Medical Science Journal of Islamic Azad University Vol. 36, No. 2, Summer 2026 ORIGINAL ARTICLE

# Antimicrobial evaluation of ethyl acetate and methanolic extracts of rare actinomycetes from olive orchard soils of Rudbar County

***Elham Amiri[1], Mirsasan Mirpour[2], Khosro Essazadeh[2], Behnam Rasti[3]***
*[1] PhD Candidate in Microbiology, Department of Microbiology, Faculty of Basic Sciences, Lahijan Branch, Islamic Azad University, Lahijan, Iran*
*[2] Department of Microbiology, La. C., Islamic Azad University (IAU), Lahijan, Guilan, Iran*
*[3] Department of Microbiology, La. C., Islamic Azad University (IAU), Lahijan, Guilan, Iran*

[ Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-11-09 ]

[ DOR: 20.1001.1.10235922.1405.36.2.4.9 ]
[ DOI: 10.66224/iau.36.2.177 ]

## Abstract

**Background**: Actinomycetes are among the groups of microorganisms that are widely distributed in nature. The increase in antibiotic resistance has outpaced the discovery of new antibiotics. This study aimed to evaluate the antimicrobial activity of ethyl acetate and methanol extracts of lesser-known actinomycetes from olive orchard soils in Rudbar County, located in the Alborz Mountains.
**Materials and methods**: The antimicrobial activity of two strains EA7 and EA6 identified based on Bergey's reference book was investigated against the studied microorganisms (*Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*) by crossover and well-plate methods in the primary screening. The antimicrobial activity of the fermentation medium, ethyl acetate and methanol extracts of the strains was investigated using sterile paper discs and well-plate methods, respectively. The diameter of the halo was reported in millimeters (mm).
**Results**: Strain EA7 showed greater antimicrobial activity than strain EA6 against the studied microorganisms (*Staphylococcus aureus*) in primary and secondary screening. Also, the antimicrobial activity of the extracts was greater against gram-positive bacteria than gram-negative bacteria. In comparison, ethyl acetate extract showed greater antimicrobial activity than methanol extract.
**Conclusion**: The difference in the antimicrobial results of the extracts is related to the difference in the cell wall structure of the two groups of bacteria studied (*Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*). The results of the study showed that strain EA7, due to its greater antimicrobial effect, can be a potential source for obtaining new bioactive compounds and antibiotics.
**Keywords**: *Antimicrobial, Ethyl acetate extract, Methanol extract, Actinomycetes, Streptomyces, Amycolatopsis.*

**Cited as:** Amiri E, Mirpour M, Essazadeh K, Rasti B. Antimicrobial evaluation of ethyl acetate and methanolic extracts of rare actinomycetes from olive orchard soils of Rudbar County. Medical Science Journal of Islamic Azad University, Tehran Medical Branch 2026; 36(2): **177-188.**

**Correspondence to:** Mirsasan Mirpour
***Tel:*** *+98 9121964387*
***E-mail:*** mirsasan.mirpour@iau.ac.ir
**ORCID ID:** 0000-0001-7641-426x
**Received:** 11 Oct 2025; **Accepted:** 29 Nov 2025

مجله علوم پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی
دوره ۳۶، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۵، صفحات ۱۷۷ تا ۱۸۸

Original Article

# ارزیابی ضد میکروبی عصاره‌های اتیل استات و متانولی اکتینومایست‌های نادر از خاک‌های باغات زیتون شهرستان رودبار

**الهام امیری[۱]، میرساسان میرپور[۲]، خسرو عیسی زاده[۲]، بهنام راستی[۳]**

[۱] دانشجوی دکتری میکروبیولوژی، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، واحد لاهیجان، دانشگاه آزاد اسلامی، لاهیجان، ایران
[۲] دانشیار، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، واحد لاهیجان، دانشگاه آزاد اسلامی، لاهیجان، ایران
[۳] دانشیار، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، واحد لاهیجان، دانشگاه آزاد اسلامی، لاهیجان، ایران

## چکیده

**سابقه و هدف:** *اکتینومایست‌ها از جمله میکروارگانیسم‌هایی هستند که به طور گسترده در طبیعت پراکنده شده‌اند. افزایش مقاومت آنتی بیوتیکی از کشف آنتی بیوتیک های جدید پیشی گرفته است. این تحقیق با هدف ارزیابی ضد میکروبی عصاره های اتیل استات و متانولی اکتینومایست های کمتر شناخته شده از خاکهای باغات زیتون شهرستان رودبار واقع در کوههای البرز انجام شد.*

**روش بررسی:** *بررسی فعالیت ضدمیکروبی ۲سویه EA7 و EA6شناسایی شده بر اساس کتاب مرجع برجی در برابر میکروارگانیسم های مورد مطالعه(استافیلوکوکوس اورئوس و سودوموناس آئروژینوزا) در غربالگری اولیه با روش متقاطع و چاهک گذاری بود. بررسی ضد میکروبی محیط تخمیر، عصارهای اتیل استات و متانولی سویه ها به ترتیب با استفاده از دیسک‌های کاغذی استریل و روش چاهک گذاری انجام شد. قطر هاله بر اساس میلی متر گزارش شد.*

**یافته‌ها:** *سویه EA7، فعالیت ضد میکروبی بیشتری علیه میکروارگانیسم های مورد مطالعه (استافیلوکوکوس اورئوس) درغربالگری اولیه و ثانویه نسبت به سویه EA6 نشان داد. همچنین فعالیت ضد میکروبی عصاره‌ها در برابر باکتری‌های گرم مثبت نسبت به گرم منفی بیشتر بود. در مقایسه عصاره اتیل استات فعالیت ضد میکروبی بیشتری را از عصاره متانولی نشان داد.*

**نتیجه‌گیری:** *تفاوت در نتایج ضد میکروبی عصاره‌ها، به تفاوت در ساختار دیواره سلولی دو گروه از باکتری‌های مورد مطالعه (استافیلوکوکوس اورئوس و سودوموناس آئروژینوزا) مربوط می‌شود. نتایج تحقیق نشان داد که سویه EA7 با توجه به اثر ضد میکروبی بیشتر می تواند به عنوان یک منبع بالقوه در زمینه دستیابی به ترکیبات زیست فعال و آنتی بیوتیک های جدید باشد.*

***واژگان کلیدی:*** *ضدمیکروبی، عصاره اتیل استات، عصاره متانول، اکتینومایست، استرپتومایسس، آمیکولاتوپسیس.*

## مقدمه

اکتینومایست‌ها از جمله وسیع‌ترین گروه‌های میکروارگانیسمی پخش شده در طبیعت هستند. آنها غیر متحرک وگرم مثبت هستند. از لحاظ موفولوژیکی و فیزیولوژیکی از تنوع بالایی برخوردارند (۱). جمعیت آنها در یک اکوسیستم توسط عوامل فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی متعددی تعیین می‌شود. اکتینومایست‌ها ، متعلق به راسته اکتینومیستال‌ها هستند. علاوه بر این، اکتینومایست‌ها از نظر فیلوژنتیکی به عنوان گونه‌هایی با محتوای بالای G + C تعریف می‌شوند، که در فرآیندهای مهم در طیف وسیعی از زیستگاه‌ها نقش دارند (۲). این باکتریها مسئول ماده ای به نام ژئوسمین هستند که بوی خاصی را به خاک می دهند (۲،۳). جمعیت اکتینومایست‌ها به عنوان یکی از گروه‌های اصلی جمعیت خاک شناسایی شده است. به طرز چشمگیری، آنها تولیدکنندگان شاخص

**آدرس نویسنده مسئول:** لاهیجان، دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان، گروه میکروبیولوژی ، میرساسان میرپور (**email**: mirsasan.mirpour@iau.ac.ir)
**ORCID ID:** 0000-0001-7641-426x
**تاریخ دریافت مقاله:** ۱۴۰۴/۷/۱۹
**تاریخ پذیرش مقاله:** ۱۴۰۴/۹/۸

[ Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-11-09 ]
[ DOR: 20.1001.1.10235922.1405.36.2.4.9 ]
[ DOI: 10.66224/iau.36.2.177 ]

