Ass. Univ. Bull. Environ. Res. Vol. 15 No. 1 March 2012

AUCES

النشاط المضاد للفطريات لبعض أنواع الستربتوميسس معزولة من المنطقة المحيطة بجذور أشجار العرعر والزيتون البري

صالحة حسن مستور الزهراني*، خلود خضر هباش الزهراني**

*قسم الأحياء – كلية العلوم للبنات، **مركز الملك فهد للبحوث الطبية
جامعة الملك عبد العزيز – جدة – المملكة العربية السعودية

الملخص:

في هذه الدراسة تم عزل ١٩١عزلة من أنواع الستربتوميسس من عينات تربة من المنطقة المحيطة بجذور أشجار الزيتون البري *Olea europae* والعرعر *Juniper procera* من غابات في منطقة الباحة بالمملكة العربية السعودية. نميت العزلات في بيئة النشا–الكازين الصلبة. وتم اختبار نشاطها المضاد لبعض الفطريات. أظهرت ٨٨٪ من عزلات *Streptomyces* نشاط مضاد لنمو سبعة أنواع من الفطريات، وهي:

Aspergillus ochraceus, A. nidulans, Circinella mucoroides, A. awamorii, A. terreus, Penicillium griseofulvum and *A. niger* .

وكانت جميع عزلات الستربتوميسس قادرة على التثبيط الكلي لنمو *A. achraceus* ، *A. niger*، كما كانت بيئة النشا–الكازين هي أفضل بيئة مغذية لإنتاج أعلى كمية من المواد المضادة للفطريات. ازداد تثبيط نمو الفطريات المختبرة بزيادة تركيزات راشح عزلات الستربتوميسس (المنماة في بيئة النشا–الكازين).

المقدمة:

على الرغم من القائمة الطويلة من المضادات الحيوية المتوفرة حالياً في الأسواق، فإن المضادات الحيوية المضادة للفطريات قليلة جداً، ولكن مجموعة قليلة وعدد محدود من مضادات الفطريات المتاحة حالياً لها دور هام في السيطرة على الأمراض الفطرية وعلاجها، (Vicente *et al.*, 2003). البحث عن الجديد من مضادات حيوية ضد الفطريات، أكثر أماناً واسعة المدى مع فاعلية أكبر يتقدم ببطيء (Gupte *et al.*, 2002). ويشكل تحدياً رئيسياً لصناعة المستحضرات الطبية اليوم، خاصة مع الزيادة في حالات العدوى ومع ذلك، العديد من المركبات على وجه الخصوص، لا يمكن استخدامها بسبب سميتها، في حين أن لها فائدة في علاج الحيوانات وفي الزراعة والصناعة، وتظهر بعض القيود لبعض العوامل المضادة للفطريات، مثل السمية الكلوية لمركب Amphotericin B (Georgopapadakou and Walsh 1994) .

على الرغم من أن المكافحة الحيوية Biological control لمسببات أمراض النبات الفطرية باستخدام الكائنات الحية الدقيقة التي لها القدرة على إنتاج مواداً مضادة للفطريات مثل الأكتينوميسس، البكتيريا، الخمائر وفطريات العفن (Mold fungi) التي تؤثر على الفطريات

الممرضة بواسطة آلية تضاد الحيوية، فإن الأكتينوميسس لم تقدر بعد كمكافحات لمسببات أمراض النبات من الفطريات خاصة فيما يتعلق بمضادات الحيوية في التربة، وهي الظاهرة التي لفتت انتباه الباحثين في السنوات الأخيرة (Franco & Valencia, 2003).

وقد أشار Castillo *et al.* (2005) إلى أن الأكتينوميسس لها أهمية كبيرة، حيث تعتبر الستربتوميسس المصدر الرئيسي لحوالي ٨٠٪ من مضادات الحيوية، وهي من النواتج الثانوية للأيض الغذائي لهذه الكائنات، ولكنها ضارة لبعض الكائنات الحية الدقيقة الأخرى، وهذه المواد تضاد نمو الفطريات الممرضة بواسطة آلية تضاد الحيوية.

تعتبر المنطقة الجذرية Rhizosphere من الأوساط البيئية المناسبة بدرجة كبيرة للتكاثر والتمثيل الغذائي لكثير من أنواع الميكروبات. وقد تختلف الكائنات الحية الدقيقة المنتشرة في هذه المنطقة باختلاف أنواع النباتات، وتعزى مثل هذه الاختلافات إلى طبيعة الجذور، تركيب أنسجتها والإفرازات المنتجة منها. كما يلاحظ تأثير الجذور على ميكروبات المنطقة المحيطة بالجذور ابتداءً من البادرات حديثة العمر، مما يشير إلى أن الكائنات الحية الدقيقة تستجيب لإفرازات الجذور أكثر من استجابتها للأنسجة النباتية الميتة أو المتحللة (الكسندر، ١٩٨٢).

البكتيريا الخيطية لفتت الإنتباه كعوامل مكافحة أو مقاومة حيوية واعدة لمسببات أمراض النبات. فقد وصفت عدة أبحاث أنشطة هذه الكائنات الحية الدقيقة، وطريقة عملها، وتشمل: التطفل الخيطي (El-Tarabily and Sivasithamparam, 2006) التنافس مع مسببات الأمراض (Kunoh, 2002)، إنتاج المضادات الحيوية (Igarashi, 2004)، كمانعات للحديد سايدوفور (Khamna *et al.*, 2009) كمبيدات للأعشاب (Hasegawa *et al.*, 2006)، إنتاج الإنزيمات مثل: السليوليز، الهميسليوليز، الكيتين، الإميليز، والجلوكونيز. (Yuan & Crawford, 1995)، وقد ذكر (Kunoh, 2002) أن الستربتوميسيتس ربما تلعب دوراً في نمو وصحة النبات، وذلك بسبب امتصاصها للمغذيات وإنتاج المواد الأيضية الثانوية.

وتستخدم الستربتوميسس ونواتجها الأيضية حديثاً في المقاومة الحيوية ضد كثير من مسببات أمراض النبات (Gomes *et al.*, 2000 a&b and Kim *et al.*, 2003)، حيث عزل Jimenez-Esquilin & Roane (2005) ١٢٢ عزلة من الأكتينوميسس منها أربع عزلات من الستربتوميسس من المنطقة المحيطة بجذور نبات الأرتميسيا *Artemisia tridentata*، لها مدى واسع في تثبيط نمو العديد من الفطريات على البيئات الغذائية الصلبة.

