمستعمرات الأكتينوميسيتات وذلك بزرع كل عزلة نقية على وسط الشوفان (Oatmeal Agar)، وبعد فترة التحضين من 7-14 يوم عند درجة حرارة 28°م، تم تحديد الصفات اللونية لها من خلال فحص لون كلا من الميسيليوم الهوائي والميسيليوم الخضري، أيضاً من ناحية قدرتها على إنتاج أو تكوين الأصباغ الذائبة الملونة التي تظهر حول المستعمرة [15].

الصفات المجهرية

حددت الصفات المجهرية المتمثلة في شكل الميسيليوم الهوائي وترتيب الجراثيم الكونيدية باستخدام تقنية مزرعة غطاء الشريحة المائلة (Inclined Coverslip Culture Technique) والتي أجريت عن طريق غرس غطاء شريحة معقمة بزاوية 45° في طبق بتري يحتوي وسط الشوفان بحيث يكون نصف الغطاء بداخل الوسط، بعد ذلك تم تلقيح عزلة الأكتينوميسيتات على شكل خط من ناحية السطح العلوي لغطاء الشريحة المقابلة للآجار باستخدام إبرة تلقيح ذات العقدة، ثم حضنت الأطباق عند درجة 28°م لمدة 7 أيام، في هذه المرحلة ستنمو الأكتينوميسيتات على كل من الوسط وغطاء الشريحة، بعد فترة التحضين ينقل غطاء الشريحة بحدر من الوسط الغذائي ويوضع على شريحة زجاجية بها قطرة من صبغة الكريستال البنفسجية ثم تفحص باستخدام المجهر الضوئي تحت قوة تكبير X100، وشخصت العزلات بمقارنتها مورفولوجيا مع أجناس الأكتينوميسيتات الموصوفة في مرجع [16].

اختبار الفعالية التضادية للعزلات

اختبرت الفعالية التضادية للعزلات ضد 4 أنواع من بكتيريا الاختبار، واحده منها موجبة لصبغة جرام: *Staph. aureus* وثلاثة منها سالبة لصبغة جرام: *E. coli*، *Psudomonas* sp.، *Klebsiella* sp. تم الحصول على هذه البكتيريا من مختبر مستشفى الصفوة بمدينة مصراتة، وأيضا اختبرت الفعالية التضادية للعزلات ضد 3 أنواع من فطريات الاختبار: *C. albicans*، *A. alternata*، *F. oxysporum* والتي تم الحصول عليها من مختبر الأحياء الدقيقة بكلية العلوم-جامعة مصراتة.

طريقة التخطيط المتعامد

حددت الفعالية التضادية ضد البكتيريا و *C. albicans* باستخدام طريقة التخطيط المتعامد (Cross Streak Method) حيث زرعت كل عزلة بشكل خط مستقيم في منتصف سطح طبق بتري يحتوي على وسط الأجار المغذى (Nutrient Agar) 3 مكررات لكل عزلة، ثم حضنت الأطباق عند درجة حرارة 28°م لمدة 5 أيام لتنمو العزلات وتنتج المضادات الحيوية في الوسط الغذائي، بعد ذلك نقل باستخدام الماسحات القطنية المعقمة من المعلق البكتيري لكل عزلة من بكتيريا الاختبار وزرعت على شكل خطوط مفردة متعامدة على خط نمو العزلات، يبدأ الزرع من الطرف البعيد عن العزلات وينتهي عند خط نموها، ونفس الطريقة في حالة *C. albicans*. حضنت الأطباق عند درجة حرارة 30°م لمدة 24 – 42 ساعة. تم الكشف عن العزلات المنتجة للمضادات من خلال وجود منطقة تثبيط لنمو واحد أو أكثر من ميكروبات الاختبار في المناطق القريبة من خط نمو العزلات، [17].

طريقة المزرعة المزدوجة

حددت الفعالية التضادية ضد فطريات الاختبار *A. alternata*، *F. oxysporum* باستخدام طريقة المزرعة المزدوجة (Dual Culture Method)، وذلك بنقل قرص قطره 6 ملم من فطريات الاختبار في منتصف طبق بتري يحتوي وسط Potato Dextrose Agar، ثم وضع على بعد 30 ملم من قرص الفطر 4 أقراص من عزلات الأكتينوميسيتات. أيضا بنفس الطريقة جهز طبق تضمن قرص فطر الاختبار بدون الأكتينوميسيتات كشاهد للتجربة، حضنت الأطباق عند درجة 28°م لمدة أسبوعين، تم تقييم الفعالية التضادية للعزلات ضد فطريات الاختبار من خلال قياس طول منطقة التثبيط بين النمو الفطري وقرص الأكتينوميسيتات[10].

