

## Isolation and Characterization of *Streptomyces diastaticus* from Soil and Evaluation of Its Activity Against some Human Pathogenic Microorganisms

Alma abdoallah Yazji<sup>\*</sup> 

Dr. Asmahan Zinab<sup>\*\*</sup>

Dr. Yasser Hammad<sup>\*\*\*</sup>

(Received 19 / 8 / 2025. Accepted 18 / 2 / 2026)

### □ ABSTRACT □

The dominance of multidrug-resistant pathogenic microorganisms, which are difficult to control, has necessitated the search for new therapeutic agents. *Streptomyces* bacteria are among the most prolific producers of secondary metabolites, including antibiotics. Strains of *Streptomyces* were isolated from soil collected in the garden of the Faculty of Science. The soil samples were cultured on three types of growth media. The colonies were characterized by the formation of a white aerial mycelium and a substrate mycelium embedded in the medium with a light brown to dark brown color, along with multiple hooked spore chains. Diffusible pigments were observed in the medium. Based on Bergey's Manual of Systematic Bacteriology and genetic analysis at the Atomic Energy Commission, the bacterial isolate was identified as *Streptomyces diastaticus*. This isolate exhibited antibacterial activity against human pathogenic bacteria, including Gram-negative (*Escherichia coli*) and Gram-positive (*Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*) strains. The inhibition zone diameters of the ethyl acetate extract of *S. diastaticus* ranged from 6 to 11 mm against *P. aeruginosa*, and from 11 to 17 mm against *S. aureus*.

**Keywords:** Streptomyces sp., soil, ethyl acetate, antibacterial activity, human pathogenic



Copyright :Latakia University journal (formerly Tishreen) -Syria, The authors retain the copyright under a CC BY-NC-SA 04

---

\* Master student ,Faculty of Science, Lattakia University, (formerly Tishreen) Lattakia, Syria.

[alma.yazji@latakia-univ.edu.sy](mailto:alma.yazji@latakia-univ.edu.sy)

\*\*Professor ,Faculty of Science, Lattakia University(formerly Tishreen), Lattakia, Syria [asmaham@tishreen.edu.sy](mailto:asmaham@tishreen.edu.sy)

\*\*\* Professor, Faculty of Agricultural Engineering Lattakia University, (formerly Tishreen) Lattakia, Syria [yaserhammad@latakia-univ.edu.sy](mailto:yaserhammad@latakia-univ.edu.sy)

## عزل وتوصيف النوع *Streptomyces diastaticus* من التربة واختبار فعاليته تجاه بعض الجراثيم الممرضة للإنسان

المى عبدالله يازجي\*

د. أسمهان زينب\*\*


د. ياسر حماد\*\*\*

(تاريخ الإيداع 19 / 8 / 2025. قبل للنشر في 18 / 2 / 2026)

### □ ملخص □

فرضت سيطرة الأحياء الدقيقة الممرضة المقاومة للصادات الحيوية، والتي يصعب تجنبها، ضرورة البحث عن علاجات دوائية جديدة. تُعدّ جراثيم *Streptomyces* من أكثر أنواع الجراثيم إنتاجاً للمستقلبات الثانوية، بما في ذلك الصادات الحيوية. تم عزل سلالات من جراثيم *Streptomyces* من تربة حديقة كلية العلوم. زُرعت عينات التربة على ثلاثة أنواع من الأوساط الزرعية، تميزت المستعمرات بتكوين مشيجة هوائية بيضاء اللون، ومشيجة إعاشية مغروسة في الوسط ذات لون بني فاتح إلى بني غامق، مع سلاسل أبواغ حلقيّة متعددة ومعقوفة. مع ملاحظة أصبغة ذائبة في الوسط. تم تصنيف العزلة الجرثومية استناداً إلى دليل بيرجي والتحليل الجيني لدى هيئة الطاقة الذرية على أنها النوع *Streptomyces diastaticus* أظهرت هذه العزلة فعالية تجاه بعض الجراثيم الممرضة للإنسان، سالبة الغرام (*Escherichia coli*) وموجبة الغرام (*Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*). تراوحت أقطار مناطق التنشيط لمستخلص خلات الإيثيل *S. diastaticus* بين 10-20 ملم ضد *E. coli*، 20-29 ملم ضد *S. aureus*.