تم عزل سلالة جديدة من الأكتينوميسس من تربة غابة شرق الهند ووصفت بأنها *Streptomyces* sp. ER1-04، وقد أظهرت نشاط مضاد للفطريات الممرضة للنبات ومسببات أمراض الجلد الفطرية (Valanarasu, *et al.*, 2010). وقد تمكن الزهراني والحربي (٢٠٠٦) من الحصول على عزلتين من الستربتوميسس من منطقة جازان هما:
Streptomyces isolate 28 & *Streptomyces* isolate 1
لهما نشاط عال مضاد لفطرين ممرضين للنبات هما *Fusarium oxysporum* f. sp. *melongenae* وفطر *Rhizoctonia solani*، وذلك على البيئات الغذائية الصلبة والسائلة، حيث تم تثبيط نمو الفطرين بنسبة ٨٨٪، ٩٧٪ عند إضافة ١٢,٥٪ من راشح نمو *Streptomyces* isolate 1، وبنسبة ٨٣٪، ٨٠,٢٪ عند إضافة ١٢,٥٪ من راشح *Streptomyces* isolate 28 إلى البيئات الغذائية السائلة للفطرين على التوالي.

وفي دراسة على عينات من التربة السعودية تم الحصول على عزلات من الستربتوميسس من المنطقة الجذرية لنبات البطيخ كانت ذات نشاط تضادي ضد الفطر *Fusarium oxysporum* المسبب لمرض الذبول الفيوزارمي في نبات البطيخ، وقد أظهرت جميع العزلات نشاطاً مضاداً عالياً ضد هذا الفطر في زراعة مزدوجة

على بيئة النشا-النترات الصلبة، حيث ظهرت منطقة رائقة بينهما، واستخدمت أفضل أربع عزلات من حيث نشاطها التضادي في مكافحة هذا الفطر حيوياً، وقد بلغت نسبة البادرات السليمة ما بين ٩١,١١٪، ٩٥,٥٥٪ (الزهراني والشراري، ٢٠٠٧). لذا كان الهدف من هذا البحث هو عزل أحد مجموعات الفلورا من الكائنات الحية الدقيقة في التربة السعودية، وهي الستربتوميسس لدراسة مدى قدرة عزلاتها على إنتاج المواد المضادة للفطريات من تربة بعض غابات أشجارها من الزيتون البري والعرعر بمنطقة الباحة.

مواد وطرائق البحث:

١- عينات التربة:

تم جمع عينات التربة من غابات بمنطقة الباحة، وذلك من غابات معظم أشجارها من الزيتون البري الذي يسمى محلياً (العتم) *Olea europaea*، وغابات أخرى معظم أشجارها من نبات العرعر *Juniper procera* . وتم جمع عينات التربة جميعها من المنطقة المحيطة بأشجار الزيتون البري والعرعر (منطقة الرايزوسفير للنباتات) على عمق ٢٠ سم.

٢- الفطريات المختبرة :

تم اختيار سبعة أنواع من الفطريات الخيطية، وهي:

Aspergillus ochraceus, A. nidulans, A. niger, A. awamorii, A. terreus, Penicillium griseofulvum, Circinella mucoroides.

٣- عزل وتعريف الستربتوميسس :

تركت عينات التربة تجف في جو المعمل لمدة ٧٢ ساعة عند درجة حرارة ٢٨°م لقتل خلايا البكتريا الخضرية المتواجدة في التربة مع جنس الستربتوميسس (Kutzner & Wendisch, 1992)، استخدمت طريقة التخفيف المتدرج من معلق من عينات التربة على بيئة النشا-الكازين الصلبة (Kuster & Williams, 1964)، حضنت المزارع عند درجة حرارة ٢٨°م لمدة ١٠ أيام (Conn *et al.*, 1998). تم تعريف عزلات الستربتوميسس حسب الطرق المتبعة، كما وصفها Shirling and Gottlieb (1966) و Williams *et al.* (1983) .

٤- دراسة النشاط المضاد لعزلات الستربتوميسس ضد الفطريات المختبرة على بيئة النشا-الكازين الصلبة :

لقحت عزلات من الستربتوميسس لدراسة نشاطها التضادي ضد السبع أنواع من الفطريات الخيطية، وذلك على بيئة النشا-الكازين الصلبة، كل على حدة (El-Tarabily *et al.*, 1997)، وضع قرص نصف قطره ٥ مم من النمو الفطري الحديث في منتصف الجزء الآخر من الطبق الملقح بعزلات الستربتوميسس تحت ظروف التعقيم، وحضنت الأطباق عند درجة حرارة ٢٨°م لمدة تراوحت ما بين ٥-١٠ أيام بناءً على نمو العينة الضابطة في الطبق كاملاً (Yuan & Crawford, 1995).

٥- تأثير البيئات الغذائية السائلة المختلفة على إنتاج مضادات الفطريات بواسطة عزلات الستربتوميسس المختارة:

استخدمت في هذه التجربة ثلاث بيئات غذائية سائلة مختلفة، وهي:

١- النشا-الكازين (Kuster & Williams, 1964).

٢- النشا-النترات (Waksman, 1959).

٣- الشوفان المغذي (Conn *et al.*, 1998).

لقحت بعزلات الستربتوميسس المختارة كل على حدة في دوارق مخروطية سعة ٢٥٠ مل المحتوية على ٥٠ مل من البيئة السائلة المعقمة، وحضنت المزارع عند درجة حرارة ٢٨°م لمدة ستة أيام، ثم تحت ظروف التعقيم تم فصل الكتلة الحية عن الراشح، وتم تعقيم الراشح باستخدام المرشح البكتيري (٠,٢ ميكروميتر)، تم أخذ تركيز ١٠٪ (حجم/حجم من الراشح المعقم على بيئة سابرود السائلة المعقمة)، ولقحت به البيئات بالفطريات المختبرة من مزارع حديثة، بعد التحضين عند ٢٨°م لمدة

خمسة أيام، فصلت الكتلة الحية للفطريات، وجففت في الفرن عند ٦٥°م حتى ثبوت وزنها لتقدير وزنها الجاف (Landa *et al.*, 1997).

