

مطالعه و بررسی تا کسونومیکی چند نمونه از آکتینومیستها در ایران*

دکتر اشرف نوحی- دکتر فریدون سلکزادم- ربابه رضائی پور کار دوست

گروه زیست شناسی- دانشکده علوم

دانشگاه تهران

مقدمه: بعد از کشف نخستین آنتی بیوتیک یعنی پنی سیلین و ثابت شدن اثر فوق العاده مؤثر آن علیه میکربهای بیماریزای گرم مثبت تلاش در راه جستجوی میکروارگانیزم های سولد آنتی بیوتیکها فزونی یافت (۸). گروهی از میکروارگانیزمها که از این نظر مورد توجه بیشتر قرار گرفت آکتینومیستها بودند. واگسمن وسایرین (۱۷۹۱۶) انواع آکتینومیستها بویژه گونه های سترپتومیسس را از منابع مختلف جدا و خواص ضد حیاتی آنها را ثابت کردند. نتیجه این پژوهشها کشف آنتی بیوتیکهای مؤثری نظیر کلرومایستین، تتراسیکلین ها، سترپتومایسین، اریتروسایسین ونیستاتین وسایرین بود. در جریان بررسی ویژه گیهای انواع آکتینومیستها پژوهشگران دریافتند که این گروه از میکروارگانیزمها توانائیهای دیگری نیز دارا میباشدند. تولید آنزیمهای تجزیه کننده سواد نسبتاً پایدار طبیعت نظیر سلولز، کیتین، لیگنین- کراتین، تثبیت ازت جوی، تولید ویتامین B_{۱۲}، تولید اسیدهای آمینه در آکتینومیستها اهمیت وارزش آنها را بیش از پیش فزونی داد (۹، ۱۰، ۱۱). با توجه به نیاز روزافزون به پیدا کردن آنتی بیوتیکهای جدید علیه بیماریهای عفونی قارچی وبا کتری وهمچنین تولید سواد مفید و قابل استفاده از سواد زاید طبیعت کوشش پژوهشگران در این راه متوقف نمانده و هر روز شاهد انتشار مقالات تازه ای درباره کشف نمونه جدید از این دسته از میکروارگانیزمها هستیم (۶، ۱۱ و ۱۲). امروزه در رده بندی این میکروارگانیزمها از صفات سورفولوژیکی، بیوشیمیائی و ضد حیاتی استفاده میشود (۲، ۱۲، ۱۳ و ۱۴). نظرباینکه در ایران تا کنون این دسته از میکروارگانیزمها ناشناخته مانده و مورد بررسی قرار نگرفته بود، در این پژوهش کوشش شده بررسی کلی از آکتینومیستها و شناسائی انواع با تا کید بر روی مای سولد آنتی بیوتیک بعمل آید. در این مقاله بخش اول نتایج بدست آمده در این راه ارائه شده است.

* اعتبار این پژوهش از محل اعتبارات پژوهشی دانشگاه تهران تأمین شده است

روش کار:

نمونه برداری- برای جستجوی آکتینومیستها از منابع طبیعی نظیر خاک مزروعی و بیابانی، انواع خاکهای جنگلی، آبهای آلوده، لجن، فضلابها برداشت شده است. روش برداشت نمونه بدین طریق بود که مقدار حدود ۱۰۰ گرم از نمونه را بکمک سپاتول سترون در شیشه های درسمباده ای ۲۰ میلی لیتری ریخته پس از بستن دهانه آنها در گرمای ۴ درجه به آزمایشگاه حمل شده و سپس مورد آزمایش قرار گرفته است. در مورد آب مقدار ۱۰۰ سانتیمتر مکعب برداشت شده است.

جدا کردن آکتینومیستها از منابع مختلف- برای جدا کردن آکتینومیستها از منابع طبیعی روش کشت متداول در میکروبیولوژی بکار برده شده است (۱۶۹۱).

الف- کشت سطحی= پس از آماده کردن محیطهای کشت گلوکز نمک آمونیم آگار، گلیسرل آرژینین آگار، آگار غذائی و گلوکز آسپاراژین آگار در جعبه های پتری ستریل از رقت مناسب نمونه ها ۱ سانتیمتر مکعب روی سطح هریک از محیطهای کشت بطور یکنواخت گسترده و کشتها یک هفته در گرمای ۳۰ درجه سانتیگراد قرار داده شد.

ب- کشت عمقی= از رقت های مناسب هر نمونه ۱ سانتیمتر مکعب در جعبه های پتری ستریل وارد نموده با ۲ سانتیمتر مکعب محیط کشت مذاب ۳۰ درجه (نشاسته آگار، نشاسته کازئین آگار، گلوکز عصاره مخمر آگار، گلیسرل آرژینین آگار و عصاره خاک آگار) مخلوط و سپس بواتها مدت یک هفته در گرمای ۳۰ درجه سانتیگراد قرار داده شده است.

ج- غنی کردن نمونه های خاک قبل از کشت= بمنظور ازدیاد تعداد آکتینومیستها از روش زیر استفاده شده است:

در ۳ ارلن ستریل هر کدام ۳ گرم نمونه وارد نموده و بهر یک به نسبت ۱٪ مواد آلی غنی کننده (پپتن، گلوکز، عصاره مخمر، آرژینین و نشاسته) اضافه گردید و ارلن ها مدت ۲ روز در حرارت ۲۸ درجه سانتیگراد قرار داده شد سپس از محتوی هریک از ارلن ها رقت های مختلف تهیه و ۱ سانتیمتر مکعب از هر کدام بر روی محیطهای کشت غذائی نامبرده بالا با روش عمقی کشت داده شد و کشتها بمدت یک هفته در گرمای ۳۰ درجه سانتیگراد قرار داده شده است.