الكلمات المفتاحية: *Streptomyces sp.*، التربة، خلات الأيثيل، التضاد الجرثومي، الجراثيم الممرضة للإنسان.

حقوق النشر  : مجلة جامعة اللاذقية (تشرين سابقاً) - سورية، يحتفظ المؤلفون بحقوق النشر بموجب الترخيص CC BY-NC-SA 04

\* طالبة ماجستير، كلية العلوم، جامعة اللاذقية (تشرين سابقاً)، اللاذقية، سوريا.

\*\* أستاذ، كلية العلوم، جامعة اللاذقية (تشرين سابقاً)، اللاذقية، سوريا.

\*\*\* أستاذ، كلية الهندسة الزراعية، جامعة اللاذقية (تشرين سابقاً)، اللاذقية، سوريا.

**مقدمة:**

من المشاكل الأساسية التي تواجه العالم اليوم هي ظهور جراثيم مقاومة للصادات الحيوية والتي أصبحت بحاجة إلى مواد أكثر فعالية، حيث اتجهت الدراسات لاستخدام الجراثيم في إنتاج صادات تجاه الجراثيم الممرضة للإنسان المقاومة للصادات الحيوية الصناعية [1].

تعد التربة الموطن الرئيسي للكائنات الحية الدقيقة التي تعيش مع بعضها البعض، تفرز هذه الأحياء مستقبلات ثانوية مفيدة، منها الصادات الحيوية الهامة في المعالجة الدوائية، وخاصة جراثيم جنس *Streptomyces* الموجودة بغزارة في التربة [2].

لظالما اعتبرت جراثيم *Streptomyces* مصدراً رئيسياً لإكتشاف المركبات الطبيعية في الطب والزراعة، وقد ثبت أن هذه المركبات تمتلك أنشطة بيولوجية مختلفة، بما في ذلك تأثيرات المضادات الحيوية ومضادات الفطريات ومضادات الفيروسات ومضادات السرطانات [3]. ونتيجة لذلك، تم تطوير أدوية وصادات حيوية جديدة. مع ذلك، لم يكن هناك سوى عدد قليل من الاكتشافات الجديدة للمركبات النشطة بيولوجياً في العقود الماضية من *Streptomyces* في الموائل الطبيعية. وبالتالي، هناك الآن بحث متجدد عن أنواع جديدة من *Streptomyces* لديها القدرة على إنتاج العديد من المركبات من سلالة واحدة في الموائل الطبيعية الأقل استكشافاً والتي قد تكون مفيدة في مكافحة الأمراض [4].

ينتمي جنس *Streptomyces* إلى مجموعة الجراثيم الشعية *Actinomycetes* الإيجابية غرام ذات محتوى عالٍ من الغوانين والسيتوزين، وهي وحيدة خلية متفرعة تشكل نوعين من المشائج هما: مشيجة هوائية *Aerial mycelium* و مشيجة ركائزية *Substrate mycelium*

تعتبر جراثيم *Streptomyces* من المجموعات الجرثومية الهامة المنتشرة في جميع البيئات. لها قدرة عالية على إنتاج مستقبلات ثانوية نشطة بيولوجياً حيث أن أكثر من 80 % من الصادات الحيوية الطبيعية مستخرجة من جراثيم *Streptomyces* ذات فعالية واسعة على الجراثيم والفطريات والفيروسات [5] التي تعود لزمر كيميائية مختلفة منها *Macrolides* و *Aminoglycosides* و *Tetracycline's* و *Cephalosporin's* [6].

ولا يزال البحث مستمراً عن مضادات حيوية جديدة للسيطرة على العوامل الممرضة المقاومة في جميع المخابر العالمية من بعض الأحياء الدقيقة، ولذلك من الضروري عزل أنواع جنس *Streptomyces sp.* المتميزة بخصائص التضاد تجاه الجراثيم وخاصة الممرضات البشرية، وجاء هذا البحث تلبية لهذا الغرض.

