التحري عن الفعالية المضادة للجراثيم لبعض عزلات *Streptomyces* المعزولة من محافظة نينوى

Investigation of the Antimicrobial Activity of Some *Streptomyces* spp. Isolated from Nineveh Province

محمد بشير اسماعيل قاسم
سهي سليمان ايليا
قسم علوم الحياة / كلية التربية / جامعة الموصل

M. B. I. Kassim

S. S. Eleya

Dept. of Biology / College of Education / Mosul University

المستخلص

تم الحصول على 62 عزلة مختلفة لجنس *Streptomyces* من 17 عينة ترب جمعت من مواقع مختلفة لمحافظة نينوى بينت 23 عزلة فقط نشاط ضد البكتيريا المختبرة من الأنواع الموجبة و السالبة لصبغة كرام . ابدت عزلة واحدة نشاط تضاد عالي ضد البكتيريا *Staphylococcus aureus* . تم اختبار هذه البكتيريا و شخصت بكونها *Streptomyces lavendulae* على اساس الاختبارات الميكروسكوبية والشكلية و الكيموحيوية وحساسيتها لبعض المضادات الحيوية . تم عزل المركب ذو النشاط الحيوي الذي تنتجه عزلات *S. lavendulae* على لوح كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة ، وكان R_f للمركب 0.85 . بين طيف الأشعة فوق البنفسجية للمركب الفعال المذاب في الميثانول ذروة واحدة فقط عند 280 نانومتر . وبالأعتماد على هذه البيانات يمكن الاستنتاج ان المركب الفعال من المحتمل ان يعود الى مجموعة الماكروليد من المضادات الحيوية .

Abstract

A Total of 62 different *Streptomyces* isolates were recovered from 17 samples of soil collected from different sites of Nineveh Province. Only 23 isolates showed activity against test Gram-positive and Gram-negative bacteria. One isolate showed high antimicrobial activity against *Staphylococcus aureus*, was selected and identified as *Streptomyces lavendulae* on the bases of microscopic, morphologic, biochemical tests and its sensitivity to some antibiotics. The bioactive compound produced by *S. lavendulae* was isolated on TLC plate (R_f 0.85). The UV spectrum of the active compound in methanol showed one peak at 280 nm. From these data it could be concluded that the active compound probably belongs to macrolide antibiotics group.

المقدمة

الأكتينوميستات Actinomycetes بكتيرية خيطية موجبة منتشرة بشكل كبير في الطبيعة و تمثل جزء مهم من فلورا الأحياء المجهرية لأكثر البيئات الطبيعية كالتربة و المياه العذبة و البحيرات و قاع الأنهر وغيرها من البيئات. تلعب الأكتينوميستات الدور الكبير في انتاج المركبات ذات النشاط الاحيائي التضادي [1] . و من اجناس الأكتينوميستات يمثل جنس *Streptomyces* احد الاجناس المهمة اقتصادياً بسبب كونه يشكل 50% من أكتينوميستات التربة و 75% من المركبات ذات النشاط التضادي للبكتيريا الممرضة تنتج بواسطة انواع جنس *Streptomyces* [2] الأكتينوميستات تنتج انواع مختلفة من المضادات الحيوية منها الأمينوكلايكوسايدات و الكلوبيبتايدات و البيتا لكتامات و النيوكليوسايدات و الببتايدات و البولينات و النتراسايكلينات [3] و كنتيجة للزيادة في الممرضات الجرثومية المقاومة للمضادات الحيوية المصنعة و لمحدودية الفعالية الدوائية للمضادات الحيوية الحالية ، هناك ضرورة ملحة لايجاد مركبات جديدة مضادة للحياة المجهرية قد تنتجها عزلات جنس *Streptomyces* غير المعزولة [4] .