٦-دراسة تأثير التركيزات المختلفة من راشح نمو عزلات الستربتوميسس المختارة على نمو الفطريات المختبرة:

نميت عزلات الستربتوميسس في البيئة المغذية السائلة النشا- الكازين عند ٢٨°م لمدة ستة أيام، بعد فصل الكتلة الحية عن الراشح، وتعقيم الراشح بالمرشح البكتيري، أضيف الراشح بتركيزات بنسبة ٢,٥-٢٠٪ (حجم/حجم)، إلى بيئة سابرود الدكستروز السائلة، ولقحت بالفطريات المختبرة، بعد تحضين المزارع الفطرية لمدة ١٢٥ ساعة عند ٢٥°م، تم فصل الكتلة الحية للفطريات النامية، وجففت في الفرن عند ٦٥°م حتى ثبوت وزنها، وتم تقدير وزنها الجاف (Umechuruba & Nwachukwa, 1997).

النتائج والمناقشات:

تم تصنيف عزلات الستربتوميسس التي تم الحصول عليها مبدئياً حسب ألوانها تبعاً لتقسيم (Shirling & Gottlib, 1966)، وتوضح النتائج في جدول (١) توزيع عزلات الستربتوميسس في كل نوع تربة حسب ألوان الميسيليوم الهوائي للعزلات وهي ستة ألوان، وكانت العزلات البيضاء هي السائدة حيث بلغت نسبتها ٤٨,١٣٪، وكانت أكثر تواجداً في جميع عينات التربة، تلتها العزلات الرمادية بنسبة ٢١,٢٢٪، تلتها العزلات الصفراء بنسبة ١٤,٨٠٪، أما العزلات البنفسجية والحمراء كانت أقلها تواجداً في التربة، وتم الحصول على العزلات الحمراء من تربة غابات الزيتون البري فقط بنسبة ٢٪، وتتفق هذه النتائج مع ما توصل إليه Othman (2003) حيث حصل على ٢٤٣ عزلة من عينات تربة مصرية تم جمعها من المنطقة الجذرية لبعض النباتات، منها ٥٩ ذات نشاط تضادي ضد الفطريات الممرضة، وقد حصلت Al-Zahrani & Al-Harbi (2004) على ١٢٩عزلة، وحصل القحطاني (٢٠٠٥) على ١٤٠ عزلة من عينات تربة مختلفة من منطقة الرياض، وحصل الزهراني والشراري (٢٠٠٧) على ١٧٩ عزلة من على سطح جذور نبات البطيخ ومن المنطقة الجذرية لبادرات البطيخ. وتوضح النتائج في الشكل (١) أن ٨٨٪ من ١٩١ عزلة من الستربتوميسس التي تم عزلها من عينات التربة لها قدرة على تثبيط نمو الفطريات المختبرة على بيئة النشا-الكازين الصلبة، وهي:

A. niger.	*A. nidulans.*	*A. ochraceus.*
A. terreus.	*A. awamorii.*	*C. mucoroides.*
		P. griseofulvum.

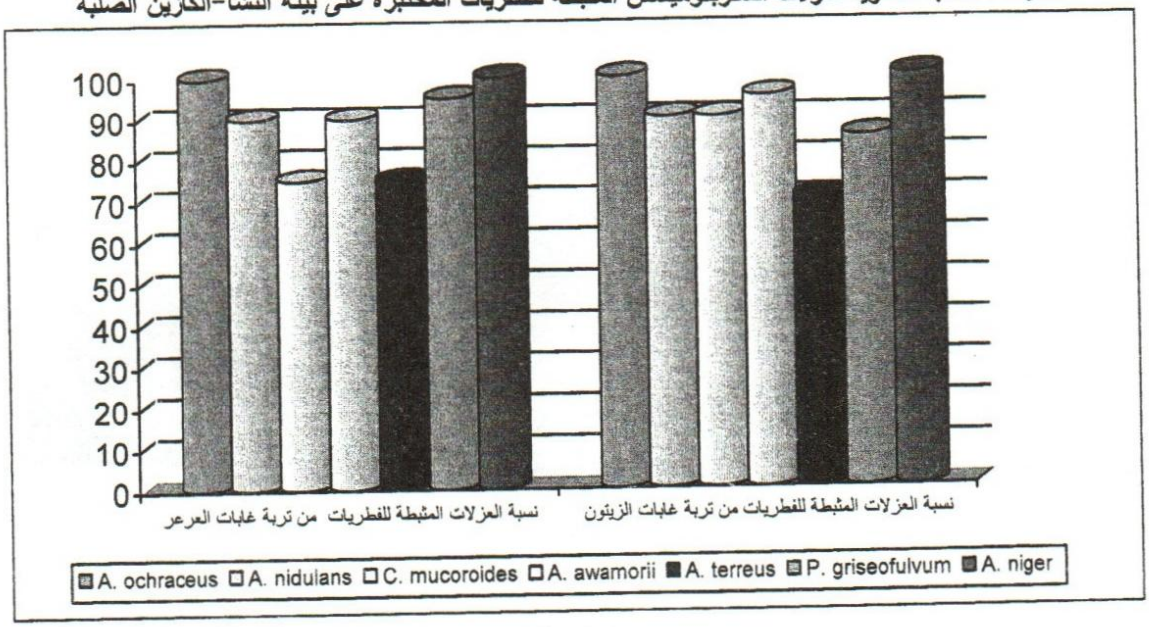
في المنطقة المجاورة لنموها مقارنة بالعينات الضابطة لكل فطر، حيث يلاحظ في شكل (١) أن جميع العزلات المختارة المعزولة من تربة غابات الزيتون ثبطت نمو فطر *A. niger*، فطر *A. ochraceus* بنسبة ١٠٠٪، وتراوحت نسب تثبيط نمو الفطريات *A. nidulans, A. terreus, A. awamorii , C. mucoroides P. griseofulvum* بنسب ٩٠، ٩٠، ٩٥، ٧٠، ٨٥٪ على التوالي بينما الستربتوميسس المعزولة من تربة غابات العرعر بلغت نسبة تثبيطها لنمو الفطريات. *A. awamorii*، *C. mucoroides*، *A. nidulans*، *A. terreus*، *P. griseofulvum* ، هي: ٩٠، ٧٥، ٩٠، ٧٥، ٩٥٪ على التوالي شكل (١).