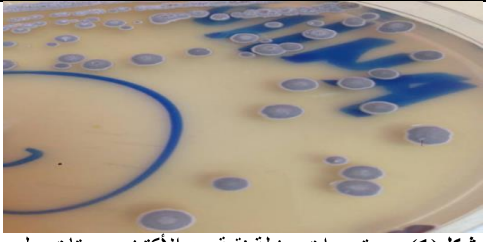
النتائج والمناقشة

تم جمع 6 عينات من تربة حديقة مبنى كلية العلوم -جامعة مصراتة، لغرض عزل الأكتينوميسيتات منها، بينت نتائج قياس درجة الحموضة لكل عينة تربة أن قيم pH تراوحت ما بين 7.94 -8.09، أي كانت متعادلة مائلة للقلوية، وهي تعتبر درجة حموضة مناسبة لنمو الأكتينوميسيتات، وبشكل عام تفضل الأكتينوميسيتات النمو في درجات حموضة تتراوح ما بين 6-9 [3]. أيضا أظهرت نتائج تقدير العدد الكلي للأكتينوميسيتات من عينات التربة أن أعدادها تراوحت ما بين 2.2×10^5 إلى 6.9×10^5 خلية/جم تربة جافة والتي تقاربت نوعا ما مع النتيجة المتحصل عليها في دراسة [8] حيث قدرت أعداد الأكتينوميسيتات في عينات تربة مبنى جامعة برمينجعام-المملكة المتحدة بحوالي 3.56×10^5/جم تربة جافة، أما في دراسة [12] تراوحت أعداد الأكتينوميسيتات في عينات تربة جمعت من مناطق مختلفة من الأردن ما بين 1.98×10^5 إلي 1.45×10^5 خلية/جم تربة جافة وهي كانت أقل مقارنة بهذه الدراسة، هذا الاختلاف في أعداد الأكتينوميسيتات من منطقة لأخرى قد يعزى لاختلاف الموقع الجغرافي للتربة، ولاختلاف محتوى التربة من الرطوبة و المادة العضوية، وأيضا درجة الحموضة و التي قد تؤثر بشكل ملحوظ على تواجد و تعداد الأكتينوميسيتات في بيئة التربة [8،12] (جدول 1).

تم عزل 38 عزلة نقية من الأكتينوميسيتات من عينات التربة، والتي اختيرت على أساس الصفات المورفولوجية لمستعمراتها والتي تميزت ببطء نموها ومظهرها الطباشيري المتماسك، التصاقها على سطح الوسط الغذائي وألوان الميسيليوم الهوائية المميزة (شكل 1).

الجدول (1): قيم pH لكل عينة تربة وأعداد الأكتينوميسيتات/ جم تربة جافة.

رقم العينة	قيمة pH	العدد /جرام تربة جافة	عدد العزلات المعزولة من كل عينة تربة
1	8.09	2.2×10^5	7
2	8.00	4×10^5	5
3	7.94	4×10^5	6
4	8.04	3.7×10^5	6
5	8.08	6.9×10^5	6
6	8.01	6×10^5	8
المجموع الكلي للعزلات			38



شكل(1): مستعمرات عزلة نقية من الأكتينوميسيتات على وسط أجار النشأ والكازين.

تم تحديد الصفات اللونية لمستعمرات الأكتينوميسيتات باستخدام وسط الشوفان، أظهرت النتائج اختلاف في ألوان الميسيليوم الهوائي الناضجة والتي قسمت على أساسها العزلات إلى سبع مجاميع لونية (الرمادي، الأبيض، الأصفر، البنفسجي، الأحمر، البني والأخضر) حيث كان عدد العزلات الرمادية الأكثر من إجمالي العزلات، أي حوالي 13 عزلة (34.21%)، يليها العزلات البيضاء بنسبة 23.68%، ثم العزلات الصفراء بنسبة 13.15%، يليها العزلات ذات اللون البنفسجي بنسبة 10.52% و الأحمر والبني بنسبة 7.89% لكل منهما، ثم الأخضر بنسبة 2.63%، هذه النتائج اتفقت مع دراسات سابقة [18،19] من حيث عدد العزلات الرمادية كانت الأعلى ثم البيضاء، ولكنها لم تتفق مع نتائج دراسة [20] التي أجريت على عينات تربة جمعت من منطقة السكت-مصراتة والتي كانت عدد العزلات البيضاء هي الأعلى ثم يليها العزلات الرمادية (الجدول 2).