**أهمية البحث وأهدافه:**

**أهمية البحث:** تتبع أهمية هذا البحث من التزايد المستمر في خطورة الجراثيم الممرضة للإنسان، مقروناً بازدياد مقاومتها للصادات الحيوية، مما أدى إلى تحولها إلى أزمة صحية عالمية تستدعي تعاوناً دولياً لإيجاد حلول فعالة. ومن هذا المنطلق، يهدف البحث إلى عزل سلالات من جراثيم *Streptomyces* من بيئاتها الطبيعية، كالتربة، نظراً لأهميتها الحيوية باعتبارها من أبرز الكائنات الدقيقة المنتجة للصادات الحيوية. كما يتضمن البحث تقييم فعالية مستخلص خلات الإيثيل المستخلص من هذه الجراثيم ضد عدد من الجراثيم الممرضة للإنسان.

### أهداف البحث:

1. الحصول على عزلات نقية من جراثيم *Streptomyces* من التربة ودراسة قدرتها التضادية تجاه الجراثيم الممرضة للإنسان.
2. اختبار حساسية الجراثيم الممرضة لمستخلص خلاات الأيثيل.

### طرائق البحث ومواده:

#### 1. المواد المستخدمة:

أوساط زرعية ( Mullar ،SCA Starch Casein Agar ،ISP2 Isolation Streptomyces program )  
Nutrient Agar، Hinton Agar، من شركة (Hi-media)، ومذيب عضوي (خلاات الأيثيل) من شركة سيغما،  
وديميتيل سلفوكسيد (DMSO)، NaCl كلوريد الصوديوم، Nalidixic Acid (30µg)، Cycloheximide (50µg)،  
ماء فيزيولوجي، أوساط زرعية إنتقائية.

#### 2. الأجهزة المستخدمة:

جهاز الأوتوكلاف (Autoclave) (Model yx-3808) مختبر البحث العلمي لقسم علم الحياة النباتية. مثقلة  
( Model DSC-158T ) مختبر البحث العلمي لقسم علم الحياة النباتية.  
جهاز المبخر الدوار Heidolph rotary evaporator (Germany) (Model 4000 laborata) -المعهد العالي  
لبحوث البيئة.

#### 3. جمع عينات التربة:

جمعت العينات خلال حزيران وتموز وآب لعام 2024م، من تربة حديقة كلية العلوم في محافظة اللاذقية من العمق  
0-10 سم، وضعت ضمن عبوات معقمة ونقلت إلى المختبر للزرع والدراسة. أنجز هذا البحث في مختبر البحث  
العلمي لقسم علم الحياة النباتية في كلية العلوم جامعة تشرين خلال 2024-2025.

#### 4. زرع عينات التربة:

أخذ 5غ من عينة التربة الناعمة بعد تنخيلها وإزالة الحصى منها، وضعت في أرلينماير معقم يحوي على 45مل ماء  
فيزيولوجي ورجت لمدة 30 دقيقة، حضرت 5مجموعات من التخفيفات التسلسلية  $10^{-1}$ ،  $10^{-2}$ ،  $10^{-3}$ ،  $10^{-4}$ ،  $10^{-5}$   
[7]10، أضيف لأوساط الزرع بمقدار 20ملغ/مل Nalidixic acid و Cyclohexamide بمقدار 50ملغ/مل للحد  
من نمو الأحياء الدقيقة الأخرى [8]. تم نقل 0,1 مل من الأنابيب المخففة وفرشت على أوساط Starch Casein  
Agar ووسط Isolation Streptomyces Program (ISP2). حضنت الأطباق في الدرجة 28م° لمدة  
14-7 أيام [9].

#### 5. عزل الجنس *Streptomyces*:

عزلت المستعمرات المحتملة على أنها تابعة لجراثيم *Streptomyces* والتي أعطت مشيجة هوائية ومشيجة اعاشية  
ضمن طبقة الآغار، تم تنقيتها على وسط ISP2 medium حتى الحصول على مزارع نقية وحددت بعد دراسة  
الخصائص المورفولوجية والفيزيولوجية والبيوكيميائية [10].

حفظت عزلات جنس *Streptomyces* ضمن أنابيب الآغار المائل في درجة حرارة البراد [11]. جراثيم *Streptomyces* كما موضح في الشكل (1).