Keywords: Actinomycetes, Streptomyces, Antibiotics

هدف البحث الحالي ينصب في عزل و تشخيص و دراسة الفعالية المضادة للجراثيم المرضية لبعض عزلات *Streptomyces* المعزولة من ترب مناطق متفرقة من محافظة نينوى مع محاولة عزل و تشخيص المادة الفعالة مواد و طرق البحث

جمع العينات

جمعت 17 عينة ترب لعزل بكتيريا *Streptomyces* spp ابتداءً من تاريخ 2006/6/24 و على مدى ثلاثة أشهر من انحاء و مناطق مختلفة من محافظة نينوى ، و تضمنت ترب حقول الذرة و الجت و الخضراوات و اشجار الفاكهة في منطقة الرشيدية و اطراف نهر دجلة و حدائق مختلفة في ناحية القوش و حدائق منزلية و حدائق جامعة الموصل و على عمق (5-15) سم بعد ازالة 3 سم من سطح التربة . وضعت العينات في اكياس بولي اثيلين معقمة و اغلقت باحكام ثم وضعت في الثلاجة لحين الاستخدام .

الأوساط الزرعية

1. وسط اكار مستخلص الخميرة و الكليسرول *Glycerol yeast extract agar medium*

حضر باذابة 5غم كليسرول ، 2 غم مستخلص الخميرة ، 0.1 غم K_2HPO_4 25، غم بيبتون ، 15 غم اكار في لتر ماء مقطر عقم الوسط بجهاز Autoclave عند درجة حرارة 121م و تحت ضغط 15 باوند/انج مربع لمدة 15 دقيقة و اضيف للوسط المضاد الحيوي Nystatin بتركيز 50 مايكروغرام/ مل بعد ان برد الى درجة حرارة 40م [5] . استخدمت نفس ظروف التعقيم المذكورة لتعقيم جميع الأوساط المستخدمة في هذا البحث .

2. وسط اكار الاسبراجين و الكليسرول *Glycerol asparagin agar medium*

حضر باذابة: 1 غم اسبراجين ، 10 غم كليسرول ، 1 غم K_2HPO_4 20، غماكار، و 1 مل من محلول الأملاح الضئيلة Trace salts solution في لتر ماء مقطر ضبط الأس الهيدروجيني عند 7.4 و عقم بالـ Autoclave [6] .

3. وسط الاكار المغذي *Nutrient agar medium*

حضر هذا الوسط حسب تعليمات الشركة المجهزة (Oxiod) باذابة 23 غم من الاكار المغذي في 1 لتر ماء مقطر و ضبط الأس الهيدروجيني عند 7.2 و عقم بالمعقم Autoclave .

4. وسط اكار الكلوكوز و مستخلص الخميرة و التربتون *Trypton – yeast extract glucose agar medium*

حضر باذابة 10 غم كلوكوز ، 3 غم مستخلص الخميرة ، 5 غم تربتون ، 1 غم K_2HPO_4 ، 1 غم KH_2PO_4 20، غماكار في لتر ماء مقطر و عقم بالـ Autoclave [7] .

5. وسط اكار الأملاح المعدنية و النشاء *Starch mineral salts agar medium*

حضر باذابة 10 غم نشاء ، 2 غم $(NH_4)_2SO_4$ ، 2 غم $CaCO_3$ (2)، 1 غم K_2HPO_4 ، 1 غم $NaCl$ ، 20 غم اكار، في لتر ماء مقطر و ضبط الأس الهيدروجيني عند 7.0 و عقم بالـ Autoclave [8] .

6. وسط اكار زابك – دوكس *Czapic – Dox agar medium*

حضر باذابة 30 غم سكروز ، 3 غم $NaNO_3$ ، 1 غم K_2HPO_4 ، 0.5 غم $MgSO_4$ ، 0.5 غم KCl ، 0.01 غم $FeSO_4$ ، 15 غم اكار في لتر ماء مقطر و ضبط الأس الهيدروجيني عند 7.3 و عقم بالـ Autoclave [9]

7. وسط انتاج المضادات الحيوية *Antibiotics production medium*

حضر وسط انتاج المضادات الحيوية المحور باذابة 0.8 غم $NaCl$ ، 1 غم NH_4Cl ، 0.1 غم KCl ، 0.1 غم K_2HPO_4 ، 0.04 غم $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ ، 10 غم كلوكوز ، 3.0 غم مستخلص الخميرة في لتر ماء مقطر و ضبط الأس الهيدروجيني عند (7.3) و عقم بالـ Autoclave [10] .