في الدراسات السابقة وجد أن مستوى عزل الأكتينوميسيتات مقارنة بقدرتها المضادة هي أكثر من ٤٠٪ (Lemriss *et al.*, 2003). وفي دراسات أخرى أقل من ١٠٪ (Jiang and Xu, 1996) ، بينما وجد (Thakur *et al.*, 2007) أن ٦٠,٨٦٪ من العزلات التي تم الحصول عليها من تربة غابات مختلفة كان لها نشاط مضاد. وقد ذكر (Thakur *et al.*, 2007) أن المناطق المحمية تكون تربتها غنية بالعناصر المعدنية، وهي ظروف مناسبة جداً لنمو الأكتينوميسيتات وهي منطقة محمية من النشاطات البشرية، هذه الظروف وفرت فرص المنافسة للبقاء وإنتاج المواد النشطة حيوياً.

جدول ١: نسبة تواجد عزلات الستربتوميسس تبعاً لألوانها في عينات مختلفة من التربة من منطقة الباحة

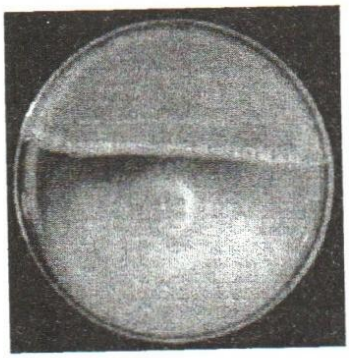
نوع النبات في الغابات	نسبة تواجد عزلات الستربتوميسس تبعاً لألوانها						النسبة المئوية لتواجد العزلات بكل نوع تربة
	أبيض	رمادي	أزرق	أصفر	بنفسجي	أحمر	
زيتون بري *Olea europaea*	٢٧,٧٢	٩,١٢	٥,٦٥	٨,٦٢	٢	٢	٥٤,٠٢
عرعر *Juniper procera*	٢٠,٤١	١٢,١٠	٤,٢	٦,١٨	١	–	٤٥,٩٨
المجموع	٤٨,١٣	٢١,٢٢	١٠,٨٥	١٤,٨٠	٣	٢	

شكل ١: النسبة المئوية لعزلات الستربتوميسس المثبطة للفطريات المختبرة على بيئة النشا-الكازين الصلبة

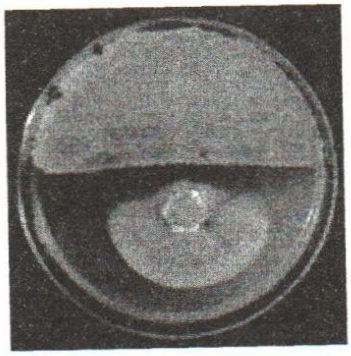


وتوضح الصور (١-٩) عدم قدرة الفطريات المختبرة على النمو في المنطقة المجاورة لنمو عزلات الستربتوميسس. وقد لوحظ نمو الفطريات رأسياً حتى وصل النمو إلى غطاء الطبق مبتعداً عن المنطقة المجاورة لعزلة الستربتوميسس، كما يظهر في صورتي (٧،٣)، ويمكن تفسير ذلك أن عزلات الستربتوميسس تفرز مواد انتشرت في البيئة الصلبة مثبطة لنمو الفطريات (Yuan & Crawford, 1995)، وهذا يتفق مع ما ذكره Jimenez-Esquilin & Roane (2005) حيث تمكنا من الحصول على ١٢٢عزلة من الأكتينوميسس منها أربع عزلات من الستربتوميسس من المنطقة الجذرية لنبات حبق الراعي لها مدى واسع في تثبط نمو العديد من الفطريات على البيئات الصلبة.

وقد اتفقت هذه النتيجة أيضاً مع ما لاحظه معملياً El-sheriff & Grossmann (1994) and Dickie & Bell (1995)، وذلك في اختبار مزدوج على بيئة الأجار المغذي من أن العديد من بكتيريا التربة والمنطقة الجذرية لها نشاط مضاد للفطريات المسببة لأمراض النبات. وقد لاحظ Getha & Vikineswary (2002) بالفحص الميكروسكوبي تحلل أطراف الخيوط الفطرية، وتثبيط نمو جراثيم فطر *Fusarium oxysporum* عند تحضينه وسلالة من *Streptomyces violaceusniger* G10 معاً على بيئة مغذية صلبة في أطباق بتري.

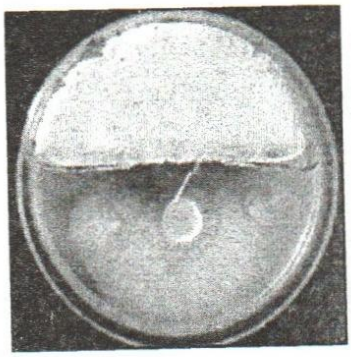


صورة ١: العزلة *S.* B59
ضد الفطر *C. mucoroides*

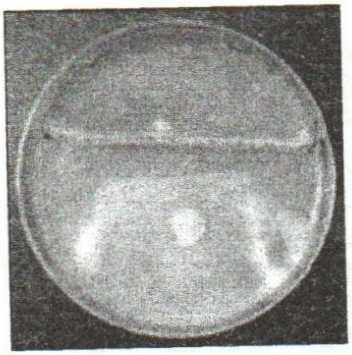


صورة ٢: العزلة *S.* B20
ضد الفطر *A. awamorii*

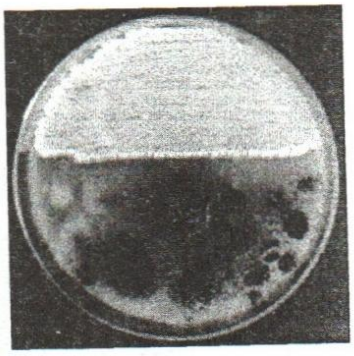
صورة ٣: العزلة S. B43
ضد الفطر *C. mucoroides*