الشكل (1): جراثيم *Streptomyces* على وسط starch casein agar

6- تحليل السلسلة ضمن إجراء التصنيف الجزيئي لعزلات من الجنس ستربتومايسيس *Streptomyces*. تم إجراء استنابات للعزلات على أوساط مغذية مناسبة، وتم التأكد من نقاوتها من خلال الاستنابات على الآغار والفحص المجهرى. تم إجراء عزل للدنا باستعمال الكيت: (250) DNeasy Blood & tissue Kit باتتبع الإجراءات الخاصة بالعزل من البكتريا ايجابية الغرام. تم إجراء تفاعل التضخيم للدنا وفقاً للبرنامج:

الجدول (1) مكونات مزيج تفاعل PCR:

Total volume	25 ul
Buffer (10x)	2.5 ul
MgSO <sub>4</sub> (50mM)	1.5 ul
dNTP <sub>s</sub> (10mM)	1 ul
Taq	1 ul
Primer F (Strep B)	0.8 ul
Primer R (Strep F)	0.8 ul
H <sub>2</sub> O	15.4 ul
DNA	5 ul

الجدول (2) برنامج تفاعل الـ PCR.

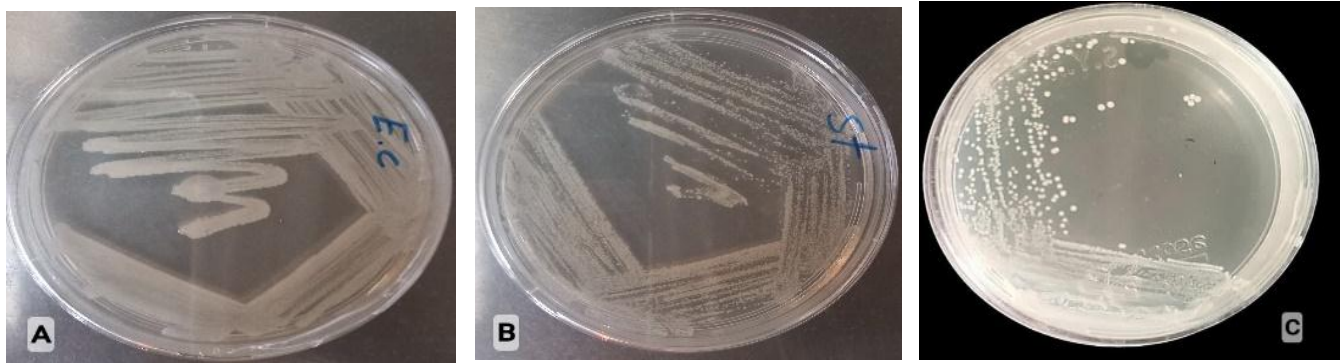
	Temperature	Time
35 cycle	95 °C	5 min
	95 °C	1 min
	59 °C	1 min
	72 °C	105 sec
	72 °C	10 min

تسلسل المرئسات:

CODE	SEQUENCE
StrepB	AAGCCCTGGAAACGGGGT
StrepF	CGTGTGCAGCCAAGACA

### الجراثيم الممرضة للإنسان:

تم عزل الجراثيم الممرضة من عينات مختلفة (بول، مسحة جرح) مأخوذة من مختبر مستشفى اللاذقية الجامعي في اللاذقية، وتمت تنقية الجراثيم على أوساط مختلفة منها Macconkey Agar ووسط إيوزين أزرق الميتلين EMB Agar ووسط Blood Agar وصنفت الجراثيم الممرضة بعد إجراء الإختبارات البيوكيميائية اللازمة (أوكسيداز وكاتالاز والإندول وأحمر الميتيل والسترات وفوجس بروسكاور والحركة و اليوريا و تخمر السكر وإطلاق  $H_2S$  وتحلل الهلام والنشاء وإرجاع النترات). وتمت المطابقة بالإعتماد على دليل بيرجي [12]. الجراثيم الممرضة المعزولة موضحة كما في الشكل (2).