أيضا قسمت العزلات اعتمادا على لون الميسليوم الخضري والذي يمثل لون المستعمرة من الجانب الخلفي إلى مجموعتين (مميزة وغير مميزة)، حيث بينت النتائج أن من أصل 38 عزلة، كانت حوالي 16عزلة (42.10%) ذات ميسيليوم خضري مميز ومثلت العزلات غير المميزة 22 عزلة (57.80%)، هذه النتائج اتفقت مع نتائج دراسة [20] من ناحية أن عدد العزلات غير المميزة كانت الأعلى من عدد العزلات المميزة. كما قسمت العزلات إلى مجموعتين على أساس قدرتها على إنتاج أصباغ ذائبة ملونة، فأظهرت النتائج أن 25 عزلة كانت منتجة للأصباغ (65.78%)، وأن 13 عزلة (34.21%) كانت غير منتجة للأصباغ الذائبة، اتفقت هذه النتائج مع الدراسة التي أجراها [12] من ناحية أن عدد العزلات المنتجة للأصباغ كانت الأعلى، واختلفت عن نتائج دراسة [20] (جدول 2).

الجدول (2): المجاميع اللونية لعزلات الأكتينوميسيتات على أساس لون الميسليوم الهوائي، الميسليوم الخضري وإنتاج الأصباغ الذائبة الملونة على وسط الشوفان.

اللون	عدد العزلات	ميسليوم خضري (%)		أصباغ ذائبة (%)	
		(+)	(-)	(+)*	(-)*
الرمادي	13 (34.21)	4 (30.76)	9 (69.23)	7 (53.84)	6 (46.1)
الأبيض	9 (23.68)	2 (22.22)	7 (77.77)	6 (66.66)	3 (33.33)
الأصفر	5 (3.15)	4 (80)	1 (20)	3 (60)	2 (40)
البنفسجي	4 (10.52)	2 (50)	2 (50)	4 (100)	0 (0)
الأحمر	3 (7.89)	3 (100)	0 (0)	3 (100)	0 (0)
البني	3 (7.89)	1 (33.33)	2 (66.66)	2 (66.66)	1 33.33)
الأخضر	1 (2.63)	0 (0)	1 (100)	0 (0)	1 (100)
المجموع الكلي	38 (%100)	16 (%42.10)	22 57.80) (%	25 (65.78)	13 (%34.21)

(+): ذات ميسيليوم خضري مميز، (-): ذات ميسيليوم خضري غير مميز، (+) *: مكونة للأصباغ الذائبة الملونة، (-) *: غير مكونة للأصباغ الذائبة الملونة.

بينت نتائج الفحص المجهري للعزلات (شكل 2) باستخدام تقنية مزرعة غطاء الشريحة المائلة أن العزلات تميزت بوجود ميسيليوم هوائي يحمل سلسلة من الجراثيم الكونيدية، وبمقارنة هذا الشكل مع أجناس الأكتينوميسيتات الموصوفة في مرجع [16] وجد أنها تتشابه من الناحية المورفولوجية لجنس *Streptomyces*.

شكل (2): الشكل المورفولوجي لأحدي عزلات *Streptomyces* باستخدام المجهر الضوئي تحت قوة تكبير X100.