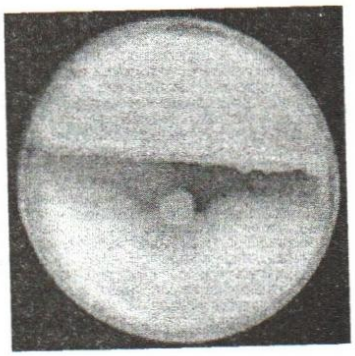
صورة ٤: العزلة S. B46
ضد الفطر *A. niger*



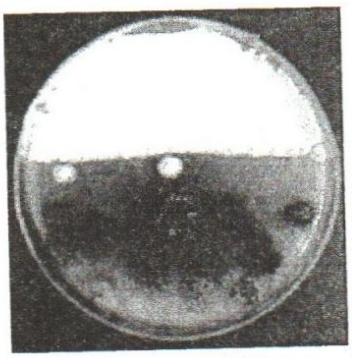
صورة ٥: العزلة S. B1
ضد الفطر *C. mucoroides*



صورة ٦: العزلة *S.* B28
ضد الفطر *A. awamorii*



صورة ٧ : العزلة *S.* B4
ضد الفطر *C. mucoroides*



صورة ٨: العزلة *S.* B3
ضد الفطر *A. niger*

صورة ٩: العزلة *S.* B20
ضد الفطر *A. achraceus*

عند دراسة النشاط المضاد لبعض عزلات الستربتوميسس ضد الفطريات المختبرة باستخدام البيئات الغذائية السائلة المختلفة، النشا-الكازين، النشا-النترات، الشوفان المغذي، لوحظ أنه نتيجة لإضافة رواشح العزلة *Streptomyces* B1 التي نميت على بيئات غذائية مختلفة، أن أعلى نسبة تثبيط لنمو جميع الفطريات كان عند استخدام بيئة النشا-الكازين، وبلغت أقطار مناطق التثبيط ٦٦,٦٧، ٥٠,٨٢، ٧٥، ٦٩,٢٣، ٦٤,٠٦، ٦٩,١٢، ٥٨,٥٧٪ للفطريات المختبرة *A. ochraceus*، *A. nidulans*، *C. mucoroides*، *A. awamorii*، *A. terreus*، *P. griseofulvum*، *A. niger* على التوالي مقارنة بالعينات الضابطة.

وأن أعلى نسبة تثبيط لنمو الفطريات المختبرة بإضافة راشح وسط نمو S. B3 النامية على بيئة النشا-الكازين ، وبلغت أقطار مناطق التثبيط ٤٢,٨٦، ٨٠,٣٣، ٥٥,٨٨، ٥١,٢٨، ٥٠، ٤٤,١٢، ٧١,٤٣٪ للفطريات المختبرة *C. mucoroides, A. nidulans, A. ochraceus* *A. awamorii, A. terreus, P.* griseofulvum, *A. niger* على التوالي. أي أن أفضل إنتاج للمواد المضادة للفطريات بواسطة هذه العزلة كان باستخدام بيئة النشا-الكازين، مقارنة بالعينات الضابطة. وهذه النتائج تتفق مع ما وجده (Al-Zahrani & Al-Harbi, 2004 and Augustine *et al.*, 2005) من أن استخدام بيئة النشا-الكازين هي الأفضل لإنتاج أفضل الكميات من مضادات الحيوية مقارنة باستخدام بيئة النشا-النترات بواسطة عزلات من الستربتوميسس وذلك على البيئات الصلبة والسائلة.

بينما وجد أن أعلى نسبة تثبيط لنمو الفطريات *A. ochraceus*، *A. nidulans*، *A. awamorii* و *A. terreus* كان عند إضافة راشح العزلة *S.* B38 النامي في بيئة النشا-الكازين، وبلغت نسبة تثبيط نموها ٥٠,٧٩ ، ٤٤,٢٦ ،، ٥٨,٩٧، ٤٥,٣١٪. ونسبة تثبيط الفطر *C. mucoroides* ٥١.٤٧٪ عند استخدام بيئة الشوفان المغذي، وبلغت نسبة تثبيط الفطرين *P. griseofulvum* و *A. niger* ٥٠,٠ و٥٤,٢٩٪ على التوالي عند استخدام بيئة النشا-النترات مقارنة بالعينات الضابطة جدول (٢).

بلغت نسبة تثبيط نمو الفطريات *C. mucoroides, A. awamorii* ،*A. nidulan* و *P. griseofulvum* ٥٤,١، ٥٠، ٧٩,٤٩ و٥٢,٩٤٪ عند استخدام بيئة النشا-الكازين لتنمية عزلة الستربتوميسس *S.* B4 ، وأعلى نسبة تثبيط لنمو الفطر *A. terreus* بلغت ٥٤,٦٩٪ عند استخدام النشا-النترات وذلك مقارنة بالعينات الضابطة. كذلك نسبة تثبيط نمو الفطريات المختبرة *A. ochraceus*، *A. nidulans*، *C. mucoroides*، *A. awamorii* و *P. griseofulvum* كانت الأعلى عند إضافة راشح *S.* B58 باستخدام البيئة الغذائية النشا-الكازين لتنميتها، وقد بلغت نسبة التثبيط ٥٨,٧٣، ٤٩,١٨، ٧٠,٨٦، ٨٩,٧٤ و٤٤,١٢٪ على التوالي، بينما بلغت نسبة تثبيط نمو *A. terreus* و *A. niger* ٥٦.٢٥ و٦١,٤٣٪ على التوالي عند استخدام بيئة الشوفان المغذي وذلك مقارنة بالعينات الضابطة. وقد يرجع هذا الاختلاف في النتائج المتحصل عليها من كل بيئة غذائية مستخدمة إلى تميز كل عزلة بإنتاج نوعية خاصة من المواد المضادة للفطريات جدول (٢). وقد ذكر Ghannoum & Rice (1999) أن المواد المضادة للفطريات يمكن تقسيمها إلى مجموعات تعتمد على تأثيرها: azoles التي تثبط تمثيل الإرجوستيرول (المادة الرئيسية للستيرولات الفطرية)، polyense التي تتداخل مع ستيرولات الغشاء السيتوبلازمي للفطريات physicochemically و 5-fluorocytosine الذي يثبط المكونات الكبيرة (macromolecular).