الشكل (2): نمو مستعمرات الجراثيم الممرضة المعزولة على وسط مولر هينتون

A: *Escherichia coli* B: *Staphylococcus aureus* C: *Enterococcus faecalis*

### 7. انتقاء العزلة المنتجة للصادات الحيوية لجنس *Streptomyces*:

تم اختيار عزلات *Streptomyces* المنتجة للصادات الحيوية من خلال زراعة كل عزلة نقية على أطباق حاوية على وسط (Starch Casein Agar (SCA)، وذلك برسم خط مستقيم في منتصف الطبق. بعد ذلك، جُففت الأطباق وحضنت عند درجة حرارة 28°م لمدة 7 أيام. عقب فترة الحضنة، تم صب طبقة من وسط Mueller-Hinton Agar المنصهر والمبرد إلى درجة حرارة 45°م فوق الأطباق. وبعد تصلب الطبقة السطحية، نُقلت الأطباق إلى البراد لمدة 4 ساعات، مما أتاح انتشار المركبات الصادة للميكروبات التي تنتجها جراثيم *Streptomyces* في طبقة الأغار. فيما بعد، زُرعت الجراثيم الممرضة للإنسان بشكل متعامد مع خط زراعة عزلات *Streptomyces*، ثم حضنت الأطباق عند درجة حرارة 37°م لمدة تتراوح بين 18 و 24 ساعة. وتم تحديد العزلات الفعالة بناءً على ظهور منطقة تثبيط لنمو الجراثيم الممرضة حول خط زراعة [13] *Streptomyces*.

### 8. تقييم قدرة العزلات على إستهلاك السكريات:

كما تم تقييم قدرة العزلات على استهلاك السكريات من خلال زراعتها على وسط ISP-9 المضاف إليه كل من السكروز، الغلوكوز، الفركتوز، D-مانيتول، D-زيلوز، والأرابينوز كل على حدة. ثم حضنت الأطباق عند درجة حرارة 28°م لمدة تتراوح بين 7 و 14 يوماً. عُد نمو مستعمرات *Streptomyces* على الوسط دليلاً على قدرة العزلة على استخدام السكر المدروس كمصدر للكربون [14].

9. استخلاص المواد الفعالة من عزلة *Streptomyces* بمذيب خلاص الأيثيل:

زُرعت عزلة *Streptomyces* التي أظهرت نشاطاً مضاداً ضد الجراثيم الممرضة (وفقاً لطريقة الزرع المتعامد) في قارورة Erlenmeyer تحتوي على وسط غذائي من نوع ISP-2 ووضعت القارورة في حاضنة هزازة بدرجة حرارة 28°م وبسرعة 180 دورة في الدقيقة، واستمر التحضين لمدة تتراوح بين 7 إلى 14 يوماً [15]. بعد انتهاء فترة التحضين، تم ترشيح المزرعة السائلة باستخدام ورق ترشيح Whatman No. 1، ثم أُجري لها طرد مركزي بسرعة 10000 دورة/دقيقة لفصل الرواسب. نُقلت الرشاحة الناتجة إلى قارورة Erlenmeyer معقمة، وأضيف إليها كمية مضاعفة بالحجم من المذيب العضوي خلاص الأيثيل (ethyl acetate). تم وضعه في حاضنة هزازة بسرعة 180 دورة/دقيقة لمدة ساعتين لضمان امتزاج جيد بين المذيب والمركبات الفعالة. نُقلت المحتويات إلى قمع فصل، حيث تُرك الخليط حتى فصل إلى طبقتين: طبقة علوية تحتوي على المذيب العضوي مع المستخلص، وطبقة سفلية تحتوي على الوسط الزراعي، تم التخلص من الطبقة السفلية والاحتفاظ بالعلوية. بعد ذلك، جُففت الطبقة العضوية باستخدام المبخر الدوار عند درجة حرارة 40°م. حُفظ المستخلص الجاف الناتج عند درجة حرارة -20°م إلى حين استخدامه في التحاليل اللاحقة [16].

## 10. تحضير تراكيز المستخلصات الجرثومية:

تم الحصول على المحلول الأساس Stock solution بإذابة الخلاصة الجرثومية الجافة 2 g في 10 ml من ثنائي ميثيل سلفوكسيد (DMSO) فأصبح التركيز 200 mg/ml واستخدم هذا المحلول لتحضير ثلاث تراكيز مختلفة (150، 100، 50 mg/ml) وتم تحضير التراكيز باستخدام (DMSO) لتحضير التراكيز [16].