من ناحية أخرى، بينت نتائج تحديد الفعالية التضادية للعزلات (جدول 3) ضد 4 أنواع من البكتيريا إحداهما موجبة لصبغة جرام *Staph. aureus* وثلاثة سالبة لصبغة جرام *E.coli*، *Klebsiella* sp.، *Psudomonas* sp.، وضد 3 أنواع من الفطريات *C. albicans*، *A. alternata*، *F. oxysporum* أن 11 عزلة (28.9%) من أصل 38 عزلة كانت غير نشطه ضد بكتيريا وفطريات الاختبار، وأن 27 عزلة (71%) من إجمالي العزلات كانت نشطة ضد واحد أو أكثر من بكتيريا أو فطريات الاختبار أو ضد كليهما. بينت النتائج أيضا كما موضح بالجدول (3) أن 9 عزلات (33.3%) من إجمالي 27 عزلة كانت نشطة ضد واحد أو أكثر من بكتيريا الاختبار، هذه النسبة كانت أقل مقارنة بنتائج الدراسة [20] والتي بينت أن 16 عزلة (84.21%) كانت ذات فعالية تضادية ضد واحدة أو أكثر من بكتيريا الاختبار. من ناحية أخرى أظهرت النتائج أن أعلى نسبة تثبيط كانت ضد البكتيريا الموجبة *Staph. aureus* بمعدل 8 عزلات (29.6%) من إجمالي العزلات النشطة (27 عزلة) يليها البكتيريا السالبة *E.coli* و *Klebsiella* sp. بمعدل 6 عزلات (22.2%)، ثم ضد بكتيريا *Pseudomonas* sp. بمعدل عزلة واحدة أي بنسبة (3.7%). كما بينت النتائج (جدول 4) أن عزلة واحدة رمز لها بـ A6/8 كانت ذات فعالية تضادية ضد جميع بكتيريا الاختبار حيث بلغت منطقة التثبيط ما بين 5 ملم ضد بكتيريا *Pseudomonas* sp. إلى 30 ملم ضد بكتيريا *Staph. aureus* (شكل 3). أما بالنسبة للفعالية التضادية ضد فطريات الاختبار، بينت النتائج أن 26 عزلة (96.29%) من إجمالي 27 عزلة كانت نشطة ضد واحد أو أكثر من فطريات الاختبار، وأن أعلى نسبة تثبيطيه كانت ضد فطر *A. alternata* بمعدل 22 عزلة (81.5%) من إجمالي العزلات النشطة (27 عزلة)، ثم ضد فطر *F. oxysporum* و *C. albicans* بمعدل 8 عزلات (29.6%) و7 عزلات (25.9%) على التوالي، هذه النتائج تقاربت مع دراسة [21] لتقييم قدرة عزلات الأكتينوميسيتات المعزولة من تربة الرياض بالمملكة العربية السعودية على تثبيط الممرضات الفطرية و التي بينت أن أعلى نسبة تثبيطيه كانت ضد فطر *A. alternata* ثم كانت ضد فطر *F. oxysporum*. أيضا أظهرت النتائج كما موضح بالجدول (4) أن عزلتين رمز لها بـ A2/4 و A4/4 من إجمالي العزلات النشطة كانتا ذات فعالية تضادية ضد جميع فطريات الاختبار، وأن أعلى نشاط تثبيطي كان للعزلة A4/4 حيث بلغت منطقة التثبيط ما بين 10ملم ضد فطر *F. oxysporum* إلى 18ملم ضد فطر *C. albicans*، أما العزلة A2/4 فأعطت نشاط تثبيطي أقل من العزلة A4/4 حيث بلغت منطقة التثبيط ما بين 5 ملم ضد فطر *F. oxysporum* إلى 15 ملم ضد فطر *C. albicans* (شكل 4).

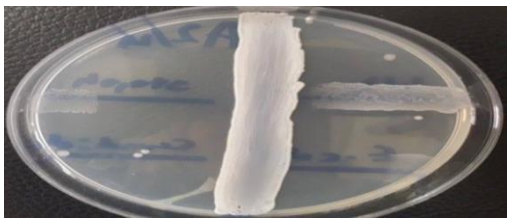
الجدول (3): الفعالية التضادية لعزلات الأكتينوميسيتات ضد بكتيريا وفطريات الاختبار.

الفعالية التضادية	عدد العزلات	النسبة المئوية%
اجمالي العزلات	38	%100
العزلات غير النشطة	11	%28.9
العزلات النشطة	27	%71
العزلات النشطة ضد البكتيريا:	9	%33.3
Staph. aureus	8	%29.6
E. coli	6	%22
Klebsiella sp.	6	%22
Pseudomonas sp.	1	%3.7
العزلات النشطة ضد الفطريات:	26	%96.2
C. albicans	7	%25.9
A. alternata	22	%81.5
F. oxysporum	8	%29.6
العزلات النشطة ضد البكتيريا والفطريات	8	%29.6

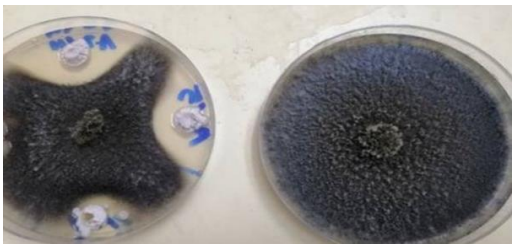
جدول (4): عزلات الأكتينوميسيتات التي أظهرت فعالية تضادية ضد كلا من بكتيريا وفطريات الاختبار وصفاتها المورفولوجية.