آنتی‌بیوتیک‌ها و تأمین‌کنندگان اصلی مهم برای صنعت داروسازی هستند. به دلیل توانایی در تولید طیف گسترده‌ای از متابولیت‌های ثانویه، ارزش تجاری بالایی دارند (۴،۳).
پیشنهاد شده است که از غربالگری جدایه‌های خاک، اکثر آنتی‌بیوتیک‌های جدید شناسایی می شوند. به دلیل ظهور میکروب‌های مقاوم به چند دارو، مقاومت در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها به یک نگرانی اساسی در درمان بیماری‌های انسانی تبدیل شده است. بروز عفونت با ایزوله های مقاوم به چند دارو، به دلیل کم بودن عوامل درمانی جدید برای کنترل پاتوژن های تهدید کننده زندگی افزایش یافته است (۶،۵). اکتشاف داروهای جدید برای غلبه بر مقاومت آنتی بیوتیکی در پاتوژن های بیماریزا بسیار مهم است. با این حال، با ظهور باکتری‌های مقاوم به چند دارو، محققان به اکتینومایست‌های نادر روی آورده‌اند تا آنتی‌بیوتیک‌های جدیدی تولید کنند (۷). لشوالیه و همکاران در سال ۱۹۸۶، آمیکولاتوپسیس را به عنوان یک جنس جدید برای اکتینومایست‌های نوکاردیوفرم دارای ترکیب دیواره سلولی نوع IV و فاقد اسیدهای مایکولیک تعریف کردند (۲). آمیکولاتوپسیس، عضوی از خانواده زئودونوکاردیاسه، از اکتینومایست‌های نادر و کمیاب است که با عدم وجود اسید مایکولیک و وجود مزودی اسید آمینوپیملیک، قندآرابینوز و گالاکتوز در دیواره سلولی مشخص می‌شوند. از این جنس ۹۴ گونه و ۴ زیرگونه تأیید شده است(۲،۱). شاخه‌ای منحصر به فرد در درخت تکاملی زئودونوکاردیاسه را تشکیل می‌دهد (۸).
جستجوی مناطق اکولوژیکی ویژه همراه با روش‌های جدید جداسازی گونه‌های جدید اکتینوباکتری‌ها، ممکن است منجر به شناسایی محصولات جدید شود. بنابراین مطالعات بیشتری برای یافتن آنتی‌بیوتیک‌های جدید و مؤثرتر که به کنترل این مشکل کمک می‌کنند، مورد نیاز است (۸-۱۰). محصولات طبیعی مشتق‌شده از میکروارگانیسم‌ها در برابر بیماری‌ها مؤثر هستند. بنابراین شناسایی سیستم‌های اکولوژیکی جدید برای کشف اکتینومایسیت های جدید بسیار مهم است. (۱۲،۱۱). مطالعات قبلی نشان داده است که تاکنون هیچ مطالعه‌ای در مورد اکتینوباکتری‌های نادر جدا شده از خاک های ایران به خصوص از مناطق کمتر شناخته شده، انجام نشده است. بنابراین مطالعه حاضر با هدف ارزیابی ضد میکروبی عصاره های اتیل استات و متانولی جدا شده از سویه های کمتر شناخته شده از خاکهای باغات زیتون شهرستان رودبار واقع در کوههای البرز انجام شد.

## مواد و روشها

### جمع‌آوری نمونه‌های خاک

نمونه‌های خاک از باغهای زیتون واقع در کوه‌های البرز شهرستان رودبار (جنوب غربی استان گیلان) ، با مختصات جغرافیایی °۴۹،۵۲۹۲ شرقی و °۳۶،۸۷۶۷ شمالی، از ۳ نقطه در شهریور ماه ۱۴۰۴ جمع‌آوری شدند. پس از کنار زدن لایه‌های بالایی خاک و برداشتن گیاهان و بوته های روی خاک، نمونه‌های خاک با استفاده از قاشق استریل( عمق برداشت ۱۰-۱۵سانتی متری) برداشت شد. نمونه‌های خاک در ظرف‌های پلاستیکی استریل حمل و بلافاصله به آزمایشگاه منتقل شدند. این نمونه‌ها در دمای اتاق تا هنگام انجام آزمایشات نگهداری شدند (۷).

### اندازه‌گیری pH نمونه‌های خاک

نمونه‌های خاک به مدت یک هفته در دمای ۲۸ درجه سانتی-گراد در انکوباتور قرار گرفته و خشک شدند (۷). میزان pH نمونه-های خاک با استفاده از دستگاه pH متر اندازه گیری شد. برای اندازه‌گیری pH ، نمونه ها ۱:۳ با آب رقیق شدند (۵, ۷).

### غربالگری اولیه جدایه‌ها

جداسازی سویه‌ها از نمونه‌های خاک طبق پروتکل از قبل تعریف شده انجام گرفت (۱۲). برای جداسازی از رقیق سازی متوالی استفاده شد. از محیط کشت SCA (Starch Casein Agar) و ISP2 (International Streptomyces Project-2 Medium) آگار که حاوی آنتی بیوتیک‌های تتراسایکلین (۱۵۰میکروگرم بر میلی لیتر) و نیستاتین (۱۰۰میکروگرم بر میلی لیتر) بود، استفاده شد. کشت به صورت خطی انجام گرفت (۷, ۸). انکوباسیون به مدت ۷ روز در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد انجام گرفت. سپس کلنی-های مشکوک به اکتینومایست‌ها روی محیط ISP2 آگار که حاوی آنتی بیوتیک‌های تتراسایکلین و نیستاتین بود، در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷ روز خالص‌سازی شدند (۳).

### شناسایی جدایه‌های اکتینومایست

شناسایی جدایه‌های اکتینومایست با استفاده از تست‌های بیوشیمیایی و تخمیر قندها طبق پژوهش قبلی انجام شد (۱۳). استفاده از منابع کربنی و آزمایش‌های بیوشیمیایی انجام شده برای جدایه های اکتینومایست در جدول ۱ آورده شده است.
استفاده از منابع کربنی برای جدایه های اکتینومایست با ۱درصد منابع کربنی (با استفاده از فیلتر غشایی با اندازه منافذ ۰/۲۲ میلی‌متر فیلتر شده) در محیط فنل رد براث بود. سپس محیط کشت به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۲۸ درجه سانتیگراد انکوبه شد. رشد اکتینومیست‌ها بسته به استفاده از منابع کربن مشخص شد. نتایج به دست آمده با ویژگی های باکتریهای اکتینومایست

[ Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-11-09 ]
[ DOR: 20.1001.1.10235922.1405.36.2.4.9 ]
[ DOI: 10.66224/iau.36.2.177 ]

درکتاب برجی ( Bergey's Manual of Systematic Bacteriology) تطبیق داده شد (۱۳-۱۵).

**جدول ۱.** تست‌های شناسایی انجام شده برای جدایه‌های اکتینومایست جدا شده از خاک (۱۵-۱۳)

| آزمایش‌های بیوشیمیایی | ویژگیهای مورفولوژیکی | تخمیر قند |
|---|---|---|
| کاتالاز | رنگ‌آمیزی گرم | گلوکز |
| اکسیداز | رنگ‌آمیزی اسید فاست | گالاکتوز |
| هیدرولیز نشاسته | میسلیوم رویشی | مالتوز |
| هیدرولیز اوره | دیواره اسپور | لاکتوز |
| سیمون سیترات آگار | رنگ کلنی | فروکتوز |
| احیای نیترات | رشد در شرایط مختلف | ساکارز |
| هیدرولیز ژلاتین | تحمل شوری(۷-۰) | رافینوز |
| هیدرولیز کازئین | دما(۴۵-۲۸) | مانیتول |
| حرکت | pH های مختلف (۱۰-۴) | زایلوز |
| سولفید | | آرابینوز |
| ایندول | | |

## بررسی فاکتورهای مختلف رشد سویه‌ها (دما، PH و غلظت‌های مختلف نمک)

همچنین توانایی رشد سویه‌ها در فاکتورهای مختلف رشد مانند دماهای مختلف (۲۷- ۳۷درجه سانتی‌گراد)، میزان pH (۴-۱۰) و رشد در غلظت‌های مختلف کلرید سدیم (۰ -۱۰ درصد) نیز طبق پژوهش قبلی بررسی شد (۱۳). جدایه‌های اکتینومایست روی پلیت‌های حاوی محیط کشت نشاسته کازئین آگار به صورت خطی کشت داده شدند. سپس پلیت‌ها در دماهای مختلف ۲۸، ۳۰، ۳۵، ۳۷، ۴۰ و ۴۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷ روز انکوبه شدند. پس از انکوباسیون، رشد مثبت و منفی پلیت‌ها مشخص شد. با استفاده از سود نیم مولار، pH محیط کشت نشاسته کازئین آگار بر روی ۴، ۵، ۶، ۷، ۸ ، ۹ و ۱۰ تنظیم شد. از جدایه های اکتینومایست روی محیط کشت که با pH تنظیم شده بود، کشت داده شد. سپس به مدت ۷ روز در دمای ۲۸ درجه سانتی-گراد انکوبه شدند. پس از انکوباسیون، نتایج گزارش شد. غلظت‌های مختلف (۱-۱۰درصد) نمک طعام به محیط کشت نشاسته کازئین آگار اضافه شد. جدایه های اکتینومایست به محیط کشت تلقیح شدند و به مدت ۷ روز در دمای ۲۸ درجه سانتیگراد انکوبه شدند. پس از انکوباسیون، رشد مثبت و منفی محیط کشت مشاهده شد (۱۴- ۱۶).