د- روش افتراقی= در این روش سعی شده است حتی الامکان از رشد سایر میکروارگانیسمها جلوگیری شود. برای این منظور پس از کشت هر نمونه به روش سطحی در محیط کشت گلوکز عصاره مخمر آگار بواتها را مدت ده دقیقه در حرارت ۱۱۰ درجه قرار داده سپس به حرارت ۳۰ درجه سانتیگراد منتقل نموده ایم.

ه- در روش دیگر ۱ گرم خاک مورد آزمایش را با ۱ گرم کربنات کلسیم در بوات ستریل مخلوط نموده مدت ۱۰ روز در حرارت ۲۸ درجه سانتیگراد قرار دادیم بعد مخلوط را به ارلن واجد ۱۰۰ سانتیمتر مکعب آب مقطر سترون افزوده مدت یک ربع در دستگاه شیکر قرار دادیم سپس ۱ سانتیمتر مکعب از مایع رو را به روش کشت سطحی روی محیط کشت آرژینین گلیسرول - سولفات آگار کشت داده آگار کشتها مدت یک هفته در گرمای ۳۰ درجه سانتیگراد قرار داده شده است.

بررسی خواص ضدحیاتی= بمنظور جستجوی سوبه های مولد آنتی بیوتیک از روشهای زیر استفاده

شده است:

الف- کشت خطی از کشت تازه آکتینومیستها و باکتریها در سطح محیط غذایی مناسب بطریقه خطی وعمود برهم.

ب- کشت مخلوط آکتینومیستها و باکتریها بروش مخلوط در سطح محیط غذایی.

ج- ۱ سانتیمتر مکعب سوسپانسیون باکتری مورد آزمایش را بر سطح محیط کشت بطور یکنواخت گسترده سپس از کشت تازه آکتینومیست بر روی سطح محیط بصورت نقطه ای کشت داده شده است.

د- ابتدا ۱ سانتیمتر مکعب سوسپانسیون باکتری را روی محیط کشت غذایی بطور یکنواخت گسترده سپس بکمک چوب پنبه سوراخ کن ستریل در هر بوات با برداشتن آگار چهار حفره بقطره ۱ میلیمتر ایجاد و مقدار معینی از کشت مایع آکتینومیست در آنها ریخته شده است.

ه- کشت در محیط مایع= در درون ۱ لوله آزمایش به هر یک مقدار ۶ سانتیمتر مکعب پالیده عاری از سلول آکتینومیست را ریخته و سپس در لوله اول مقدار ۱ سانتیمتر مکعب از سوسپانسیون انواع باکتریها کشت داده شد و لوله آخر بعنوان شاهد نگهداری گردید. کلیه لوله ها در گرمای مناسب رشد باکتریها ۳۷ درجه سانتیگراد قرار داده شده است.

مطالعه خواص بیوشیمیائی= برای بررسی خواص بیوشیمیائی اثر تک تک آکتینومیستهای جدا شده بر روی مواد شیمیائی مختلف که در تشخیص انواع آکتینومیستها کمک میکند (سلولز، نشاسته، کراتین، ژلاتین، لیتاموس میلک و هیدراتهای کربن) کشت داده شده است.

مطالعه خواص سرفولوژیکی= در بررسی خصوصیات سرفولوژیکی ابتدا نمونه آکتینومیستهای جدا شده روی دو محیط کشت عصاره جو آگار و نشاسته کازئین آگار کشت داده شد، پس از ۱ روز قرار دادن در گرمای ۳۵ درجه سانتیگراد شکل سیلیوم های هوائی توسط میکروسکپ نوری و شکل و آرایش سطح سپور با میکروسکپ الکترونی مورد مطالعه قرار گرفت، ضمناً رنگ سیلیوم های رویشی و هوائی بارنگهای استاندارد مقایسه و مشخص گردیده است.

نتایج حاصله و بحث :

در بررسی و مطالعه آکتینومیستهای ایران سعی شده تا حد امکان از منابع متفاوت و نقاط مختلف نمونه برداری شود. مشخصات نمونه ها در جدول (۱) ملاحظه میشود. برای جستجو و جدا کردن آکتینومیستها از منابع طبیعی از غالب روشهایی که از بدو مطالعه این میکروارگانیسم ها بکار رفته استفاده شده، نتایج حاصل نشان میدهد که ترکیب محیط کشت در رشد آکتینومیستها فوق العاده مؤثر میباشد. در محیطهای مناسب نه فقط تعداد کلنی ها فزونی می یابد بلکه تنوع آنها نیز بیشتر میشود. بطوریکه در جدول (۲) ملاحظه میشود بطور کلی از چهار محیط کشت نوترین آگار، گلوکز عصاره مخمر آگار، گلیسرل آرژینین آگار و نشاسته کازئین آگار، محیط کشت نشاسته کازئین آگار برای رشد انواع آکتینومیستها مناسبتر می باشد (جدول ۲).