جدول ٢: النسبة المئوية لتثبيط نمو الفطريات المختبرة بواسطة راشح نمو عزلات الستربتوميسس النامية على بيئات غذائية مختلفة

العزلة	البيئة الغذائية	النسبة المئوية لتثبيط نمو الفطريات المختبرة						
		A. ochraceus	*A. nidulans*	*C. mucoroides*	*A. awamorii*	*A. terreus*	*P. griseofulvum*	*A. niger*
Streptomyces B3	النشا-الكازين	٤٢,٨٦	٨٠,٣٣	٥٥,٨٨	٥١,٢٨	٥٠,٠٠	٤٤,١٢	٧١,٤٣
	النشا-النترات	٣٩,٦٨	٥٩,٠٢	٤٤,١٢	٣٨,٤٦	٤٠,٦٣	٣٣,٨٢	٦١,٤٣
	الشوفان المغذي	٢٣,٨١	٦٨,٨٥	٤٧,٠٦	٤٣,٥٩	٥١,٥٦	٤٢,٦٥	٦٢,٨٦
Streptomyces B38	النشا-الكازين	٥٠,٧٩	٤٤,٢٦	٤٥,٥٩	٥٨,٩٧	٤٥,٣١	٤٢,٦٥	٤٥,٧١
	النشا-النترات	٣٩,٦٨	٤٠,٩٨	٤١,١٨	٤٦,١٥	٣٩,٠٦	٥٠,٠٠	٥٤,٢٩
	الشوفان المغذي	٤٧,٦٢	٢٦,٢٣	٥١,٤٧	٤١,٠٣	٣٧,٥	٤٤,١٢	٤٨,٥٧
Streptomyces B46	النشا-الكازين	٥٥,٥٦	٥٤,١	٥٠,٠٠	٧٩,٤٩	٥١,٥٦	٥٢,٩٤	٥٠,٠٠
	النشا-النترات	٥٢,٣٨	٥٤,٠٠	٤١,١٨	٥٦,٤١	٥٤,٦٩	٤٥,٥٩	٤٥,٧١
	الشوفان المغذي	٣١,٧٥	٥٠,٨٢	٤٢,٦٥	٧١,٨	٥٠,٠٠	٤٧,٠٦	٤٧,١٤
Streptomyces B58	النشا-الكازين	٥٨,٧٣	٤٩,١٨	٧٠,٨٦	٨٩,٧٤	٥٤,٦٩	٤٤,١٢	٥٥,٧١
	النشا-النترات	٤٦,٠٣	٤٧,٥٤	٦٤,٧١	٧٤,٣٦	٥٣,١٣	٣٩,٧١	٤١,٤٣
	الشوفان المغذي	٥٣,٩٧	٣٩,٣٤	٦٧,٦٥	٦١,٥٤	٥٦,٢٥	٤١,١٨	٦١,٤٣

أما تأثير التركيزات المختلفة من راشح نمو عزلات الستربتوميسس المختارة على تثبيط نمو الفطريات المختبرة تم بتقدير تراكم الكتلة الحية للفطريات المختبرة بتقدير الوزن الجاف لها عند إضافة راشح عزلات الستربتوميسس المختارة النامية على بيئة النشا-الكازين السائلة، ووجد أن نمو الفطريات المختبرة يتناقص بزيادة تركيز راشح نمو عزلات الستربتوميسس المختارة في وسط نمو الفطريات، وتوضح النتائج في جدول (٣) التركيزات من راشح كل عزلة من الستربتوميسس المثبطة لنمو الفطريات المختبرة بنسبة ١٠٠٪، وقد تم تثبيط نمو الفطريات *C. mucoroides*، *A. awamorii* و*A. terreus* كلياً عند إضافة ١٥٪ من راشح العزلة *S.* B1، وتم تثبيط كلى لنمو جميع الفطريات عند إضافة ١٧,٥٪ من الراشح باستثناء الفطر *A. nidulans* الذي تم تثبيط نموه كلياً أي بنسبة ١٠٠٪ عند إضافة ٢٠٪ من الراشح، وذلك مقارنة بالعينات الضابطة، كذلك ازدادت نسبة تثبيط الفطريات المختبرة بزيادة تركيز راشح *S.* B3 في أوساط نموها، حيث تم تثبيط نمو الفطريات الفطر *A. nidulans*، والفطرين *A. awamorii* و *A. niger*والفطرين *C. mucoroides* و *A. terreus* بنسبة ١٠٠٪ عند إضافة ١٥، ١٧,٥ و٢٠٪ من الراشح لوسط نموها على التوالي. وتم تثبيط نمو *A. awamorii* والفطريات *A. nidulans* و *A. terreus* و *A. niger* كلياً أي بنسبة ١٠٠٪ عند إضافة ١٧,٥ و٢٠٪ من راشح *S.* B38 على التوالي، وكانت نسبة تثبيط نمو الفطرين *A. awamorii* و *A. ochraceus* ١٠٠٪ عند إضافة ١٥ و١٧,٥٪ من راشح *S.* B46 ، بينما ثبطت الفطريات المختبرة الأخرى بنسبة ١٠٠٪ عند إضافة ٢٠٪ من الراشح مقارنة بالعينات الضابطة. وتم تثبيط نمو الفطر *A. awamorii* بنسبة ١٠٠٪ عند إضافة ١٢,٥٪ من راشح *S.* B58، أما الفطرين *C.* mucoroides، *A. terreus*، والفطريات *A. niger, A. ochraceus*،

A. nidulans فقد تم تثبيط نموها بنسبة ١٠٠٪ عند إضافة ١٧,٥ و٢٠٪ من الراشح على التوالي مقارنة بالعينات الضابطة وكانت جميع النتائج معنوية، وتتفق تلك النتائج مع ما وجده الزهراني والحربي (٢٠٠٦) من أن تثبيط نمو الفطرين الممرضين للنبات *Fusarium oxysporum* f. sp. *melongenae* و *Rhizoctonia solani* زاد بزيادة تركيز راشح عزلات الستربتوميسس ١ و٢٨ المعزولة من التربة، وتم تثبيط نمو الفطرين عند إضافة ١٢,٥٪ من الراشح بنسبة ٨٨٪ و٩٧٪ في البيئة السائلة على التوالي بواسطة راشح *Streptomyces* 1، وبنسبة ١٠٠٪ و٨٠,٢٪ على التوالي بواسطة *Streptomyces* 28 في البيئة السائلة.