تشخيص عزلات *Streptomyces*

شخصت العزلات التي يشك انها تابعة لجنس *Streptomyces* اعتماداً على لون و شكل المستعمرات على وسط اكار الأملاح المعدنية و النشاء و شكل الغزل الهوائي و الأرضي و ترتيب سلاسل السبورات باستخدام تقنية الزرع على الشريحة الزجاجية slid culture technique [6 ، 11] .

بكتيريا الاختبار

استخدمت البكتيريا *Staphylococcus aureus* و *Bacillus subtilis* و *Escherichia coli* و التي تم الحصول عليها من قسم علوم الحياة / كلية العلوم / جامعة الموصل لغرض تحديد الفعالية التضادية لعزلات *Streptomyces* المعزولة .

أختبار الفعالية التضادية لعزلات *Streptomyces*

لغرض اختبار قابلية عزلات *Streptomyces* لإنتاج المضادات الحيوية تم استخدام طريقة الانتشار بواسطة اقراص الاكار Agar discs diffusion method [12] .

تشخيص عزلة *Streptomyces* المنتخبة

تم تشخيص العزلة المنتخبة و التي اعطت اعلى تضاد ضد بكتيريا *Staph. aureus* الى مستوى النوع اعتماداً على الأختبارات التشخيصية [8،11،13،14] .

تحضير اللقاح

حضر وسط اللقاح من مكونات وسط الإنتاج نفسها ، و وزع في دوارق زجاجية مخروطية سعة 250مل بواقع 50 مل لكل دورق عقم ثم لُفَّحَ بنقل جزء من مزرعة بكتيريا *Streptomyces* النامية على وسط اكار الأسبراجين و الكليسيول ثم وضعت الدوارق في الحاضنة الهزازة عند درجة حرارة 28 ± 1 م و بسرعة رج 140 دورة / دقيقة لمدة 3 ايام .

الظروف الزرعية

حضر وسط أنتاج المضادات الحيوية في دوارق زجاجية مخروطية سعة 250مل بواقع 50مل لكل دورق ، سدت الدوارق بأحكام ثم عُمِّت بجهاز المعقم ، تركت الدوارق لتبرد ثم لُفَّحَت باللقاح المحضر للعزلة المنتخبة بعمر ثلاثة ايام و بنسبة 2% حجم/حجم وضعت الدوارق في الحاضنة الهزازة عند درجة حرارة 28 ± 1 م و بسرعة رج 140 دورة / دقيقة لمدة 7 ايام .

استخلاص المضاد الحيوي للعزلة المنتخبة و دراسة فعاليته البايولوجية

تمت عملية استخلاص المضاد الحيوي بحسب [4،10] و لغرض دراسة الفعالية البايولوجية للمادة المستخلصة تم استخدام طريقة الانتشار بالأقراص حيث حضرت اقراص من ورق الترشيح Whatmann No.1 بقطر 6سم و غمرت بالمادة المستخلصة المذابة في الميثانول ثم جففت في الهواء ووضعت في اطباق حاوية على وسط الأكار المُغذَى و الملقح ببكتيريا *S. aureus* حُضِنَت الأطباق عند درجة حرارة 37 ± 1 م لمدة 24 ساعة و ثم قياس المنطقة الخالية من النمو للبكتيريا المختبرة .

تنقية المضاد الحيوي

بعد استخلاص المادة الفعالة اجريت عملية فصل المركبات التي تحتويها المادة المستخلصة باستخدام تقنية كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة TLC اذ استخدمت الواح الطبقة الرقيقة silica gel 25 x 20 x 20 40f 254 Merk plate سم. وأستخدم محلول التشرب المتكون من بيوتانول: حمض الخليك : ماء : 4 : 1 : 2 ثم أظهرت بقع المركبات المفصولة اما باستخدام التبخير بواسطة اليود او تعريض اللوح للأشعة فوق البنفسجية تم قياس R_f للمادة المفصولة و تحديد الفعالية البايولوجية لها بقشط البقع من اللوح و استخلاص المادة الفعالة من البقع المقشوفة بواسطة الميثانول و ثم ترشيح المحلول بواسطة ورق الترشيح و اختبار فعالية المادة المستخلصة ضد بكتيريا *Staph. aureus* بطريقة الانتشار بالأقراص ثم قياس طيف الأشعة فوق البنفسجية [4] بأستخدام جهاز المطياف UV. Visible Spectrophotometer طراز Camspec M330 UK .