مطالعه کشت های سطحی و عمقی ثابت نمود که روش کشت عمقی برای رشد آکتینومیستها بهتر است و هنگامی که نمونه خاك، آب و لجن قبل از کشت با سواد غنی کننده، نظیر پپتن، گلوکز، عصاره مخمر، آرژینین، کازئین و نشاسته تقویت شود گوناگونی آکتینومیستها فوق العاده فزونی می یابد (جدول ۳). همچنین هنگامی که نمونه ها را قبلاً با سواد مختلف غنی کرده و سپس در محیطهای واجدهمان سواد غنی کننده کشت دهند نتیجه نشان میدهد که این روش نسبت به سایر روشها برتر میباشد (جدول ۴).

جدول (۱) نمونه های جمع آوری شده از نواحی مختلف ایران با ذکر مشخصات هر یک از آنها

شماره نمونه	نوع نمونه	محل برداشت	رویش گیاهی	مقدار رطوبت %	تاریخ برداشت
۱	آب کوره	حوالی شهرری	-	-	۵۳/۷/۲۰
۲	.	.	-	-
۳	.	.	-	-
۴	لجن	مرداب	-	۸۰-۹۰	۵۳/۷/۲۹
۵	.	.	-
۶	خاک	جنگل ساری	جنگل
۷
۸	.	جنگل نوشهر	.	.	۵۳/۸/۶
۹
۱۰	.	جنگل شهسوار	.	.	۵۳/۸/۷
۱۱
۱۲	.	رودبار	زیتون کاری	۳۰-۵۰	۵۳/۸/۱۳
۱۳	.	شمیران	باغ میوه
۱۴
۱۵	خاکبرگ	.	-	-
۱۶	خاک	رودبار	زیتون کاری	۳۰-۵۰
۱۷	لجن	مرداب پهلوی	-	۸۰-۹۰	۵۳/۸/۱۴
۱۸	.	.	-
۱۹	خاک	محیط دانشگاه تهران	گلکاری	.	۵۳/۸/۲۲
۲۰	.	.	درخت چنار
۲۱	.	.	چمن

دنباله جدول (۱)

شماره نمونه	نوع نمونه	محل برداشت	رودیش گیاهی	مقدار رطوبت	تاریخ برداشت
۲۲	خاک	محیطه پان‌شگاه تهران	درخت تبریزی	۸۰-۹۰	۵۳/۸/۲۲
۲۳	"	باغچه‌های رز تهران	سبزی میوه گل	"	۵۳/۹/۲۰
۲۴	"	"	سبزی	"	"
۲۵	"	"	سبزی	"	"
۲۶	"	"	گل کاری	"	"
۲۷	"	محیطه پان‌شگاه تهران	"	۳۰-۵۰	۵۳/۹/۲۵
۲۸	"	"	چمن	"	"
۲۹	"	"	"	"	"
۳۰	"	"	گل کاری	"	"
۳۱	خاکبرک	"	—	—	۵۴/۶/۲۹
۳۲	خاک	"	گل کاری	۳۰-۵۰	"
۳۳	"	"	چمن	"	"
۳۴	"	باغچه‌های رز تهران	گل کاری	۸۰-۹۰	"
۳۵	"	"	سبزی	"	"
۳۶	"	"	میوه	"	"
۳۷	"	"	گل کاری	"	"
۳۸	"	"	چمن	"	"
۳۹	"	ورامین	غیرمزه‌ای	۱۰-۲۰	"
۴۰	"	"	"	"	"
۴۱	"	"	سبزی	۳۰-۵۰	"
۴۲	"	گرمسنگ آمل	جنگل	۳۰-۵۰	۵۴/۷/۱۹

دنباله جدول (۱)

شماره نمونه	نوع نمونه	محل برداشت	رویش گیاهی	مقدار رطوبت %	تاریخ برداشت
۴۳	خاک	کرمانند آمل	جنگل	۳۰-۵۰	۵۴/۷/۱۹
۴۴	"	در کوه	توت	۱۰-۲۰	۵۴/۷/۲۵
۴۵	"	"	غیرمزره‌وسی	"	"
۴۶	"	سولوتون	گرد و توت	"	"
۴۷	"	در کوه	درخت ازگیل	"	"
۴۸	"	"	گیاهان خودرو	"	"
۴۹	"	سولوتون	توت	"	"
۵۰	"	۱ کیلومتری آمل	جنگل	۳۰-۵۰	۵۴/۷/۱۹
۵۱	"	۲ کیلومتری آمل	"	"	"
۵۲	"	۱۴ کیلومتری در کوه غیرمزره‌وسی	"	۱۰-۲۰	۵۴/۷/۲۵
۵۳	"	اما مزاد فابوالحسن	ترب سفید	"	۵۴/۸/۲
۵۴	"	"	گل‌های وحشی	"	"
۵۵	"	"	جو	"	"
۵۶	"	"	پنبه	"	"
۵۷	"	"	گوجه فرنگی	"	"
۵۸	"	شهری	گند مزارشخشد	"	۵۴/۸/۲
۵۹	"	اما مزاد فابوالحسن	باد مچان	"	"
۶۰	"	"	ذرت	"	"
۶۱	"	"	پنبه	"	"
۶۲	"	"	تسره	۸۰-۹۰	"
۶۳	"	"	شاهیسی	"	"

دنباله جدول (۱)