جدول ٣: تركيز راشح عزلات الستربتوميسس المختارة المثبط لنمو الفطريات المختبرة بنسبة ١٠٠٪

عزلات الستربتوميسس	نسبة تركيز الراشح المثبط لنمو الفطريات ١٠٠ ٪						
	A. ochraceus	*A. nidulans*	*C. mucoroides*	*A. awamorii*	*A. terreus*	*P. griseofulvum*	*A. niger*
Streptomyces B1	١٧,٥	٢٠	١٥	١٥	١٥	١٧,٥	١٧,٥
Streptomyces B3	–	١٥	٢٠	١٧,٥	٢٠	–	١٧,٥
Streptomyces B38	–	٢٠	–	١٧,٥	٢٠	–	٢٠
Streptomyces B46	١٧,٥	٢٠	٢٠	١٥	٢٠	–	٢٠
Streptomyces B58	٢٠	٢٠	١٧,٥	١٢,٥	٢٠	–	١٧,٥

* لم تثبط العزلات كلياً عند التركيزات المستخدمة.

الخلاصة:

تحتوي التربة المحيطة بجذور أشجار العرعر والزيتون البري في غابات منطقة الباحة على عزلات من الستربتوميسس معظمها ذات نشاط مضاد للفطريات، وبلغت القدرة التثبيطية لعزلات الستربتوميسس ضد بعض الفطريات المختبرة إلى ١٠٠٪ عند إضافة تركيزات ما بين ١٥-٢٠٪.

المراجع:

الزهراني، صالحة حسن والحربي، أسماء أحمد (٢٠٠٦م): التأثير التضادي لعزلات من الستربتوميسس على نمو الفطرين الممرضين للنبات *Rhizoctonia solani* و *Fusarium oxysporum* f. sp. *Melongenae*. مجلة جامعة الملك عبد العزيز: العلوم، م١٨، ص ص: ١-٨٤.

الزهراني، صالحة حسن والشراري، سلومة سالم (٢٠٠٧م): المكافحة الحيوية بعزلات من الستربتوميسيس لمرض الذبول الفيوزارمي في نبات البطيخ. مجلة جامعة أم القرى للعلوم والطب والهندسة، ١٩(١)، ١٣-٣٣.

القحطاني، منيرة ظافر فهد (٢٠٠٥م): تأثير المضادات الحيوية المنتجة بواسطة البكتيريا الخيطية المعزولة من منطقة الرياض على بعض الفطريات. رسالة دكتوراة. كلية التربية للبنات / الأقسام العلمية- الرياض-المملكة العربية السعودية.

الكسندر، مارتن (١٩٨٢م): مقدمة في ميكروبيولوجيا التربة - الطبعة الثانية جون ويلي وأولاده. نيويورك - شيستر- بريسبين- تورنتو.

Al-Zahrani, S.H. and Al-harbi, A.A. (2004): Studies on soil *Streptomyces* from Saudia Arabia. Egypt. J. Microbiol., 39(1-2): p59-65.

streptomycete actinomycetes in Western Australia. New Phytologist 137, 495-507.

El-Tarabily, K.A., Sivasithamparam, K. (2006): Non-streptomycete actinobacteria as biological agents of soil-borne fungal plant pathogens and as plant growth promoters. Soil Biol. Biochem. 38, 1505e1520.

Franco, M. and Valencia, H. (2003). Evaluation of actinomycetes as growth inhibitors to Fusarium oxysporum f. sp. dianthi in carnations (Dianthus cayophyllus var. rosara). J. Plant Pathol., 52: 219-227.

Georgopapadakou, N.H. and Walsh, T.J. (1994): Human mycoses: drugs and targets for emerging pathogens, *Science* 264), pp. 371–373.

Getha, K. and Vikineswary, S. (2002): Antagonistic effects of *Streptomyces violaceusniger* strain G10 on *Fusarium oxysporum* f.sp. cubense race 4 : Indirect evidence for the role of antibiosis in the antagonistic process. J. Indust. Microbiol. and Biotechnol., 28: 303-310.

Ghannoum, M.A., Rice, L.B. (1999): Antifungal agents: mode of action, mechanisms of resistance, and correlation of These Mechanisms with Bacterial Resistance. Clin. Microbiol. Rev. 12: 501-517.

Gomes, R. C.; Semedo, L. T. A. S., Soares, R. M. A., Alviano, C. S.; Linhares, L. F. and Coelho, R. R. R. (2000a): Chitinolytic activity of actinomycetes from a Brazilian tropical soil active against

Augustine, S.K., Bhavsar, S.P. and Kapadnis, B.P. (2005): A non-polyene antifungal antibiotic from *Streptomyces albidoflavus* PU 23. J. Biosci., 30(2): 201-211.

Castillo, U., Myers, S., Browne, L., Strobel, G., Hess, W. M., Hanks, J. and Reay, D. (2005): Scanning electron microscopy of some endophytic Streptomycetes in snakevine (Kennedia nigricans). J. Scanning. 27(6): 305-311.

Conn, K.L., Leci, E., Kritzman, G. and Lazarovits, G. (1998): A quantitative method for determining soil population of *Streptomyces* and differentiating potential potato scab-inducing strains. Plant Dis., 82: 631-638.

Dickie, A.G. and Bell, C.R. (1995): A full factorial analysis of nine factors influencing in vitro antagonistic screens for potential biocontrol agents. Canadian. J. Microbiol., 41 : 284-293. Dickie & Bell (19 95)

El-sheriff, M. Grossmann, F. (1994): Comparative investigations on the antagonistic activity of fluorescent *pseudomonads* against *Gaeumannyces graminis* var. tritici in vitro and in vivo. Microbiol. Res., 149: 371-377.

El-Tarabily K.A., Hardy G.E., Sivasithamparam K., Hussein A.M., KurtboÈ ke I.D. (1997): The potential for the biological control of cavity spot disease of carrots caused by *Pythium coloratum* by streptomycete and non-

production. World J. Microbiol. Biotechnol. 25, 649-655.