## باکتری‌های مورد مطالعه

سویه‌های بیماری‌زای استافیلوکوکوس اورئوس و سودوموناس آئروژینوزا از بخش‌های مختلف بیمارستان‌های شهر رشت جمع‌آوری و سویه های استاندارد *استافیلوکوکوس اورئوس* و *سودوموناس آئروژینوزا*(*P.aeruginosa* PTCC 1565 و *S.aureus* PTCC1112 ) نیز از مراکز زیستی ایران تهیه شدند. این جدایه‌ها از نمونه های بالینی مختلف شامل زخم، ترشحات تنفسی و خون بودند. شناسایی سویه‌های بیماری‌زا طبق پروتکل ارائه شده توسط فهمی و همکارانش (۲۰۱۹) انجام گرفت (۱۲). تست‌های شناسایی طبق دستورالعمل کیت سازنده، براساس API staph (Analytical Profile Index) برای استافیلوکوکوس اورئوس و AP20 NE (Non- Analytical Profile20 Enterobacteriaceae) برای سودوموناس آئروژینوزا انجام شد. سپس به ترتیب از محیط کشت مانیتول سالت آگار و ستریماید آگار برای کشت آنها استفاده شد. تست‌های شناسایی باکتری‌های پاتوژن مورد مطالعه طبق پژوهش قبلی (۱۳) تایید شدند.

## ارزیابی آنتی بیوگرام برای نمونه‌های بالینی و استاندارد

از روش دیسک دیفیوژن برای تعیین حساسیت آنتی بیوتیکی استفاده شد. آنتی بیوتیک‌های ایمی پنم، سیپروفلوکساسین، پیپراسیلین و سفتازیدیم طبق جدول استاندارد (۲۰۲۲) CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) انتخاب شدند (۱۴). برای این منظور ابتدا از باکتری‌ها کشت تازه تهیه شد. سپس از این کشت تازه، سوسپانسیون میکروبی با کدورت نیم مک فارلند تهیه شد. کشت‌های باکتریایی با کدورت نیم مک فارلند روی صفحات مولرهینتون آگار با سواب استریل کشت داده شدند. دیسک های آنتی بیوتیک با استفاده از پنس استریل بر روی پلیت های تلقیح شده قرار گرفتند. پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد نتیجه گزارش شد. قطر هاله در اطراف دیسک نشان دهنده حساسیت به آنتی بیوتیک‌ها و بالعکس بود. بر حسب میلی متر اندازه گیری شد. نتایج آنتی بیوگرام برای نمونه‌های بالینی و استاندارد طبق جدول استاندارد CLSI (۲۰۲۲) تفسیر شدند (۱۴, ۱۶, ۱۷).

## ارزیابی فعالیت ضد میکروبی جدایه‌های اکتینومایست درغربالگری اولیه

اثر ضد میکروبی سویه‌های جدا شده بر روی نمونه‌های بالینی *استافیلوکوکوس اورئوس* و *سودوموناس آئروژینوزا* به ۲ روش چاهک گذاری و کشت متقاطع بر روی محیط ISP2 آگار انجام شد (۱۸،۱۴)

## ارزیابی فعالیت ضد میکروبی به روش کشت متقاطع

در روش کشت متقاطع جدایه‌های اکتینومایست به صورت عمودی در مرکز پلیت حاوی محیط ISP2 کشت داده شدند. سپس به مدت ۷ روز در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد انکوبه

[ Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-11-09 ]
[ DOR: 20.1001.1.10235922.1405.36.2.4.9 ]
[ DOI: 10.66224/iau.36.2.177 ]

شدند. پس از زمان مورد نظر، باکتری‌های مورد مطالعه (کدورت نیم مک فارلند) در موقعیت معکوس عمود بر کشت جدایه‌های اکتینومایست بر روی محیط ISP2 کشت داده شدند. به مدت ۴۸ ساعت در انکوباتور در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند و سپس نتیجه بررسی شد (۱۴).

**ارزیابی فعالیت ضد میکروبی به روش چاهک گذاری**

در روش چاهک گذاری از کلنی باکتری‌های اکتینومیست رشد یافته در محیط ISP2 آگار و از باکتری های مورد مطالعه (بالینی و استاندارد) سوسپانسیون میکروبی معادل نیم مک فارلند در محیط کشت لوریا براث تهیه شد. از سوسپانسیون باکتری‌ها بر روی محیط مولر هینتون آگار با سوآب استریل کشت متراکم داده شد. سپس چاهک‌هایی بر روی محیط کشت مولر هینتون آگار ایجاد شد. ۵۰ میکرولیتر از سوسپانسیون میکروبی جدایه-های اکتینومایست‌ها داخل چاهک ها قرار داده شد. انکوباسیون به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انجام گرفت (۱۴, ۱۸). بر اساس وجود و عدم وجود منطقه بازدارندگی، اکتینومایست با اثر ضد میکروبی بیشتر برای مطالعات بعدی انتخاب شد (۱۵,۱۴).

**شناسایی مولکولی**

برای تایید شناسایی اولیه ایزوله‌های به دست آمده با روش بیوشیمیایی و رنگ آمیزی گرم، از روش مولکولی (PCR: Polymerase chain reaction) طبق پژوهش قبلی (۱۳) استفاده شد. شناسایی مولکولی با استفاده از روش ستونی و تعیین توالی ژن 16SrRNA بود (۷). همچنین برای تکثیر ژن از پرایمرهای عمومی اکتینوباکتری‌ها 27F (Forwad) و 1492R (Reverse) استفاده شد (۶). سویه‌ها در پژوهش قبلی انجام شده (۱۳) در ژن بانک به صورت *Amycolatopsis roodepoortensis* strain EA7 و *Streptomyces microflavus* strain EA6 ثبت شده بودند.

**فرایند تخمیر**

برای فرایند تخمیر از روش تخمیر غوطه ور طبق پروتکل از قبل تعریف شده استفاده شد (۱۵, ۱۷). کلنی‌های خالص اکتینومایست رشد یافته در محیط ISP2 agar به مدت یک هفته در دمای ۲۸ درجه سانتیگراد، درمحیط ISP2 Broth کشت داده شدند. سپس کدورت نیم مک فارلند از آن تهیه کرده تا به غلظت نهایی$CFU/mL$ $۱/۵\times۱۰^{۸}$ برسد. سپس ۱ میلی لیتر (۱۰۰۰میکرولیتر) سوسپانسیون میکروبی تهیه شده، به محیط کشت ISP2 Broth (به حجم ۱۰۰ میلی لیتر) تلقیح شد. محیط کشت شامل۱۰ گرم عصاره مالت ، ۴ گرم عصاره مخمر، ۴ گرم گلوکز ، ۱۰۰۰ میلی لیتر آب مقطر بود. pH محیط کشت با استفاده از سود نیم مولار روی ۷ تنظیم شد. سپس در شیکر انکوباتور در دمای ۲۸ درجه سانتیگراد در تاریکی‌به مدت یک هفته با دور (۵۰ rpm) برابر با RCF ≈۰/۶۳g ( Relative Centrifugal Force) انکوبه شدند (۱۷,۱۵).

**ارزیابی فعالیت ضد میکروبی محیط تخمیر**

ارزیابی فعالیت ضد باکتریایی محیط تخمیر، با استفاده از دیسک-های کاغذی استریل انجام شد. از روز پنجم تا روز هفتم فعالیت ضد میکروبی محیط تخمیر ارزیابی شد. به این منظور از باکتری-های بالینی و استاندارد سوسپانسیون میکروبی معادل نیم مک فارلند تهیه شد. سوسپانسیون میکروبی معادل نیم مک فارلند با استفاده از سواب استریل روی محیط مولر هینتون آگار کشت داده شد. ۳۰ میکرولیتر از مایع تخمیری روی دیسک‌های کاغذی استریل داخل پلیت استریل ریخته شد. دیسک‌ها بعد از خشک شدن با استفاده از پنس استریل روی محیط مولر هینتون آگار که حاوی سوسپانسیون میکروبی باکتریهای بالینی و استاندارد بود قرار داده شدند. بعد از ۲۴ ساعت انکوباسیون در دمای۳۷ درجه سانتی‌گراد قطر هاله اندازه گرفته شد (۱۹, ۲۱).