رمز العزلة		A1/4	A1/6	A1/7	A2/4	A2/5	A4/4	A4/5	A6/8
لون المستعمرة		رمادي	أصفر	أبيض	رمادي	رمادي	أبيض	رمادي	رمادي
الميسليوم الخضري*		-	+	-	-	+	-	+	-
الأصباغ الذائبة**		+	-	+	-	-	+	+	-
منطقة التثبيط (ملم***)	*Sta.*	15	-	30	22	30	30	30	30
	E.co	-	-	10	16	24	10	12	15
	Kle.	-	30	15	-	10	16	14	15
	Pse.	-	-	-	-	-	-	-	5
	A.al	12	3	9	12	11	15	10	13
	F.ox	-	-	-	5	-	10	-	10
	C.al	-	-	15	15	30	18	18	-

*: ميسيليوم خضري مميز(+) /غير مميز (-)، **: الأصباغ الذائبة منتجة(+) / غير منتجة(-)، ملم***: مليمتر، *Sta.*: *Staph. aureus*، *E.co*: *E. coli*، *Kle.*: *Klebsiella* sp.، *Pse.*: *Pseudomonas* sp.، *A.al*: *A. alternata*، *F.ox*: *F. oxysporum*، *C.al*: *C. albicans*.



شكل (3): الفعالية التضادية للأكتينوميسيتات ضد بكتيريا الاختبار.



شكل (4): الفعالية التضادية للأكتينوميسيتات ضد فطر *A. alternate*

بالإضافة إلى ذلك بينت نتائج جدول (4) أن 8 عزلات (29.6%) من إجمالي العزلات النشطة (27 عزلة) أعطت فعالية تضادية ضد كلا من بكتيريا وفطريات الاختبار، تقاربت هذه النتائج مع دراسة [22] حيث أظهرت النتائج أن 30% من العزلات كانت ذات نشاط واسع النطاق ضد كلا من بكتيريا وفطريات الاختبار. وهكذا يتضح مما سبق أن تربة حديقة كلية العلوم-جامعة مصراتة، تعتبر بيئة مناسبة لعزل الأكتينوميسيتات وتحديدا جنس *Streptomyces* والذي يعد مصدر مهم للعديد من المضادات الحيوية سواء المضادات البكتيرية أو الفطرية والتي لها دور مهم من الناحية الطبية والزراعية.

التوصيات

يوصي هذا البحث بدراسة الفعالية التضادية للأنواع النشطة باستخدام أوساط سائلة وتحديد الظروف المثلى لإنتاج المضادات الحيوية.

المراجع

[1]- Naikpati, S. V., Rathod, J. L. (2011). Selective isolation and antimicrobial activity of rare actinomycetes from mangrove sediment of Karwar. *Journal of Ecobiotechnology*, 3(10), 48-53.

[2]- مبارك، الصاوي محمد. عبد الحافظ، محمد عبد الوهاب. جمال، فتحي راوية. (2005). عالم البكتيريا. *مكتبة أوزوريست لنشر والتوزيع*، القاهرة، مصر، 1011 -1019.

[3]- Barak, E. A., Vasta, P., Sanchez, L., Gaveau-Vaillant, N., Jacquard., *et al.*, (2016). Taxonomy, Physiology, and Natural Products of Actinobacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 80, 1-43.

[4]- Goodfellow, M., Williams, S.T. (1983). Ecology of actinomycetes. *Annual Review Microbiology*, 73,189-216.

[5]- Williams, S. T., Vickers, J. C. (1988). Detection of actinomycetes in the natural environment: problems and perspective, P165-270. In Okami Y, Beppu T, Ogawara H (ed),

Biology of actinomycetes. Japan Scientific Societies Press Tokyo, Japan.