Kim, H.J., Kim, D.Y., Nam, J.S., Bae, K.S., Rhee, Y.H. (2003): Characterization of an extracellular medium-chain length poly(3-hydroxyalkanoate) depolymerase from *Streptomyces* sp. KJ-72. Antonie van. Leeuwenhoek. 83: 183-189.

Kunoh, H. (2002): Endophytic actinobacteria: attractive biocontrol agents. J. Gen. Plant Pathol. 68, 249-252.

Kutzner, H. and Wendisch, F. (1992): "The Family Streptomycetes". The Prokaryoties. Ed. Albert Balows, Hans Griper, Martin Dwerkin, Wim Harder, Karl Schleifer. New York: Springer-Verlag New York Inc.

Kuster, E. and Williams, T. (1964): Selection of media for isolation of *Streptomycetes* . *Nature*., 202 , 928 .

Landa, B.B., Hervas, A., Bettiol, W. and Jimenez-diaz, R.M. (1997): Antagonistic activity of bacteria from the chickpea Rhizosphere against *Fusarium oxysporum* f. sp. *Ciceris*. Phytoparasitica, 25: 4, 1997.

Lemriss, S., Laurent, F., Couble, A., Casoli, E., Lancelin, J.M., Bonaccio, D.S., Rifai, S., Fassaouane, A, and Boiron, P. (2003): Screening of nonpolyenic antifungal metabolites produced by clinical isolates of Actinomycetes. Can.Jour. Microbiol., 49 (11), 669-674.

Othman, R.M.(2003): Studies on the production of antifungal by some Actinomycetes phytopathogenic fungi. World J. Microbiol. and Biotechnol., 16: 109-110.

Gomes, R. C., Semedo, L. T.A.S., Soares, R.M.A., Alviano, C.S., Linhares, L.F. and Coelho, R.R.R. (2000b): Chitinolytic activity of actinomycetes from a cerrado soil and their potential in biocontrol. Letters in Appl. Microbiol., 30: 146-150.

Gupte, M., Kulkarni, P. and Ganguli, B.N. (2002): Antifungal antibiotics, *Appl Microbiol Biotechnol* 58, pp. 46–57.

Hasegawa, S., Meguro, A., Shimizu, M., Nishimura, T., Kunoh, H. (2006): Endophytic actinobacteria and their interactions with host plants. Actinomycetologia 20, 72-81.

Igarashi, Y. (2004): Screening of novel bioactive compounds from plant-associated actinobacteria. Actinomycetologia 18, 63-66.

Jiang, C.L. and Xu L.H. (1996): Diversity of aquatic actinomycetes in lakes of the middle plateau, Yunnan, China, *Appl Environ Microbiol* 62 , pp. 249–253.

Jimenez-Esquilin, A.E. and Roane, T.M. (2005): Antifungal activities of actinomycete strains associated with high-altitude sagebrush rhizosphere. J. Ind. Microbiol. Biotechnol., 32(8): 378-381.

Khamna, S., Yokota, A., Lumyong, S. (2009): Actinobacteria isolated from medicinal plant rhizosphere soils: diversity and screening of antifungal compounds, indole-3-acetic acid and siderophore

Williams, S.T., Goodfellow, M., Wellington, E.M.H., Vickers, J.C., Anderson, G., Sneath, P.H.A.,Sackin,M.J. and Mortimer, A.M. (1983): A probability matrix for identification of some Streptomycetes. J. General Microbial., 129, 1815-1830.

Valanarasu, M., Kannan, P., Ezhilvendan, S. Ganesan, G., Ignacimuthu, S. and Agastian P. (2010): Antifungal and antifeedant activities of extracellular product of *Streptomyces* spp. ERI-04 isolated from Western Ghats of Tamil Nadu. Journal de Mycologie Médicale, 20, 290-297.

Vicente,M. F., Basilio, A. Cabello, A. Peláez F. (2003): Microbial natural products as a source of antifungals. Clinical Microbiology and Infection, 9(1): 15–32.

Yuan, W.M. and Crawford, D.L. (1995). Characterization of *Streptomyces lydicus* WYEC 108 as apotential biocontrol agent against fungal root and seed rots Appl . Environ . Microbiol., 61:8,3119-3128.

isolates. M.SC. Thesis, Department of Botany, Faculty of Science, Ain Shams University, Cairo, Egypt.

Shirling, E. B. and Gottlieb, D. (1966): Methods for characterization of *Streptomyces* sp. Int. J. System. Bact., 16, 313.

Thakur, D., Yadav, A., Gogoi, B.K. and 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. J. de Mycologie Médicale / J. Medical Mycology 17, 4, P. 242-249

Umechuruba, C.I. and Nwachukwa ،E.D. (1997): The effect of filtrates of seed borne fungi of African yam been on seed germination and seedling development. Global. J. Pure and Appl. SCI., 3(2): 165-176.

Waksman, S.A. (1959): The Actinomycetes, Vol. 1, Nature, Occurance and Activities, Baltimore. The Williams and Wilkin. Company U. S. A.

Ass. Univ. Bull. Environ. Res. Vol. 15 No. 1 March 2012

ANTIFUNGAL ACTIVITIES OF SOME *STREPTOMYCES STRAINS.* ISOLATED FROM RHISOSPHERES OF WILD *OLEA EUROPAE* AND *JUNIPER PROCERA* TREES

Al-Zahrani, S. H. M.* and Al-Zahrani, K. K. H.**

*Dept. of Biology, Faculty of Science College for Girls and **King Fahd Medical Research Center, King Abdul Aziz University, Saudi Arabia

ABSTRACT:

In the present study, 191 isolates of *Streptomyces* sp. were isolated from soil samples of the rhizospheres of *Olea europae* and *Juniper procera* trees from forests in Al-Baha region, Saudi Arabia. The isolates were grown on solid starch-casein medium and tested for their antifungal acivities against some fungi. 88% of the isolates showed antifungal activity against seven fungi, *Aspergillus ochraceus, A. nidulans, Circinella mucoroides, A. awamorii, A. terreus, Pencillium griseofulvum* and *A. niger.* All isolates were able to completely inhibit the growth of *A. achraceus* and *A. niger.* Starch · casein was the best medium for producing the highest antifungal activity against most of tested fungi. The inhibition of growth of the tested fungi was increased by increasing the concentration of *Streptomyces* filtrate (grown on broth starch-casein medium).