النتائج و المناقشة**العزل**

تم عزل 62 عزلة تابعة الى جنس *Streptomyces* من 17 عينة ترب جمعت من أنحاء و مناطق مختلفة من محافظة نينوى . اختيرت العزلات اعتماداً على المظهر الطباشيري للمستعمرات النامية على اوساط العزل و انتاجها رائحة الأرض الرطبة [15، 16] .

بلغ معدل اعداد المستعمرات (1-45) مستعمرة/ غم من التربة في حين بلغ معدلها في دراسة [17] 29.2 مستعمرة/ غم و قد كان لمعاملة التربة بمادة كاربونات الكالسيوم CaCO_3 بنسبة 10-1 و تجفيفها بدرجة 37م لمدة اربعة ايام دور كبير في زيادة اعداد عزلات جنس *Streptomyces* في العزل الأولي ذلك أن تجفيف

التربة يؤدي الى اختزال اعداد البكتريا الخضرية من جهة وان اضافة كاربونات الكالسيوم تؤدي الى رفع قيمة الأس الهيدروجيني الأمر الذي يؤدي الى تحديد نمو معظم الفطريات من جهة اخرى و بذلك تنمو البكتريا الخطية [18] .

التشخيص

شخصت العزلات التابعة الى جنس *Streptomyces* باستخدام تقنية الزرع على الشريحة الزجاجية حيث تعد هذه الطريقة من افضل الطرق في التشخيص على مستوى الجنس لما لها من دور في اظهار شكل الغزل الأرضي و الهوائي و الذي يميز الأجناس التابعة للبكتريا الخيطية عن بعضها البعض [11] . يتميز الغزل الأرضي للعزلات بكونه شديد التفرع و غير مقسم و لا يحمل سبورات ، بينما ظهر الغزل الهوائي بشكل خيوط غامقة و اكثر سمكاً و اقل تفرعاً من الغزل الأرضي شكل (1) . يحمل الغزل الهوائي سلسلة طويلة من السبورات المحاطة بغمد ليفي يسمى Sporophore و تأخذ اشكالاً مختلفة حسب ترتيب السبورات فاما ان تأخذ شكلاً مستقيماً Rectus او حلزونياً Spiral او مستقيماً ذات نهاية معقوفة Retinaculum-Apertum او مستقيماً متموجاً Rectus-Flexibilis [8] . و كان ترتيب سلاسل السبورات لأغلب العزلات ذات شكل حلزوني ، اذ ظهر في 24 عزلة يليه الشكل المستقيم ذو نهاية معقوفة و الذي ظهر في 22 عزلة ، كما تباينت العزلات في اللون الغزل الهوائي عند تكرار زرعها و تنميتها على وسط اكار الأملاح المعدنية و النشاء و كان اللون الرصاصي هو السائد بين العزلات اذ ظهر في 45 عزلة جدول (1) و تتفق هذه النتائج مع [17] .

شكل(1): شكل الغزل الأرضي و الهوائي للعزلات التابعة الى جنس *Streptomyces* بقوة تكبير X 40

A - الغزل الأرضي

B - الغزل الهوائي

جدول(1): ألوان الغزل الهوائي للعزلات التابعة الى جنس *Streptomyces* و قدرتها على انتاج صبغة الميلانين و ترتيب سلاسل الاسبورات في الغزل الهوائي

ترتيب سلاسل الاسبورات	إنتاج صبغات ذاتية أخرى	النسبة المئوية	إنتاج صبغة الميلانين على وسط Tyrosing agar	ألوان العزل الهوائي	النسبة المئوية	عدد العزلات
S 18						
RA 15	2	40.3	25	رصاصي	72.6	45
R 6						
RF 6						
S 3						
RA 3	-	9.7	6	إخضر	12.9	8
R2						
RA 3						
S 1	-	6.4	4	أحمر	8.1	5
R 1						
RA 1	-	3.2	2	أبيض	3.2	2
RF 1						
S	-	1.6	1	أزرق	3.2	2
						العدد الكلي
60	2		38			62