شماره نمونه	نوع نمونه	محل برداشت	رویش گیاهی	مقدار رطوبت /	تاریخ برداشت
۶۴	خساک	شهریار	سیب	۱۰-۲۰	۵۴/۸/۲۹
۶۵	"	نزد يك شهریار	گد و تپسل	" "	" "
۶۶	"	شهریار	د رخت كوجك	" "	" "
۶۷	"	" "	سیب	" "	" "
۶۸	"	نزد يك شهریار	بید اكالیتوس	" "	" "
۶۹	"	شهریار	باد مچان	" "	" "
۷۰	"	" "	یونجه	۲۰-۵۰	" "
۷۱	"	" "	چمن در	۱۰-۲۰	" "
۷۲	"	نزد يك شهریار	گند ۲	۲۰-۵۰	۵۴/۹/۶
۷۳	"	" "	یونجه	" "	" "
۷۴	"	شهریار	چمن زار	" "	" "
۷۵	"	شهریار	باغ	۱۰-۲۰	" "
۷۶	"	نزد يك شهریار	د رخت كوجك	" "	" "
۷۷	"	" "	باغ	" "	" "
۷۸	"	شهریار	یونجه	" "	" "
۷۹	"	" "	چمن زار	۲۰-۵۰	۵۴/۹/۱۳
۸۰	"	" "	د رخت گلابی	" "	" "
۸۱	"	نزد يك شهریار	چمن در معمولی	" "	" "
۸۲	"	" "	گوجه نرنکی	" "	" "
۸۳	"	" "	چمن زار	" "	" "
۸۴	"	شهریار	کاج	۱۰-۲۰	" "

جدول (۲) تاثیر ترکیب محیط کشت در رشد و تعداد کل میکروارگانیسم ها بر حسب گرم خاک x ۱۰^۵

نسبت تعداد آگنیومیستها به تعداد کل میکروارگانیسم ها بر حسب گرم خاک x ۱۰ ^۵				نمونه خاک
محیطهای کشت				
نورین آگار	گلوکز عصاره مخمر آگار	گلیسرول آرزین آگار	نشاسته کازین آگار	
۱/۱۵	۶/۴۰	۱/۴	۱/۱۰*	۴۲
۶/۱۵	۱/۱۰*	۱/۱۰*	۱/۱۰*	۴۳
*	-	۱/۵	*	۴۴
۲/۴۰	-	*	۱/۱۰	۴۵
۱/۲۵	۱/۲	۱/۶	۱/۲۵	۴۶
۶/۵۰	۱/۶	۵/۱۰	۱/۱۰*	۴۷
-	۱/۲	۱/۲	۱/۱۰	۴۸
۱/۲۵	۱/۵	*	۵/۲۵	۴۹
۱/۱۰*	۶/۲۵	۲/۲۰	۱/۱۰	۵۰
۶/۱۰	۱/۱۰*	۱/۱۵	۶/۱۰	۵۱
۵/۴۰	-	۱/۴	۲/۴۰	۵۲
۶/۱۰*	-	۶/۱۴	۱/۴۰	۵۳
۱/۱۰	-	۱/۵	۱/۲	۵۴
۱/۷	*	*	۱/۴۰	۵۵
۱/۱۰	۱/۱۰	۱/۷	۱/۵۰	۵۶
۱/۲	-	۱/۱۵	۱/۴۰	۵۷
*	۱/۵	۱/۲۰	۱/۱۰	۵۸
-	۱/۱۰	۱/۱۵	۱/۱۰	۵۹
*	-	۱/۹	۶/۱۰*	۶۰
۱/۴	-	۱/۴	۲/۱۰*	۶۱
۶/۵۰	*	*	۱/۲۷	۶۲
۱/۴	۱/۱۰	*	*	۶۳

* کفنی های گسترده (شمارش انجام نگرفته است)

- نشاسته عدم رشد

دنباله جدول (۲) تاثیر ترکیب کود کشت در رشد و جدا کردن اکتینومایست ها

نسبت تعداد اکتینومایست ها به تعداد کل میکروارگانیزم ها بر حسب گرم خاک x ۱۰۰				نمونه خاک
محباسهای کشت				
نوشترپسین اکسار	کلوستریوم آرزین اکسار	کلوکتریوم راه مخمر اکسار	نشاسته کازین اکسار	
۱/۲۰	—	۱/۲۰	۱/۹۲	۶۴
—	—	*	۱/۲۰	۶۵
۱/۱۰	۱/۱۰	۱/۲۰	۱۵/۱۵۰	۶۶
۱/۲۰	—	۱/۱۰	۲/۸۶	۶۷
۱/۵	۱/۱۰	۱/۲۰	۱/۱۶۲	۶۸
۱/۵۰	—	۱/۱۰	۱/۵۰	۶۹
۱/۱۰	۱/۵	۲/۲۰	۱۵/۹۹	۷۰
۱/۱۰	—	۱/۱۰	۲/۲۰	۷۱
۱/۱۰	—	*	۱/۹۲	۷۲
—	۱/۱۰	۱/۲۰	۱/۹۲	۷۳
*	—	*	۱/۲۶۵	۷۴
۱/۱۰	—	۱/۱۰	۲/۸۵	۷۵
۱/۸	—	*	۲/۱۹۲	۷۶
۱/۱۰	—	۱/۴۵	۱/۱۸۲	۷۷
*	—	۱/۱۰*	۶/۴۶۹	۷۸
۱/۱۰	—	۱/۵	۱/۱۸۲	۷۹
۱/۴۶	—	۱/۱۰	۱/۲۸۶	۸۰
۱/۲۰	۱/۲	۶/۲۰	۱۰/۱۰۵	۸۱
۶/۱۵	۱/۲۰	۱۵/۴۷	۱۶۸/۲۳۲	۸۲
*	۱/۸	۲/۲۲	۵۰/۲۳۶	۸۳
۱/۵۰	۱/۱۰	۱/۲۰	۲/۱۴۵	۸۴