**استخراج عصاره با اتیل استات و متانول**

کل حجم محیط کشت تخمیری با دور ۴۰۰۰rpm (≈۴۴۷g RCF) به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتیگراد سانتریفیوژ شد. مایع رویی جداسازی شد (۲۱). سپس مایع رویی به دست آمده به نسبت حجمی برابر ۱:۱ با حلال آلی اتیل استات و متانول جداگانه روی همزن مغناطیسی مخلوط شد. به مدت ۲ ساعت روی همزن مغناطیسی با دور ۱۴۰rpm (≈۰/۵۵ g RCF) در دمای اتاق همزده شد. با استفاده از قیف دکانتور فاز آبی و آلی عصاره اتیل استات از یکدیگر جدا شد. عصاره تهیه شده با حلال آلی اتیل استات و متانول برای ارزیابی فعالیت ضدمیکروبی عصاره‌ها استفاده شدند (۱۹-۲۱).

**ارزیابی فعالیت ضدمیکروبی عصاره‌های اتیل استات و متانولی**

ارزیابی فعالیت ضد میکروبی عصاره‌های اتیل استات و متانولی به روش چاهک گذاری انجام گردید. سوسپانسیون باکتری‌های مورد مطالعه در محیط لوریا براث تهیه شد. از هر سویه پاتوژن غلظت استاندارد نیم مک فارلند تهیه شد. با کمک سوآب استریل از سوسپانسیون میکروبی روی محیط کشت مولر هینتون آگار کشت داده شد. سپس چاهک هایی بر روی محیط کشت مولر هینتون آگار ایجاد گردید. ۵۰ میکرولیتر از عصاره ها (حل شده در دی متیل سولفوکساید) داخل چاهک‌ها قرار داده شدند. انکوباسیون به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد

[ Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-11-09 ]
[ DOR: 20.1001.1.10235922.1405.36.2.4.9 ]
[ DOI: 10.66224/iau.36.2.177 ]

انجام شد. فعالیت ضد باکتریایی عصاره خام پس از تکمیل فرآیند انکوباسیون با اندازه گیری ناحیه مهاری (mm) تشکیل شده در اطراف هر چاهک مورد ارزیابی قرار گرفت. غلظت اولیه عصاره‌ها ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بود (۲۲,۱۹).

## یافته‌ها

### اندازه گیری pH نمونه‌های خاک

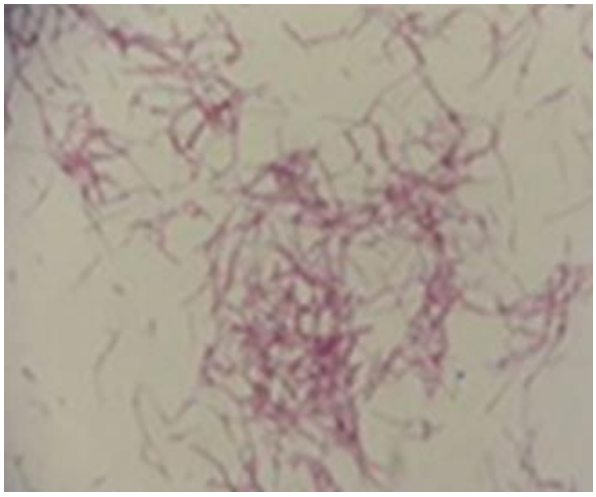
میزان pH نمونه‌های خاک با استفاده از دستگاه pH متر اندازه گیری شد. pH نمونه‌های خاک بین ۷/۳۳ تا ۸/۴۴ بود.

### جداسازی جدایه‌های اکتینومایست از نمونه‌های خاک

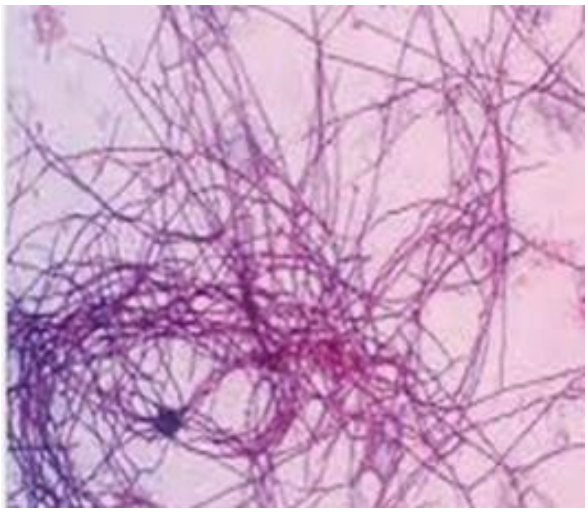
طی تحقیقات ما بر روی اکتینومایست‌ها از باغات زیتون شهرستان رودبار ۲ جدایه به نام های EA6 وEA7 با مورفولوژی اکتینومایست‌ها در مرحله غربالگری اولیه فعالیت ضد میکروبی بیشتری نشان دادند. بنابراین برای توصیف بیشتر و ارزیابی ضد میکروبی در مراحل بعدی تحقیق انتخاب شدند. سویه EA7 از اکتینومایست‌های نادر و کمتر شناخته شده است.

### ویژگی‌های سویه‌های EA6 و EA7

شکل میکروسکوپی سویه EA7 و سویه EA6 به صورت رشته‌ای کوتاه (شکل۱) و رشته ای بلند (شکل۲) بود. وجه مشخصه سویه‌ها براساس کتاب برجی برای سویه EA7 رشته‌ای کوتاه، فاقد اسپور، فاقد میسیلیوم هوایی، دارای میسیلیوم رویشی، فاقد هیدرولیز نشاسته و قند تشخیصی آن آرابینوز بود. برای سویه EA6 وجه مشخصه آن دارای اسپور با کلنی‌های سفید گرد، حاوی میسلیوم هوایی، میسلیوم رویشی سفید، هیدرولیز نشاسته و قند تشخیصی آن زایلوز بود. ویژگی‌های سویه‌های EA6 و EA7 در جدول ۲ آورده شده است.



**شکل ۱.** تصویر میکروسکوپی رنگ آمیزی گرم سویه EA7



**شکل ۲.** تصویر میکروسکوپی رنگ آمیزی گرم سویه EA6

جدول۲. ویژگی‌های تشخیصی سویه‌های EA6 و EA7 بر اساس کتاب برجی

| ویژگی‌ها | نتایج | |
|---|---|---|
| | EA6 | EA7 |
| **آزمایش‌های بیوشیمیایی** | | |
| هیدرولیز نشاسته | + | – |
| **ویژگیهای مورفولوژیکی** | | |
| رنگ‌آمیزی گرم | + | + |
| رنگ‌آمیزی اسید فاست | – | – |
| میسلیوم رویشی | + | + |
| میسیلیوم هوایی | – | + |
| دیواره اسپور | – | + |
| رنگ کلنی | سفید | کرمی |
| **تخمیر قند** | | |
| زایلوز | + | + |
| آرابینوز | – | + |

### بررسی فاکتورهای مختلف رشد سویه ها (دما، pH و غلظت‌های مختلف نمک)

سویه ها در محدوده دمایی ۳۷ تا ۲۸ درجه سانتیگراد و محدوده pH از ۷ تا ۸ به خوبی رشد کردند. سویه های EA6 تا ۲ درصد و سویه EA7 تا ۷ درصد شوری را تحمل کردند(جدول۳).

**جدول۳.** رشد سویه ها در شرایط مختلف

| رشد در شرایط مختلف | EA6 | سویه EA7 |
|---|---|---|
| تحمل شوری (۰-۱۰درصد) | ۲درصد | ۷ درصد |
| تحمل دما(۲۸-۴۵) برحسب درجه سانتیگراد | ۲۸-۳۷ | ۲۸-۳۷ |
| تحمل رشد در pH های مختلف | ۴-۱۰ | ۴-۱۰ |
| اپتیمم pH | ۷-۸ | ۷-۸ |

[ Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-11-09 ]
[ DOR: 20.1001.1.10235922.1405.36.2.4.9 ]
[ DOI: 10.66224/iau.36.2.177 ]