(+) : منتجة لصبغة الميلانين

- : لا يوجد

S : حلزوني

RA : مستقيم نهايته معقوفة

R : مستقيم

RF : مستقيم متموج

انتاج المضادات الحيوية

اختبرت قدرة 62 عزلة من عزلات *Streptomyces* على انتاج مضادات حيوية ضد انواع بكتريا موجبة و سالبة لصبغة كرام . اظهرت 23 عزلة 37.09% من العزلات تأثيراً ضد بكتريا *Bacillus subtilis* بينما اظهرت 3 عزلات 4.83% تأثيراً ضد البكتريا *Escherichia coli* وعزلة واحدة ضد البكتريا *Staphylococcus aureus* جدول (2) ، اتفقت هذه النتيجة مع ما توصل اليه السماك [19] اذ اظهرت اغلب عزلات *Streptomyces* تأثيراً على الأنواع البكتيرية الموجبة و السالبة لصبغة كرام و من الأنواع المستخدمة في هذا البحث ، في حين اظهرت عزلات اخرى تأثيراً عالياً على النوع *S.aureus* و لم تظهر تأثيراً على النوعين *E.coli* و *B.subtilis* [20] .

تم انتخاب العزلة التي اعطت اعلى تأثيراً ضد البكتريا *S.aureus* للتجارب الأخرى و تم تشخيصها الى مستوى النوع بحسب الاختبارات التي أجريت [8،11،13،14] وكما مبين في جدول (3) حيث تبين انها تعود على الأغلب الى النوع *S.lavendulae* علماً انها تعد من الأنواع الصعبة التشخيص [11] .

جدول (2): قدرة العزلات التابعة لجنس *Streptomyces* على انتاج المضادات المايكروبية ضد بعض الانواع البكتيرية (قطر منطقة التثبيط مقاسة بالملم)

العزلات	النسبة المئوية للعزلات المنتجة	أقطار مناطق التثبيط ملم
<i>Bacillus subtilis</i>	23 (37.09)	20-15
<i>Escherichia coli</i>	3 (4.83)	20-17
<i>Staphylococcus aureus</i>	1 (1.61)	25
المجموع الكلي للعزلات	62 عزلة	

جدول (3): الاختبارات التشخيصية للعزلة المنتخبة

الاختبارات	النتيجة
صبغة كرام	+
الصبغة المقاومة للحامض	-
شكل سلسلة السبور	مستقيم نهايته معقوفة RA
لون الغزل الهوائي	أحمر
تكوين السبورات على الغزل الارضي	-
Tyrosine agar على وسط	+
انتاج صبغات ذائبة اخرى	-
الاختبارات الأنزيمية	
الكتاليز	+
الأوكسيديز	-
تحلل الجلوتين	+
تحلل اللستين	+
اختزال النترات	+
انتاج H ₂ S	-
تحلل النشاء	+
تحلل الكازاين	+
انتاج انزيم DNase	-
تحلل الدم	-
تحلل الاسكوالين	+
تحلل اليوريا	+
استهلاك المصادر الكربونية	
كلوكوز	+++
فركتوز	++
سكرور	±
مانيتول	-
اينوسيتول	±
رافنوز	-
رامنوز	+++
زايلوز	++
ارابينوز	++
كالكتوز	±
لاكتوز	±
مالتوز	+++
رايبوز	-
مانوز	+++
نشاء	+++
كليسيرول	+++
القدرة على النمو باستخدام تراكيز مختلفة من المواد الكيميائية:	
NaCl(1.5%)	+
NaCl(3%)	+
NaCl(5%)	-
NaCl(7%)	-
NaCl(15%)	-
NaCl(20%)	-
صوديوم ازايد (0.01)%	-
فينول (0.1)%	-