* کلنی های گسترده (شمارش انجام نگرفته است)

- نشانه عدم رشد

جدول (۳) تاثیر غشایی کردن خاک در رشد و عملکرد آذین‌بندی نیشکر در موطیها

تعداد کلنی آذین‌بندیها در موطیهای مختلف بر حسب گرم خاک x ۱۰^۳

نمونه خاک	نشانه آگار						لاکر عصاره مخمر آگار						نیتروسل آگار						کلیسرول آوزین آگار						نشانه آوزین آگار					
	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۱	۲	۳	۴	۵	۶
۳۲	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱
۳۳	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱
۳۴	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱
۳۵	۱۲	۸	۲	۲	۲	۲	۱۲	۸	۲	۲	۲	۲	۱۲	۸	۲	۲	۲	۲	۱۲	۸	۲	۲	۲	۲	۱۲	۸	۲	۲	۲	۲
۳۶	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲
۳۷	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲
۳۸	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲
۳۹	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲
۴۰	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲
۴۱	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲
۴۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲
۴۳	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲
۴۴	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲
۴۵	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲
۴۶	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲

۱- خاک

۲- خاک + پیتمن

۳- خاک + لاکر

۴- خاک + عصاره مخمر

۵- خاک + نشان

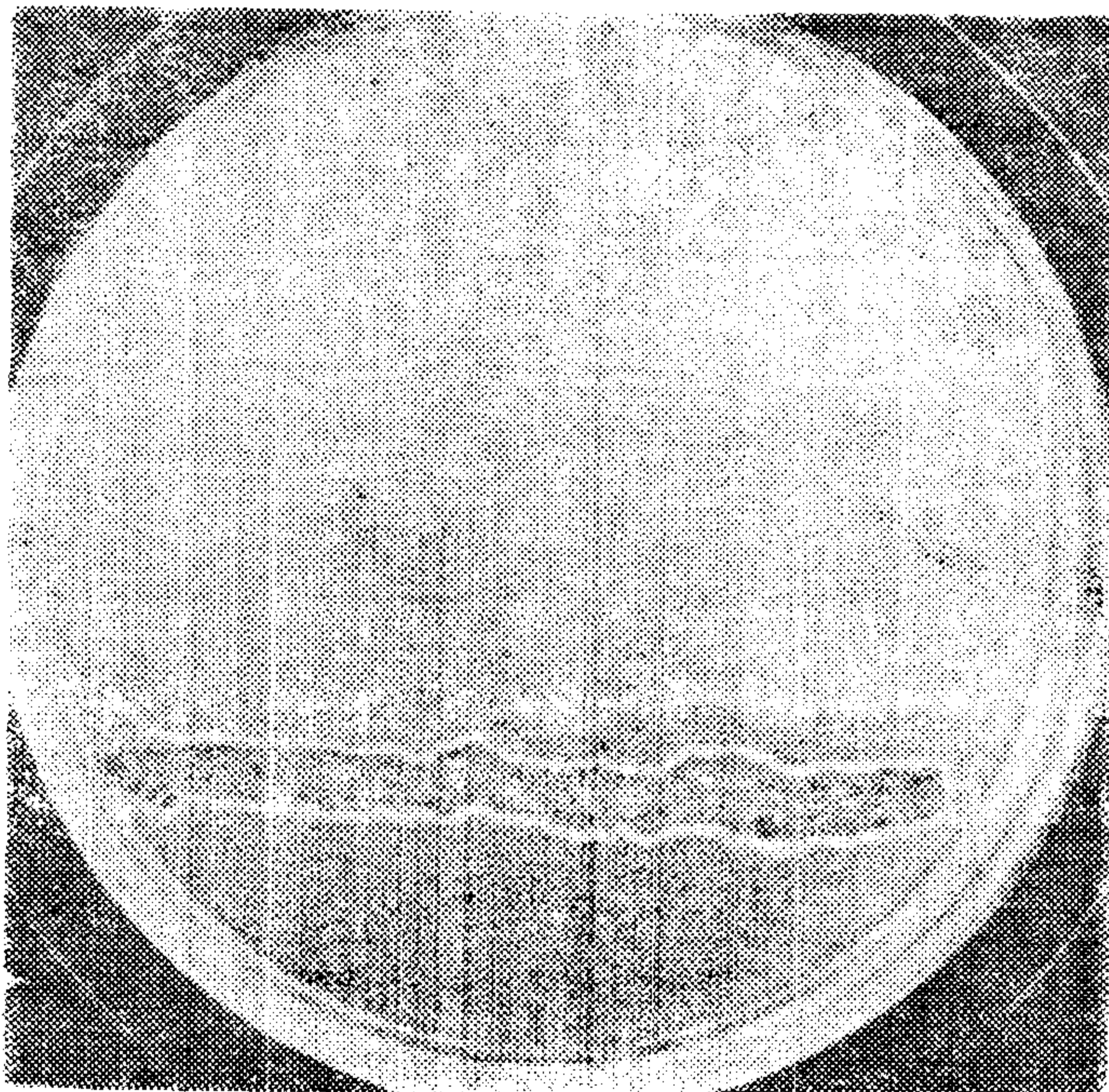
۶- خاک + آوزین

جدول (۴) تاثیر غنی کردن حال در رزینس و حد کردن اکسیدوسیت ها بر بازگشت در محیط عدائی واجد ماده غنی کننده