**جدول۴.** ارزیابی آنتی بیوگرام برای نمونه‌های بالینی و استاندارد (قطر هاله برحسب میلی متر)

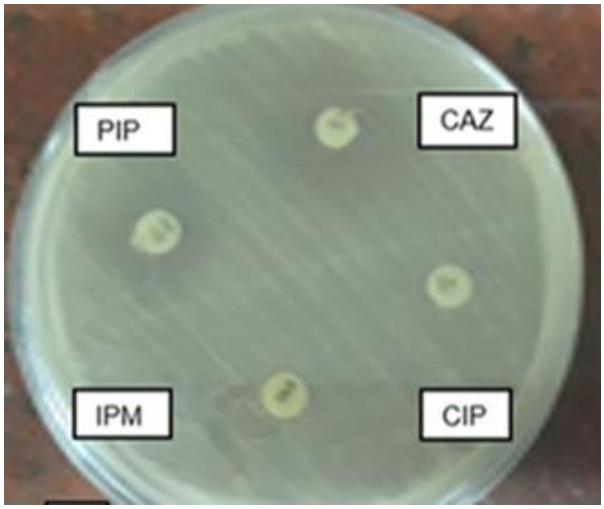
| دیسک‌های آنتی بیوتیک | استافیلوکوکوس اورئوس (بالینی) | استافیلوکوکوس اورئوس PTCC1112 | سودوموناس آئروژینوزا (بالینی) | سودوموناس آئروژینوزا PTCC1565 |
|---|---|---|---|---|
| ایمی پنم ۱۰ mg | ۰ | ۰ | ۰ | ۰ |
| سیپروفلوکساسین۵ mg | ۶ | ۶ | ۷ | ۷ |
| پیپراسیلین۱۰۰ mg | ۱۳ | ۱۳ | ۰ | ۰ |
| سفتازدیم۱۰۰ mg | ۹ | ۹ | ۰ | ۰ |

**باکتری‌های مورد مطالعه**

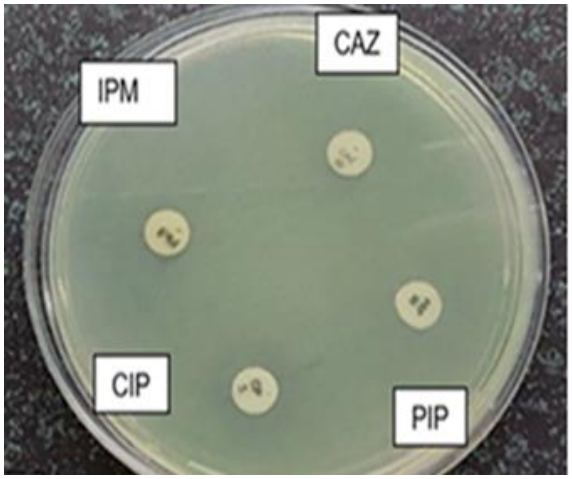
باکتری‌های مورد مطالعه طبق پژوهش قبلی (۱۹) شناسایی و تایید شدند. در مجموع ۶ باکتری بیماری زا شناسایی شدند. از این ۶ نمونه بالینی، ۴ نمونه از بیماران مرد و ۲ نمونه از بیماران زن جداسازی شده بودند. همچنین از این تعداد نمونه‌های بالینی، ۴ نمونه از زخم، ۱ نمونه ترشحات تنفسی و ۱ نمونه از خون بود. سویه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* به عنوان کوکسی-های گرم مثبت و سویه‌های *سودوموناس آئروژینوزا* به عنوان باکتری باسیلی گرم منفی بودند. مشخصه اصلی تشخیص سویه-های *استافیلوکوکوس اورئوس* از سایر گونه‌های آن کواگولاز مثبت و برای سویه‌های *سودوموناس آئروژینوزا* تولید پیوسیانین بود. در تمام مراحل با باکتری‌های استاندارد ( *P.aeruginosa* PTCC 1565 و *S.aureus* PTCC1112) مقایسه شدند.

**ارزیابی آنتی بیوگرام برای نمونه‌های بالینی و استاندارد**

تست حساسیت آنتی بیوتیک انجام شد. طبق جدول CLSI، آزمایش حساسیت آنتی بیوتیکی گزارش شد (جدول ۴). پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، باکتری-های مورد مطالعه به تمام آنتی بیوتیک‌ها مقاومت نشان دادند (شکل‌های ۳ و ۴ و جدول ۴).



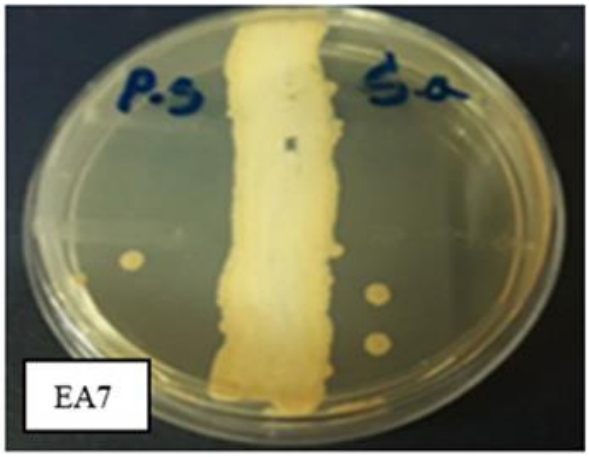

**شکل ۳.** تست حساسیت آنتی بیوتیک *استافیلوکوکوس اورئوس* بالینی



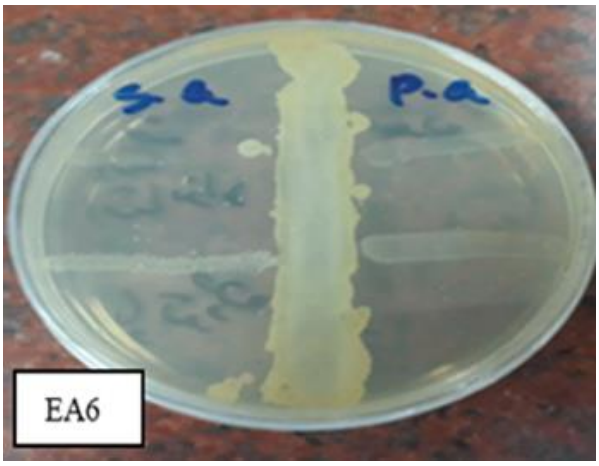

**شکل ۴.** تست حساسیت آنتی‌بیوتیک *سودوموناس آئروژینوزا* بالینی(ایمی‌پنم: IPM، سیپروفلوکساسین: CIP، سفتازیدیم: CAZ، پیپراسیلین: PIP)

**ارزیابی فعالیت ضد میکروبی سویه های EA6 و EA7**

با توجه به فعالیت ضد میکروبی متمایز، سویه EA7 فعالیت ضد میکروبی بیشتری نسبت به سویه EA6 نشان داد. در نتیجه برای بررسی بیشتر فعالیت ضد میکروبی سویه‌های EA7 و EA6 در مراحل بعدی تحقیق فعالیت ضد میکروبی آن ها ارزیابی می‌شود (شکل۵).



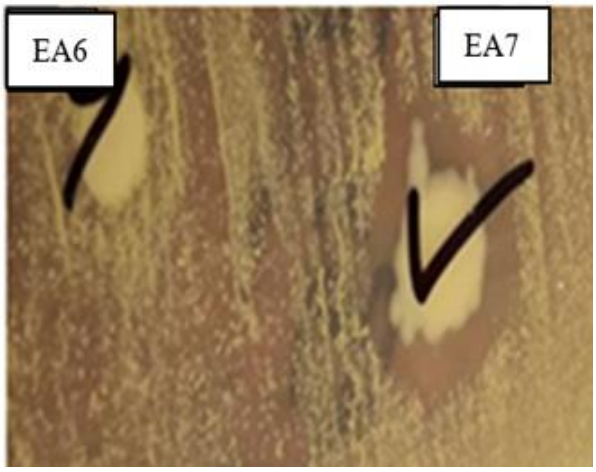

[ Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-11-09 ]
[ DOR: 20.1001.1.10235922.1405.36.2.4.9 ]
[ DOI: 10.66224/iau.36.2.177 ]




**شکل ۵.** ارزیابی ضدمیکروبی سویه EA7 و EA6 (غربالگری اولیه)

### ارزیابی فعالیت ضد میکروبی محیط تخمیر

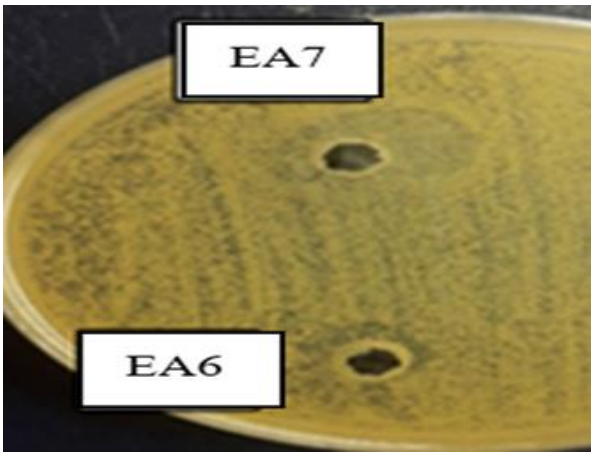
فعالیت ضد میکروبی حاصل از تخمیر در برابر باکتری‌های گرم مثبت (*استافیلوکوکوس اورئوس*) بیشتر از باکتری‌های گرم منفی (*سودوموناس آئروژینوزا*) برای سویه EA7 بود. برای سویه EA7 قطر هاله در برابر باکتری‌های گرم مثبت ( *استافیلوکوکوس اورئوس*) ۲۳ میلی متر و برای باکتری های گرم منفی (*سودوموناس آئروژینوزا*) ۱۱ میلی متر مشاهده شد. در حالی که قطر هاله سویه EA6 برای باکتری‌های گرم مثبت ۱۱ میلی متر بود. برای باکتری‌های گرم منفی هاله‌ای مشاهده نشد (شکل۶).