[6]- ألكسندر، مارتن. (1982). مقدمة في ميكروبيولوجيا التربة. *دار جون ويلي وأولاده للنشر*، نيويورك. الطبعة الثانية، 15، 63-71.

[7]- Parekh, S., Vinci, V. A., Strobel, R. J. (2000). Improvement of microbial strains and fermentation process. *Applied Microbiology Biothechnology*, 54, 287-301.

[8]- Agadagba, S. K. (2014). Isolation of actinomycetes from soil. *Journal of Microbiology Research*, 4(3), 136-140.

[9]- Fguira, L. F., Fotso, S., Ameur-Mehdi, R. B., Mellouli, L., Laatsch, H. (2005). Purification and structure elucidation of antifungal and antibacterial activities of newly isolated *Streptomyces* sp. Strain US80. *Research in Microbiology*, 156, 341 -7.

[10]- Aghighi, S., Shahidi Bonjar G. H., Rawashdeh R., Batayneh S., Saadoun J. (2004). First report of antifungal spectra of activity of Iranian Actinomycetes strains against *Alternaria solani*, *Alternaria alternata*, *Fusarium solani*, *phytophthora megasperma*, *verticillium dahliae* and *saccharomyces cerevisiae*. *Asian Journal of Plant Sciences*, 3(4), 463-471.

[11]- Abdulla K. (1998). Distribution of *Streptomyces* color series in some non-cultivated Iraqi soils and their antimicrobial activity against gram-negative bacteria. Thesis for master degree. Yarmok University, Jordan.

[12]- Saadoun, I., Ananbeh, H., Ababneh, Q., Jaradat, Z. (2017). Comparative distribution of soil *Streptomyces* flora in different Jordanian habitats and their enzymatic and antibiotic activates. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological (RJPBCS) and Chemical Sciences*, 8(2), 1285-1297.

[13]- Rai, K., Khadka, S., Sherstha, B. (2018) Actinomycetes: Isolation, characterization for antimicrobial activity form different sites of Chitwan, Nepal. *International Journal of Microbiology and Biotechnology*, 3(1): 25-30.

[14]- حداد، أحمد الحاج محمد. مبارك، الصاوي محمد. (1991). تمارين معملية في ميكروبيولوجيا التربة. *الدار العربية للنشر والتوزيع*، القاهرة، 39-44.

[15]- Shirling, E. B., Gottlieb, D. (1966). Methods for characterization of *Streptomyces* species. *International Journal of Systemic and Evolutionary Microbiology*, 16, 313-340.

[16]- Holt, J. G., Krieg, N. R., Sneath, H. A., Staley, J. T., Williams, S. T. (1994). Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. 9th ed. Baltimore, Williams &Wilkins, USA, 605-618.

[17]- Madigan, M. T., Martiko, J. M., Parker, J. (1997). Antibiotic: Isolation and characterization. In: Brock Biology of Microorganism, 8th ed. Prentice-Hall International Inc. New Jersey, 440-424.

[18]- Jeffrey, L. S. H. (2008). Isolation, characterization and identification of Actinomycetes from agriculture soils at Semongok, Sarawak. *African Journal of Biotechnology*, 7(20), 3697-3702.

[19]- Mellouli, L., Bejar, S., Ben Fguira, L. (2012). Isolation and screening of *Streptomyces* from Soil of Tunisia Oases ecosustem for non- polygenic antifungal metabolites. *African Journal of Biology*, 11(29), 7512-7519.

[20]- صافار، عمر إبراهيم هناء. (2019). الصفات اللونية والتضاد الحيوي لبكتيريا *Streptomyces* معزولة من تربة منطقة السكت-مصراتة. *مجلة الساتل العلمية المحكمة*، العدد التاسع عشر، 63-74.

[21]- Ismet, A., Bukhari, N. A., Perveen, K., & Bakir, M. A. (2012). Antifungal activity of some actinomycetes isolated from Riyadh soil, Saudi Arabia: An evaluation for their ability to control Alternaria caused tomato blight in green house pot trial. *African Journal of Agricultural Research*, 7(13), 2042-2050.

[22]- Thakur, D., Yadav, A., Gogoi, B. K., Bora, T. C. (2007). Isolation and screening of *Streptomyces* in soil of protected forest areas from the states of Assam and Tripura-India, for antimicrobial metabolites. *Journal de mycology medical*, 17(4), 242-249.