تست تعداد اکسیدوسیت ها به تعداد کل میکروارگانسیم ها بر حسب گرم خاک x ۱۰ ^۰										نوعه خاک	
خاک + بیتن	خاک + گلوز	خاک + آرژین	خاک + نشاسته	خاک + عصاره مخمر	خاک + کازین	محیطهای کشت					
بیتن دار	مخمر آگار	کازین آگار	نشاسته	گلوز عصاره مخمر آگار	کازین آگار	نشاسته	کازین آگار	آرژین آگار	کلیسول	بیتن دار	
۱/۴	۵٪	۱/۶	۶/۵۰	۱/۲۲	۱/۴۰	-	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۴۷
۱/۴	۱/۲	۱/۴	-	۱/۴	۱/۴	-	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۴۸
۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۵۰
۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۵۱
۱/۴	*	۱/۴	*	*	۱/۴	*	۱/۴	-	۱/۴	۱/۴	۵۲
۱/۴	*	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	-	۱/۴	۱/۴	۵۳
۱/۴	*	۱/۴	-	*	۱/۴	۱/۴	*	*	۱/۴	۱/۴	۵۴
۱/۴	*	۱/۴	-	۱/۴	*	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۵۵
۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	-	۱/۴	۱/۴	۵۶
۱/۴	*	۱/۴	-	۱/۴	*	*	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۵۷
۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	*	-	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۵۸
۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	*	-	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۵۹
۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	*	*	-	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۶۰
۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	*	-	-	۱/۴	۱/۴	۶۱
۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	*	*	۱/۴	۱/۴	۶۲
۱/۴	*	۱/۴	-	۱/۴	۱/۴	-	-	*	۱/۴	۱/۴	۶۳
۱/۴	۱/۴	۱/۴	-	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۶۴
۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۶۵
۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۶۶
۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۶۷
۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۶۸
۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۶۹
۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۷۰
۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۷۱
۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۷۲
۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۷۳
۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۱/۴	۷۴

* گلی های گسترده (شمارش انجام نگرفته است)
- نشانه عدم رشد

بطور کلی با بکار بردن روشهای متعدد در وهله اول جمعاً ۶۰۰ سویه از آکتینومیستها از ۸۴ - نمونه خاک، خاکبرگ، لجن و آب بدست آمده که با آزمایشهای دقیق ۴۰۰ سویه بین آنها تشخیص داده شد. از هر یک از این نمونه ها کشت خالص تهیه و نگهداری شده است. این نمونه ها از منابع مختلف جمع آوری گردیده است. یک بررسی دقیق نشان میدهد که تعداد آکتینومیستها در خاک بیشتر از سایر منابع میباشد و بعلاوه تعداد انواع آکتینومیستها در خاکهای سزروعی بارطوبت متوسط نسبت به سایر منابع (خاکهای غیر سزروعی کم رطوبت، خاکهای سزروعی بارطوبت زیاد، خاکهای بیابانی خشک و خاکهای جنگلی) فراوانتر است. باید متذکر شد که در خاکهای جنگلی تعداد آکتینومیستها فراوان ولی تنوع آنها چندان زیاد نیست. از نمونه های فوق در مطالعات بعدی حدود ۳۰ نمونه برای تشخیص و شناسائی دقیق برگزیده شده است. در بررسی خواص آنتاگونیستیکی آکتینومیستهای جدا شده از روشهای متداول استفاده شده است (۱۵). نتایج حاصل نشان میدهد که از ۳۰ نمونه مورد مطالعه عده ای نسبت به باکتریهای مورد آزمایش خاصیت ضد حیاتی دارند، منتهی روش سنجش در بروز این خاصیت تأثیر دارد زیرا بخوبی دیده میشود که پالیده آکتینومیستها علیه باکتریها بیشتر مؤثر بوده در حالی که در سنجش به روش کشت عمود برهم یا - نقطه ای چنین اثری هویدا نشده است (جدول ۵). بنابراین روش سنجش خاصیت ضد حیاتی تحت شرایط خاص و روش معینی باید انجام گیرد. در ۱۹۶۷ **Sands** و **Harnus** ثابت کردند که آگار میتواند فعالیت آنتی بیوتیکی را تضعیف نماید و با شست و شود دادن آگار توانستند این فعالیت را بعداً اکثر برسانند، بعلاوه احتمال دارد برخی از نمونه ها در نتیجه کشت مداوم در محیط ساختگی و آزمایشگاهی توانائی ترشح آنتی بیوتیک خود را از دست داده باشند. شرایط فیزیکی و ترکیب محیط کشت نیز در سنتز مواد ضد حیاتی مؤثر است (۱۳ و ۷). آنچه مسلم است و جدول (۵) نشان میدهد نمونه های مورد آزمایش دارای توانائی ترشح آنتی بیوتیک اندواین خاصیت علیه باکتریهای g^+ بیش از باکتریهای g^- میباشد. باکتری *B. mycoides* نسبت به عده زیادی از نمونه های مورد آزمایش حساسیت نشان داده است (شکل ۱).