**شکل ۶.** اثر ضد میکروبی محیط تخمیر سویه‌های EA6 و EA7 در برابر نمونه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* (غربالگری ثانویه)

### ارزیابی فعالیت ضدمیکروبی عصاره‌های اتیل استات و متانولی

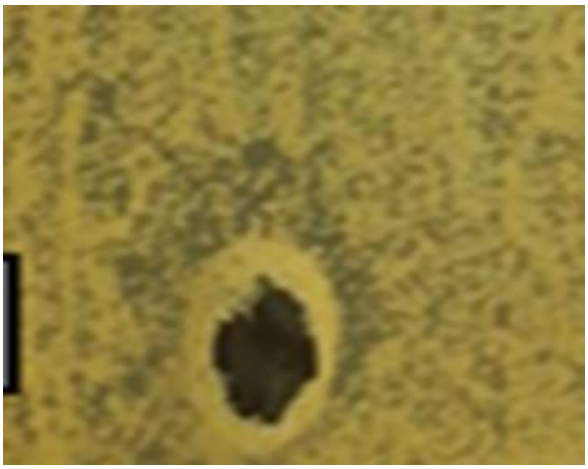
از روش انتشار چاه آگار برای ارزیابی فعالیت ضد میکروبی عصاره های اتیل استات و متانولی استفاده شد. بیشترین اثر ضد میکروبی برای عصاره اتیل استات سویه EA7 به دست آمد. قطر هاله عصاره اتیل استات برای سویه‌هایEA7 و EA6 در برابر نمونه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* ۲۵ و ۱۱ میلی‌متر بود (شکل ۷). قطر هاله عصاره اتیل استات سویه EA7 در برابر نمونه‌های بالینی گرم منفی (*سودوموناس آئروژینوزا*) ۱۱ میلی متر به دست آمد (شکل ۸). اثر ضد میکروبی عصاره متانولی سویه EA7 در برابر باکتری‌های گرم مثبت (*استافیلوکوکوس اورئوس*) ۱۱ میلی متر و برای باکتری‌های گرم منفی هاله‌ای مشاهده نشد (شکل ۹). اثر ضدمیکروبی عصاره متانولی برای سویه EA6 در برابر باکتری‌های گرم مثبت خیلی کم و برای باکتری‌های گرم منفی هاله‌ای مشاهده نشد (جدول ۵).




**شکل ۷.** اثر ضد میکروبی عصاره اتیل استات سویه EA7 و EA6 در برابر نمونه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس*




**شکل۸.** اثر ضد میکروبی عصاره اتیل استات سویه EA7 در برابر نمونه های *سودوموناس آئروژینوزا*



**شکل۹.** اثر ضد میکروبی عصاره متانولی سویه EA7 در برابر نمونه‌های استافیلوکوکوس اورئوس

[ Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-11-09 ]
[ DOR: 20.1001.1.10235922.1405.36.2.4.9 ]
[ DOI: 10.66224/iau.36.2.177 ]

**جدول ۵.** نتایج فعالیت ضدمیکروبی عصاره‌های اتیل استات و متانولی سویه‌های EA7 و EA6

| باکتری | هاله عدم رشد (میلیمتر) | | | |
|---|---|---|---|---|
| | عصاره متانول | | عصاره اتیل استات | |
| | سویه EA7 | سویه EA6 | سویه EA7 | سویه EA6 |
| استافیلوکوکوس اورئوس PTCC۱۱۱۲ | ۱۱ | ۳ | ۲۵ | ۱۱ |
| استافیلوکوکوس اورئوس (بالینی) | ۱۱ | ۳ | ۲۵ | ۱۱ |
| سودوموناس آئروژینوزا PTCC۱۵۶۵ | ۰ | ۰ | ۱۱ | ۰ |
| سودوموناس آئروژینوزا (بالینی) | ۰ | ۰ | ۱۱ | ۰ |

## بحث

در مطالعهٔ حاضر عصاره سویه‌های EA7 و EA6 بیشترین فعالیت ضد میکروبی را در برابر باکتریهای مورد مطالعه از خود نشان دادند. در مقایسه، سویه EA7 اثر ضد میکروبی آن نسبت به سویه EA6 بیشتر بود. در مطالعات گذشته انجام شده توسط شبان و همکارانش ۱۲ جدایه *استرپتومایسس* از خاک مناطق نزدیک به تخلیه زباله در عربستان صعودی جدا و خالص‌سازی شدند. این جدایه‌ها اثر ضدمیکروبی بیشتری را در غربالگری اولیه بر روی باکتری‌های گرم مثبت نشان دادند (۲۴). همچنین کالابا و همکارانش در تحقیق خود هفت ایزوله اکتینومایست با خاصیت ضد میکروبی بیشتر از خاک‌های مناطق مختلف مصر جداسازی و شناسایی کردند (۲۳). در این مطالعه، ما سعی کردیم سویه‌های فعال و کمتر شناخته شده اکتینومایست‌ها را با اثر ضد میکروبی بیشتر بر باکتری‌های پاتوژن، که از نمونه خاک‌های باغ زیتون شهرستان رودبار واقع در کوه‌های البرز (جنوب غربی گیلان) ایران با استفاده از تکنیک‌های مختلف بیوشیمیایی و مولکولی طبق پژوهش قبلی (۱۳) شناسایی شده بودند بررسی کنیم. عوامل متمایزکننده‌ای مانند pH خاک به همراه ویژگی‌های مورفولوژیکی کلنی‌ها برای جداسازی اولیه جمعیت باکتریایی استفاده شدند. به دلیل رشد اکتینومایست ها در محیطهایی با pH خنثی تا قلیایی ما از این مناطق با pH قلیایی خاک نمونه برداری انجام دادیم. در ارزیابی آنتی بیوگرام، نمونه های بالینی و استاندارد (*P.aeruginosa* PTCC 1565 و *S.aureus* PTCC1112) در برابر دیسک‌های آنتی بیوتیک مورد مطالعه مقاوم گزارش شدند.

در این تحقیق، درغربالگری اولیه سویه‌های EA6 و EA7 فعالیت ضدمیکروبی بیشتری را در برابر باکتری‌های مورد مطالعه از خود نشان دادند. نتایج مطالعه ما با نتایج مطالعه شبان و همکارانش همخوانی دارد.

در مطالعه ما در روز هفتم تخمیر سویه‌ها بیشترین فعالیت ضد میکروبی را نشان دادند. سویه EA7 فعالیت ضد میکروبی بیشتری را در روز هفتم تخمیر نسبت به سویه EA6 از خود نشان داد. سویه EA7 در برابر هر دو گروه از باکتری‌های مورد مطالعه اثر مهاری داشت. اما از سویه EA6 اثر مهاری در برابر نمونه‌های بالینی و استاندارد *سودوموناس آئروژینوزا* مشاهده نشد.

نتایج متفاوتی از بهینه سازی محیط کشت تخمیر برای تولید ترکیبات فعال زیستی از سویه‌های مختلف اکتینومایست در مطالعات مختلف به دست آمده است (۱۴،۷). در مطالعاتی در تحقیق روی اکتینومایست‌ها، تحت هوادهی خوب در شکر انکوباتور زمان بهینه برای استخراج ترکیبات زیست فعال ۷ و ۱۱ روز گزارش شد (۱۴،۷, ۱۶, ۲۵). نتایج مطالعه ما با نتایج مطالعه انصاری و همکارانش (۱۴) همخوانی دارد. اما با نتایج مطالعه آلام و همکارانش (۲۵) همخوانی ندارد.