-	القدرة على النمو في (45)°م
+	القدرة على تثبيط نمو البكتيريا الموجبة
+	<i>B.subtilis</i>
+	<i>S.aureus</i>
-	<i>E.coli</i>
-	شكل النمو في الوسط السائل Nutrient broth
-	بشكل كرات صغيرة منتشرة في الوسط الرائق مع انتاج صبغة بنية
R	حساسية الـ <i>Streptomyces</i> للمضادات الحيوية
R	Chloramphenicol (30 مايكرو غرام/مل)
R	Erythromycin (15 مايكرو غرام/مل)
R	Gentamycin (10 مايكرو غرام/مل)
R	Lincomycin (2 مايكرو غرام/مل)
S	Neomycin (30 مايكرو غرام/مل)
R	Rifampin (5 مايكرو غرام/مل)
R	Streptomycin (10 مايكرو غرام/مل)
S	Tetracycline (30 مايكرو غرام/مل)
R	Vancomycin (30 مايكرو غرام/مل)

- سالب
+ موجب متوسط
++ موجب جيد
+++ موجب جيد جداً
± مشكوك به
R : مقاوم

تشخيص المضاد الحيوي

تم تشخيص المضاد الحيوي المنتج من قبل العزلة المنتخبة *S. lavendulae* باستخدام كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة اذ ظهر المضاد الحيوي بشكل بقعة واحدة فقط على لوح الفصل بعد تعرضه للأشعة فوق البنفسجية او التبخير بواسطة اليود بقيمة R_f تساوي 0.85 حيث يمكن القول أن *S. lavendulae* تنتج نوع واحد من المضادات الحيوية، ذلك ان بعض أنواع جنس *Streptomyces* تنتج أكثر من نوع واحد من المضادات الحيوية [21].
تم عزل المضاد الحيوي من البقعة الظاهرة على لوح الفصل حيث تبين انه عديم اللون قد أختبرت فعاليته التثبيطية تجاه بكتريا *S. aureus* باستخدام طريقة الانتشار بالأقراص اذ بلغ قطر التثبيط 25 ملم .
تم قياس طيف الأشعة فوق البنفسجية للمضاد الحيوي المذاب في الميثانول حيث ظهرت ذروة الامتصاص عند 280 نانوميتر شكل (2) واعتماداً على [22] فان المضاد الحيوي المنتج من قبل البكتريا *S. lavendulae* يعود على الاغلب الى مجموعة مضادات الماكروليد .

وانطلاقاً من حقيقة كون البكتريا *Streptomyces* المنتجة للمضاد الحيوي مقاومة له [21] ، و ان الكائن المجهرى حساس لأحد المضادات الحيوية يكون حساساً الى حد ما للمضادات الشبيهة و العكس صحيح [12] . فقد تم دراسة حساسية البكتريا *S. aureus* للمضادات الحيوية جدول (4) حيث اظهرت البكتريا *S. aureus* حساسية للمضادات الحيوية Tetracycline و تكون البكتريا *Streptomyces* حساسة له ايضا لذا فان المضاد الحيوي المنتج لا يعود الى هذه المجموعة من المضادات الحيوية كما ان البكتريا *Staph. aureus* مقاومة للمضادين الحيويين Lincomycin و Neomycin مما يدل على ان المضاد المنتج ايضا لا يعود الى هذه الانواع من المضادات الحيوية وبما انها اظهرت حساسية للمضاد الحيوي Erythromycin و اظهرت البكتريا *S. lavendulae* مقاومة له جدول (3) ، فهذا قد يعني ان المضاد الحيوي المنتج يعود الى مجموعة مضادات الماكروليد [12] .

شكل (2): طيف الأشعة فوق البنفسجية للمضاد الحيوي المنتج من قبل العزلة المنتخبة

جدول (4) حساسية البكتيريا *S. aureus* للمضادات الحيوية

النتيجة	المضاد الحيوي
S	Cloramphenicol
S	Erthromycin
S	Gentamycin
R	Lincomycin
R	Neomycin
S	Rifampin
S	Streptomycin
S	Tetracyclin
S	Vancomycin