شکل ۱ - اثر آنتاگونیسمی آکتینومیست نمونه ۷ علیه باسیلوس میکوئیدس^۱

در بررسی خواص آنتی بیوتیکی نمونه های جدا شده باید حوصله زیاد بخرج داد و شرایط مساعد و مناسب بروز این خاصیت را در هر یک از نمونه ها پدید کرد و در اینجاسرف وقت در این مورد ما را از هدف

جدول (۱۰) نتایج حاصله از بررسی میکروبیولوژیکی آب آشامیدنی در شهر تهران

شهر تهران - آب آشامیدنی

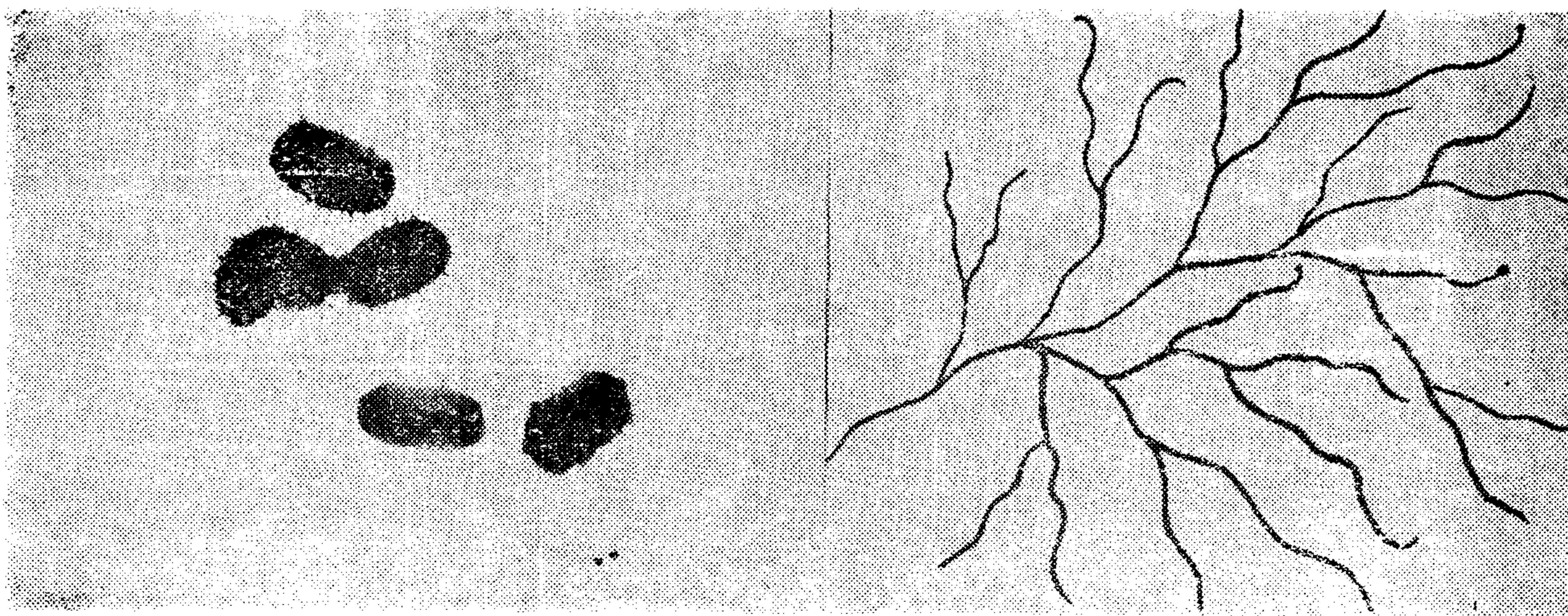
P. aeruginosa		P. vulgaris		E. coli		P. aeruginosa		S. aureus		S. typhimurium		S. typhimurium		کلیت
۱	۲	۱	۲	۱	۲	۱	۲	۱	۲	۱	۲	۱	۲	
-	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-	+	-	+	۱
+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	۲
-	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-	+	-	+	۳
+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	۴
+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	۵
-	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-	+	-	+	۶
-	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-	+	-	+	۷
+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	۸
+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	۹
-	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-	+	-	+	۱۰
-	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	+	۱۱
+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	۱۲
-	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-	+	-	+	۱۳
-	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-	+	-	+	۱۴
-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	۱۵
-	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	+	۱۶
-	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	+	۱۷
-	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-	+	-	+	۱۸
+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	۱۹
+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	۲۰
-	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	+	۲۱
-	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-	+	-	+	۲۲
-	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-	+	-	+	۲۳
+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	۲۴
+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	۲۵
+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	۲۶
-	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	-	+	۲۷
-	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-	+	-	+	۲۸
-	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	-	+	۲۹
-	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	-	+	۳۰

۱- سایر باکتری‌های آب آشامیدنی (در این جدول ذکر نشده است)
 ۲- سایر باکتری‌های آب آشامیدنی (در این جدول ذکر نشده است)
 ۳- سایر باکتری‌های آب آشامیدنی (در این جدول ذکر نشده است)
 ۴- سایر باکتری‌های آب آشامیدنی (در این جدول ذکر نشده است)
 ۵- سایر باکتری‌های آب آشامیدنی (در این جدول ذکر نشده است)

اصلی که جدا کردن آکتینومیستها بود دور میساخت. بدون تردید این مسئله شایان اهمیت و توجه است و امید است در آینده پژوهش بیشتری در این باره انجام دهیم.