همچنین در مطالعات گذشته بیان شده است که کاهش تدریجی فعالیت ضد میکروبی و کاهش رشد با افزایش بیشتر زمان انکوباسیون همراه است. بهینه سازی محیط کشت عامل مهمی است که باید در فرآیند تخمیر و تولید ترکیبات زیست فعال مورد توجه قرار گیرد. در یک محیط بهینه، رشد سلولی و تولید ترکیبات ضدمیکروبی افزایش می‌یابد (۳, ۴, ۲۶). فعالیت ضد میکروبی محیط کشت تخمیر در سویه EA7 نشان داد که اکتینومایست جدا شده آنتی‌بیوتیک‌های فعال و ترکیبات فعال زیستی را در محیط مغذی ISP2 براث تولید می‌کند. زیرا فعالیت ضد میکروبی گسترده‌ای را نشان می‌دهد. علت افزایش فعالیت ضد میکروبی سویه ها در محیط کشت تخمیر نسبت به ارزیابی ضد میکروبی درغربالگری اولیه را می‌توان به بیان ژن‌های بیوسنتزی و فعال شدن ژن‌های سنتز کننده ترکیبات زیست فعال در محیط تخمیر نسبت داد. در ارزیابی اولیه فعالیت ضد میکروبی، اکتینومایست‌های جدا شده اثر بازدارندگی پایینی نشان دادند. می‌توان این امر را به دلیل قرار داشتن سویه‌ها در فاز اولیه رشد نسبت داد. در این مرحله خوشه‌های ژنی بیوسنتزی مسئول تولید متابولیت‌های ثانویه و آنتی بیوتیک‌ها هنوز به طور کامل فعال نشده‌اند (۲۷).

همچنین در مطالعه ما عصاره اتیل استات و متانولی سویه EA7 نسبت به عصاره اتیل استات و متانولی سویه EA6 اثر

[ Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-11-09 ]
[ DOR: 20.1001.1.10235922.1405.36.2.4.9 ]
[ DOI: 10.66224/iau.36.2.177 ]

ضد میکروبی بیشتری نشان داد. اثر ضد میکروبی عصاره اتیل استات سویه EA7 در برابرهر دو گروه از باکتری‌های مورد مطالعه شامل *استافیلوکوکوس اورئوس* و *سودوموناس آئروژینوزا* بالینی و استاندارد مشاهده شد. اما عصاره متانولی سویه EA7 فقط در برابر نمونه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* بالینی و استاندارد اثر ضد میکروبی نشان داد. در برابر *سودوموناس آئروژینوزا* اثر مهاری دیده نشد. در مقایسه عصاره متانولی سویه EA6 اثر مهاری در برابر باکتری‌های گرم منفی نشان نداد. اثر مهاری آن در برابر باکتری‌های گرم مثبت خیلی کم بود. در تحقیق انصاری و همکارانش فعالیت ضد میکروبی عصاره اتیل استات بیشتر از عصاره متانولی گزارش شده بود (۱۳) با نتایج مطالعه ما همخوانی دارد.

علت تفاوت در نتایج ارزیابی ضد میکروبی عصاره‌های اتیل استات و متانولی را می‌توان ماهیت متفاوت حلال‌ها دانست. عصاره اتیل استات یک حلال کم قطبی تا غیر قطبی است. در نتیجه ترکیبات کم قطبی تا غیر قطبی را استخراج می‌کند. این ترکیبات نفوذپذیری بیشتری در داخل سلول دارند. اما عصاره متانولی یک حلال قطبی است و ترکیبات قطبی را استخراج می‌کند. همچنین می‌تواند به دلیل نوع، غلظت و حجم ترکیبات استخراج شده باشد (۱۴, ۱۶).

در این تحقیق، اثر ضد میکروبی سویه‌های مورد مطالعه، در غربالگری اولیه و ثانویه بیشترین تاثیر را در برابر باکتری گرم مثبت (*استافیلوکوکوس اورئوس*) داشتند. اثر ضد میکروبی *استرپتومایسس‌ها* در برابر باکتری‌های گرم مثبت (*استافیلوکوکوس اورئوس*) و گرم منفی (*اکولای* و *سودوموناس آئروژینوزا*) در مراحل غربالگری اولیه و ثانویه در تحقیقات دیگران نشان داده شده است (۲۳،۱۲). همچنین در مطالعات انجام شده توسط شارما و همکارانش تایید شده است که باکتری‌های گرم منفی نسبت به گرم مثبت دارای مقاومت بیشتری به اثر ضد میکروبی هستند (۲۷). نتایج آنها با نتایج مطالعه ما همخوانی دارد. علت را می‌توان به ساختار متفاوت غشای خارجی در باکتری‌های گرم منفی که دارای ترکیبات لیپوپلی ساکاریدی هستند نسبت داد. این ساختار در باکتری‌های گرم منفی منجر به غیرقابل نفوذ بودن آنها در برابر مواد ضد میکروبی می‌گردد (۱۳, ۲۷). کوواری و همکارانش نشان دادند که باکتری‌های گرم منفی در مقایسه با گرم مثبت، دارای مقاومت بیشتری به اثر ضد میکروبی اکتینومایست‌ها بودند. در تحقیق خود اثر ضد میکروبی سویه‌های جدا شده را در برابر *استافیلوکوکوس اورئوس* نسبت به *سودوموناس آئروژینوزا* بیشتر گزارش کردند (۲۸). این نتایج با نتایج مطالعه ما همخوانی دارد.

جباه و همکارانش در تحقیق خود اثر ضد میکروبی *استرپتومایسس* جدا شده از نمونه رسوبات غار گولدامان الجزایر را بر باکتری‌های گرم مثبت ( *استافیلوکوکوس اورئوس*) و گرم منفی (*اکولای* و *سودوموناس آئروژینوزا*) در غربالگری اولیه و ثانویه تایید کردند. این سویه فعالیت ضد میکروبی بیشتری را نسبت به پاتوژن‌های گرم مثبت نشان داد (۲۹) که با نتایج مطالعه ما همخوانی دارد.

اوساما و همکارانش در تحقیق خود ۵ ایزوله اکتینومایست با خاصیت ضد میکروبی بیشتر از نمونه خاک‌های جمع‌آوری‌شده از روستای شریف پاشا در استان بنی‌سویف مصر جداسازی و شناسایی کردند (۳). این مطالعات اثر ضدمیکروبی بیشتر جدایه‌های اکتینومایست ها را در غربالگری اولیه و ثانویه بر روی باکتری‌های گرم مثبت نشان دادند که با نتایج مطالعه ما همخوانی دارد.

اگرچه اکتینومایست‌ها به عنوان باکتری‌های تولیدکننده بالقوه آنتی‌بیوتیک شناخته شده‌اند، اما نوع ترکیبات زیست‌فعال آنها می‌تواند به عوامل محیطی، مناطق جغرافیایی و شرایط تغذیه‌ای بستگی داشته باشد. به عنوان مثال، جدایه‌های *استرپتومایسس* از منطقه ساحلی استرالیا می‌توانند ترکیبات چند حلقه‌ای آروماتیک با فعالیت ضدباکتریایی علیه باکتری‌های گرم مثبت و منفی تولید کنند (۳۱,۳۰).

در مطالعه حاضر، سویه EA7 فعالیت ضد میکروبی بیشتری را نسبت به سویه EA6 نشان داد. سویه EA7 از اکتینومایست‌های کمیاب و کمتر شناخته شده است. لازم به ذکر است که با طراحی استراتژی‌های مناسب برای جداسازی و شناسایی جنس‌های مختلف اکتینومایست ها از گونه‌های بومی و کمتر شناخته شده در آینده، معرفی آنتی‌بیوتیک‌های جدید و بسیار مؤثرتر، می‌تواند قابل تصور باشد.

این تحقیق به منظور بررسی اثر ضد میکروبی سویه‌های فعال و کمتر شناخته شده اکتینومایست‌ها بر روی باکتری‌های پاتوژن از نمونه خاک‌های باغ زیتون شهرستان رودبار واقع در کوه‌های البرز (مناطق بومی جنوب غربی گیلان) ایران با موفقیت انجام شد. با توجه به نتایج حاصل از این تحقیق و مقایسه آن با مطالعات مشابه می‌توان گفت که عصاره خام استخراج شده از سویه های شناسایی شده در این مطالعه می‌تواند به عنوان یک منبع غنی از ترکیبات ضد میکروبی جدید باشد. نتایج نشان داد که خاک های این مناطق می توانند به عنوان منبع غنی از باکتری های فعال و کمتر

[ Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-11-09 ]
[ DOR: 20.1001.1.10235922.1405.36.2.4.9 ]
[ DOI: 10.66224/iau.36.2.177 ]

شناخته شده باشند. بنابراین خاک‌های این مناطق می‌توانند به عنوان منبع مهمی برای تحقیق در زمینه دستیابی به آنتی بیوتیک‌های جدید باشند. بررسی اثرات ضد میکروبی سویه‌های شناسایی شده از این مناطق، مستلزم تحقیقات بیشتر هستند.