S: حساسية

R: مقاومة

المصادر

1. Sanglier, J.J., Wellington, E.M.H, Behal, V. Feidler, H.P., Ghrobel, R.E., Finance, C., Hacene, M., Kamoun, A., Kelly, C., Mercer, D.K., Prinzi, S. and Tringo, C., (1993). Novel bioactive compounds from actinomycetes. Res. Microbiol. 144: 661-663
2. Prabavathy, V.R., Mathivanan, N., and Murugesan, K., (2006). Control of blast and sheath blight diseases of rice using antifungal metabolites produced by *Streptomyces* sp. PMS Biological Control. 39: 313-319
3. Berdy, J., (2005). Bioactive microbial metabolites. J. Antibiot. 58: 1-26
4. Sahin, N., Ugur, A., (2003). Investigation of the antimicrobial activity of some *Streptomyces* isolates. Turk. J. Biol. 27: 79-84
5. Oskay, M., Tamer, U. and Azeri, C., (2004). Antibacterial activity of some actinomycetes isolated from farming soils of Turkey. Afr. J. Biotechnol. 3: 441-446
6. Williams, S. T., and Cross, T., (1971). Actinomycetes. In method in Microbiology. Vol 4 Booth, C. pp295.

7. Wu, R-Y. and Chen, M-H.,(1995). Identification of the *Streptomyces* strain KS 3-5. Bot. bull . Acad Sin., 36:201-205
8. Williams, S. T., Goodfellow, M., Wellington, E.M.H, Vickers, J.C., Alderson, G., Sneath, P.H.A., Sackin, M.J. and Mortimer, A.M.,(1983).Probability matrix for identification of some *Streptomyces*. J.Gen. Microbiol. 129: 1815-1830
9. Lennette, E.H., Balows,A. Hausler, W.J., and Shadomy, H.J.,(1985). Manual of Clinical Microbiology 4th ed., American Society for Microbiology, Washington, USA
10. Ilic, S.B., Konstantinovic, S.S., and Todorovic, Z.B.,(2005). UV/VIS analysis and antimicrobial activity of *Streptomyces* isolates. Facta universitalis. Series: Medicine and Biology, 12:44-46
11. Holt, J.G., Kreig, N.R., Sneath, P.H.A., Staley, J.T. and Williams, S. T., Bergey's,(1994).Manual of Determinative Bacteriology. 9th ed.,
12. Egorov, N.S. Antibiotics. A scientific approach.
13. Pridham, T.G. and Gottlieb, D.,(1984). The utilization of carbon compounds by some actinomycetes as an aid for species determination. J. Bacteriol., 56: 107-114
14. Lechevalier, H.A. and Lechevalier, M.P.,(1981). Introduction to the Order Actinolycetales. In The Prokaryotes: A Handbook on Habitats, Isolation and Identification of Bacteria., Starr, M.P. Stolp, H., Truper, H.G., Balows, A. and Schlegel, H.G.(eds). Vol. I., Springer-Verlag.
15. Alexander, M.,(1977). Introduction to soil Microbiology 2nd ed., John wiley and Sons.
16. Carpenter, P.L.,(1977). Microbiology. 4th ed.
17. Saadoun, I., Al-Momani, F., Malkawi, H., and Mohammad, M.J.,(1999). Isolation, Identification and analysis of antibacterial activity of soil *Streptomyces* isolates from north Jordan. Microbios., 100: 41-46
18. نهر, حبيب صاحب, معروف, بهاء الدين و المحنة علي محسن نعمة(1997). عزل و تشخيص البكتيريا المنتجة للمضادات الحيوية من مصادر مختلفة. مجلة جامعة بابل / العلوم الصرف و التطبيقية. 3: 208-201.
19. السماك, اسراء غانم حازم محمد. دراسة تصنيفية لمجموعة البكتيريا الخيطية(2006). اطروحة دكتوراة كلية العلوم /جامعة الموصل/ الموصل / العراق
20. Moncheva, P., Tishkov, S., Dimitrova, N., Chipeva, V., Anatonova-Nikolokva, S., and Bogatzevska, N.(2002). Characteristics of soil actinomycetes from antarctica. J. Culture collections., 3: 3-14
21. Waksman, S.A. (1967).The Actinomycetes. A Summary of current knowledge.
22. Berdy, J.(1980). Hand Book of Antibiotic compound Vol. 11. Macrocyclic Lacton (Lactam) Antibiotics.