در شناسائی و هویت نمونه های مورد مطالعه علاوه بر خاصیت آنتاگونیستیکی از صفات بیوشیمیائی و سرفولوژیکی نیز استفاده شده است. کسب نتایج کافی ما را قادر ساخت جنس و گونه هر یک از نمونه ها را تعیین و نامگذاری نمائیم. در این شناسائی آزمایشگاه میکروبیولوژی دانشگاه Giessen آلمان به سرپرستی E- Küster ما را یاری داده است. با استفاده از صفات بیوشیمیائی (جدول ۶) رنگ زائی و ویژه گیهای میسلیم هوائی، آرایش سطح سپور و کلید شناسائی آکتینومیستها توانستیم ۳ نمونه مورد مطالعه را گروه بندی نموده و سپس با توجه به ویژه گیهای بیشتر و فراتر جنس و گونه ها را نامگذاری نمائیم (جدول ۷).

در این مطالعه علاوه بر ۳ نمونه بررسی شده یک نمونه جدید کشف شده است که با تأیید آزمایشگاه نامبرده بعلت دارا بودن صفات شکلی متمایز میتوان آنرا گونه جدیدی نامگذاری کرد.



شکل ۲- میسلیم رویشی و آرایش سطح سپور در نمونه جدید

این نمونه از هر لحاظ باید مورد مطالعه قرار گیرد و صفات آن شناخته شود. بدون تردید بررسی کلیه نمونه های جدا شده در یکسال گذشته میسر نبوده و احتمال زیاد می رود که در بین بقیه نمونه هائیز به انواع جدیدی برخورد نمائیم. آزمایشگاه میکروبیولوژی گروه زیست شناسی پژوهش خود را در این زمینه ادامه میدهد و نتایج آن بزودی بصورت مقاله دیگری ارائه خواهد شد.

جدول (۶) خواص بیوشیمیائی اکتینومیسیت هسا

فعالیت بیوشیمیائی					اکتینومیسیت
لیتوس میلک	هیدرولیز سکر آکسین	هیدرولیز سلولز	هیدرولیز ژلاتین	هیدرولیز نشاسته	
-	-	-	+	-	۱
-	+	+	+	+	۲
-	-	-	-	+	۳
+	-	+	+	+	۴
+	-	+	+	+	۵
-	+	-	+	+	۶
+	+	+	+	+	۷
-	-	-	+	+	۸
-	+	-	+	+	۹
+	-	-	-	+	۱۰
-	-	+	+	+	۱۱
+	-	-	+	+	۱۲
+	-	-	+	+	۱۳
-	-	-	-	+	۱۴
-	+	-	+	+	۱۵
-	-	-	-	+	۱۶
-	+	-	+	+	۱۷
-	-	-	+	+	۱۸
-	-	+	+	+	۱۹
-	-	-	-	+	۲۰
-	-	+	+	+	۲۱
-	-	-	-	+	۲۲
+	-	+	+	+	۲۳
+	-	+	+	+	۲۴
+	-	+	+	+	۲۵
-	-	+	+	+	۲۶
+	-	-	-	+	۲۷
+	-	-	+	+	۲۸
-	-	-	+	+	۲۹
-	+	-	-	+	۳۰

REFERENCES

1. AARONSON, SHELDON, 1970. Experimental Microbial Ecology
2. AVERY, R.J., BLANK, F., 1954; Chemical Composition of the Actinomycetes and its relation to their systematic positions.
Can.j. Microbial Vol., 140-143
3. BECKER, B. et al. 1964. Rapid Differentiation between Nocardia and Streptomyces by paper chromatography of whole cell hydrolysate.
Jour.Appl.Microbial. 12:421-423
4. COLLINS, R.P. and H.D.GAINES 1964. Production of H₂S by streptomyces odorifer. Jour. Applied Microbial 12:335-336
5. COUCH, J.N. 1950. Actinoplanes, a new Genus of the Actinomycetales. Scie.Soc. Vol.66 87-92
6. CROSS, T., LECHEVALIER, M.P. and LECHEVALIER, H. 1963
A new Genus of Actinomycetales: Microellobosporia j. Gen. Micro Vol.31, 421-429
7. DONOVICK, R., BAJAN, A.P., CANALES, P. and PANSY, F. 1948
The influence of certain substances. The activity of streptomycin. J. Bacteriol. Vol. 56 125-137
8. FROBISHER, MARTIN, SCD. 1968. Fundamental of Microbiology. 8th edition. W.B. Saunders.
9. GOTTLIEB, D., CIFFERRI, O. 1950. Deamination and degradation of aminoacids by streptocymetes. Mycologie Vol. 48, 253-263
10. GORDON, M.A. and E.W.LARP 1966. Durhamycin, a penteaene antifungal antibiotic from streptomyces - durhamensis sp.n. Appl. Microbiol. 14: 754-760

11. GOCHINUER, M.B., LEPPARD, G. and KOMARATAT, P. 1975. Isolation and characterization of actinopolyspora halophila. Can.j. Micro. Vol.21, No.10
12. HSU, S.C. and J.L. LOCKWOOD, 1975. Powdered chitin agar as selective medium for enumeration of actinomycetes in water and soil. Appl. Microbiol. 29: 422-426
13. KATZ, E., PIENTA, P., SIVAK, A. 1958. The role of nutrition in the synthesis of actinomycin
14. LINDENFELSER, A. ODETTE, L., et al. 1964. Antibiotics against plant disease. Appl. Microbiol. 12: 508-512
15. PRESCOTT and DUNN, 1959. Industrial Microbiology. Third Edition. McGROW Hill
16. SYKES, G., SKINNER, F.A. 1973. Characteristics and practical importance of actinomycetales
17. WAKSMAN, S.A., 1959. Historical background of the actinomycetes. Vol.1