## *REFERENCES*


1. Adamek M, Alanjary M, Sales-Ortells H, Goodfellow M, Bull A, Winkler A, et al. Comparative genomics reveals phylogenetic distribution patterns of secondary metabolites in *Amycolatopsis* species. BMC Genomics 2018;19: 1-15.
2. Song Z, Xu T, Wang J, Hou Y, Liu C, Liu S, et al. Secondary Metabolites of the Genus *Amycolatopsis*: Structures, Bioactivities and Biosynthesis. Molecules 2021;26:1-35.
3. Osama N, Bakeer W, Raslan M, Soliman HA, Abdelmohsen UR, Sebak M. Anti-cancer and antimicrobial potential of five soil *Streptomycetes*: a metabolomics-based study. R Soc Open Sci 2022;9:1-17.
4. Ibnouf EO, Aldawsari MA, Waggiallah HA. Isolation and extraction of some compounds that act as antimicrobials from actinomycetes. Saudi J Biol Sci 2022;29:1-7.
5. Law JW-F, Ser H-L, Duangjai A, Saokaew S, Bukhari SI, Khan TM, et al. *Streptomyces colonosanans* sp. Nov., a novel actinobacterium isolated from Malaysia mangrove soil exhibiting antioxidative activity and cytotoxic potential against human colon cancer cell lines. Front Microbiol 2017;8:877-91.
6. Bansal H, Singla RK, Behzad S, Chopra H, Ajmer S, Shen GB. Unleashing the Potential of Microbial Natural Products in Drug Discovery: Focusing on *Streptomyces* as Antimicrobials Goldmine. Curr Top Med Chem 2021;35: 1-23.
7. Tan LT-H, Chan K-G, Pusparajah P, Yin W-F, Khan TM, Lee L-H, et al. Mangrove derived *Streptomyces* sp. MUM265 as a potential source of antioxidant and anticolon-cancer agents. BMC Microbiol 2019;19:1-16.
8. Gupta A, Singh D, Singh SK, Singh VK, Singh AV, Kumar A. Role of actinomycetes in bioactive and nanoparticle synthesis. In: Kumar A, Kishore Singh A, Kumar Choudhary K, eds. Role of Plant Growth Promoting Microorganisms in Sustainable Agriculture and Nanotechnology. Sawston, United Kingdom: Woodhead Publishing; 2019. P.163-82.
9. Sánchez R, Antoraz S, Alzate j, Santamaría R, Díaz M. Antibiotic Production and Antibiotic Resistance: The Two Sides of AbrB1/B2, a Two-Component System of *Streptomyces coelicolor*. Front Microbiol 2020;11:1-16.
10. Li R, Wang M, Ren Z, Ji Y, Yin M, Zhou H, et al. *Amycolatopsis aidingensis* sp.nov.,a Halotolerant Actinobacterium, Produces New Secondary Metabolites. Front Microbiol 2021;12:1-14.
11. Nikbakht M, Omidi B, Amoozegar MA, Amini K. Cytotoxicity effect of secondary metabolites of *Streptomyces koyangensis* and *Streptomyces tunisiensis* isolated from saline soils of Garmsar City on human breast cancer cell line (MCF-7, IBRC C10082). Medical Science Journal of Islamic Azad Univesity-Tehran Medical Branch 2021; 31: 367-76. [In Persian]
12. Fahmy NM, Abdel-Tawab AM. Isolation and characterization of marine sponge–associated *Streptomyces* sp. NMF6 strain producing secondary metabolites possessing antimicrobial, antioxidant, anticancer, and antiviral activities. J Genet Eng Biotechnol 2021; 19: 1-14.
13. Amiri E, Mirpour M¸ Essazadeh Kh, Rasti B. Isolation and Characterization of Antimicrobial Activities of Native Actinomycete Strains from Agricultural Soils in Guilan province. Biotechnological Journal of Environmental Microorganisms (BJEM) 2023; 2(5): 233-243.
14. Ansari MA, Alkubaisi N, Vijayaragavan P, Murugan P. Antimicrobial Potential of *Streptomyces* sp. To The Gram positive and Gram- negative pathogens. J Infect Public Health 2019;12:861-66.
15. Nabila MI, Kannabiran K. Biosynthesis, characterization and antibacterial activity of copper oxide nanoparticles (CuO NPs) from actinomycetes. Biocatalysis and agricultural biotechnology 2018; 15: 56-62.
16. Oliveros KM, Rosana AR, Montecillo AD, Opulencia RB, Jacildo AJ, Zulaybar TO, et al. Genomic Insights into the Antimicrobial and Anticancer Potential of *Streptomyces* sp. A1-08 Isolated from Volcanic Soils of Mount Mayon, Philippines. Philippine Journal of Science 2021; 150 (6A): 1351-77.
17. Kurnianto MA, Kusumaningrum HD, Lioe HN, Chasanah E. Antibacterial and antioxidant potential of ethyl acetate extract from *Streptomyces* AIA12 and AIA17 isolated from gut of Chanos chanos. Biodiversitas Journal of Biological Diversity 2021; 22: 3196-206.


[ Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-11-09 ]
[ DOR: 20.1001.1.10235922.1405.36.2.4.9 ]
[ DOI: 10.66224/iau.36.2.177 ]

18. Tistechok SI, Tymchuk IV, Korniychuk OP, Fedorenko VO, Luzhetskyy MA, Gromyko OM. Genetic Identification and Antimicrobial Activity of *Streptomyces* sp. Strain Je 1-6 Isolated from Rhizosphere Soil of Juniperus excelsa Bieb. Genetic Identification and Antimicrobial Activity 2021; 55: 28-35.

19. Kumar R, Jadeja V. Isolation of Actinomycetes: A Complete Approach. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences 2016; 5: 606-618.

20. Singh A, Singh P. Production of bioactive compounds by *Streptomyces* sp. And their antimicrobial potential against selected MDR uropathogens. Journal of Applied Biology & Biotechnology 2021; 9: 71-79.

21. Ranjitha V, Ravishankar V. Extracellular synthesis of selenium nanoparticles from an actinomycetes *streptomyces griseoruber* and evaluation of its cytotoxicity on HT-29 cell line. Pharm Nanotechnol 2018; 6: 61-68.

22. Kisil OV, Efimenko TA, Efremenkova OV. Looking Back to *Amycolatopsis*: History of the Antibiotic Discovery and Future Prospects. Antibiotics 2021; 10: 1-25.

23. Kalaba MH, Moghannem SA, El-Hawary AS, Radwan AA, Sharaf MH, Shaban AS. Green synthesized ZnO nanoparticles mediated by *Streptomyces plicatus*: Characterizations, antimicrobial and nematicidal activities and cytogenetic effects. Plants 2021; 10:1760-86.

24. Shaaban M, El-Mahdy AM. Biosynthesis of Ag, Se, and ZnO nanoparticles with antimicrobial activities against resistant pathogens using waste isolate *Streptomyces enissocaesilis*. IET Nanobiotechnology. IET Nanobiotechnol 2019; 12: 741-747.

25. Alam M, Jha DK. Optimization of culture conditions for antimetabolite production by a rare tea garden actinobacterial isolate, *Amycolatopsis* sp. ST-28. African Journal of Clinical and Experimental Microbiology 2019; 20: 209-220.

26. Takahashi Y, Nakashima T. Actinomycetes, an Inexhaustible Source of Naturally Occurring Antibiotics (Basel) 2018; 7: 1-17.

27. Sharma M, Manhas RK. Purification and characterization of actinomycins from *Streptomyces* strain M7 active against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and vancomycin-resistant Enterococcus. BMC Microbiol 2019; 19: 1-14.

28. Kawuri R, Darmayasa I. Bioactive Compound from Extract Filtrat *Streptomyces* sp. As Biocontrol of Vibriosis on Larvae of *Macrobrachium Rosenbergii* shrimps. Journal of Biosciences 2019; 26: 15-25.

29. Djebbah F, Belyagoubi L, Abdelouahid D, Kherbouche F,Al-Dhabi N, Arasu d, et al. Isolation and characterization of novel *Streptomyces* strain from Algeria and its in-vitro antimicrobial properties against microbial pathogens. J Infect Public Health 2021;14: 1671-78.

30. Shaik M, Sankar G, Iswarya M, Rajitha P. Isolation and characterization of bioactivities of metabolites Producing marine *Streptomyces parvulus* Strain Sankarensis-A10. J Genet Eng Biotechnol 2017; 15: 87-94.

31. Chen C, Ye Y, Wang R, Zhang Y, Wu C, Debnath S, et al. *Streptomyces nigra* sp. Nov., is a novel actinobacterium isolated from mangrove soil and Exerts a Potent Antitumor Activity in Vitro. Front Microbiol 2018; 9: 1-14.

[ Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-11-09 ]
[ DOR: 20.1001.1.10235922.1405.36.2.4.9 ]
[ DOI: 10.66224/iau.36.2.177 ]