11. اختبار فعالية المواد المستخلصة من *Streptomyces* تجاه الجراثيم الممرضة للإنسان:

تم تقييم الفعالية المضادة للبكتيريا لمستخلصات جراثيم *Streptomyces* ضد بعض الجراثيم الممرضة للإنسان باستخدام طريقة تشريب الأقراص. استخدمت أقراص ترشيح بقطر 6 مم وأشبعت الأقراص بالتراكيز الثلاثة (25-50-75%) من مستخلص *Streptomyces*، ثم تُركت لتجف في درجة حرارة الغرفة. كما استُخدمت أقراص ترشيح مشبعة بالمذيب العضوي (خلاص الأيثيل) كشاهد سلبي في التجربة [18].

لتحضير المعلمات الجرثومية، تم أخذ عدة مستعمرات من جراثيم ممرضة نُميت لمدة 24 ساعة على وسط Nutrient Agar [19]، وعلقت في محلول فيزيولوجي حتى الوصول إلى درجة عكارة تعادل 0.5 على مقياس ماكفارلاند (McFarland Standard)، بما يُعادل تقريباً  $1.5 \times 10^8$  خلية/مل. كما أمكن استخدام الجراثيم المزروعة في وسط Mueller-Hinton Broth للوصول إلى نفس درجة العكارة.

بعد ذلك، تم أخذ 0.1 مل من المعلق الجرثومي وُبثَّ فوق سطح أطباق تحتوي على Mueller-Hinton Agar، ثم فُرِس بالتساوي باستخدام ماسحة قطنية معقمة. تُركت الأطباق لمدة 15 دقيقة في درجة حرارة الغرفة للسماح بامتصاص المعلق، ثم وُزعت أقراص الترشيح المشبعة بالمستخلص والمذيب العضوي على سطح الوسط باستخدام ملقط معقم. حُضنت الأطباق في حاضنة بدرجة حرارة 37°م لمدة 24 ساعة. وقد اعتُبر ظهور هالات تثبيط واضحة (Inhibition Zones) حول الأقراص في الآغار دليلاً على وجود فعالية مضادة للجراثيم. تم قياس أقطار مناطق التثبيط (بالمليمتر) باستخدام مسطرة مدرجة. أُجري الاختبار بثلاث مكررات لضمان موثوقية النتائج [20].

## 12- اختبار حساسية الأنواع الجرثومية المدروسة تجاه الصادات الحيوية العيارية:

اختبرت حساسية الجراثيم المعزولة ومقاومتها تجاه بعض الصادات الحيوية الموضحة في الجدول (3) بطريقة الإنتشار القرصي Diffusion Method Agar حيث زرعت الجراثيم في وسط مولر هينتون آغار Mueller-Hinton Agar بطريقة الفرش بأخذ 100 ميكروليتر اعتباراً من معلق جرثومي وبمقدار عكارة جرثومية McFarland 0,5 (  $1.5 \times 10^8$  CFU/ml). وزعت بشكل متجانس على سطح الأغار بعدئذٍ وضعت أقراص مختلفة مشبعة بالصادات الحيوية على سطح الأطباق المزروعة ووضعت الأطباق في البراد لمدة ساعتين لكي تنتشر الصادات في الوسط ثم حضنت في الحاضنة لمدة 24 ساعة بدرجة 37 درجة مئوية ، وبعد إنقضاء فترة الحضانة، تم قياس أقطار هالات التثبيط الجرثومي بمسطرة مدرجة. [21] ثم قورنت النتائج بالجدول القياسية لأقطار مناطق التثبيط للصادات الحيوية وفقاً لما جاء في المعايير السريرية والمختبرية (CLSI) Clinical and laboratory Standards Institute المعتمد لتحديد ما إذا كانت الجراثيم حساسة (S) أو مقاومة (R) للصادات الحيوية. [22]

### الجدول (3) يوضح الصادات الحيوية التجارية المستخدمة:

Antibiotic	Code: concentration
Azithromycin	AZM= 15 µg
Cefotaxime	CTX= 30 µg
Cefixime	CFM= 5 µg
Nitrofurantion	NIT=50 µg
Gentamycin	CN= 10 µg
Oxacillin	OX=1 µg
Daptomycin	DA= 30 µg

## النتائج والمناقشة

تم الحصول على ثلاث عزلات جرثومية مرضية مأخوذة من مختبر مستشفى اللاذقية الجامعي في اللاذقية جدول (4).

### جدول (4): الجراثيم الممرضة المعزولة ومصدر العينة نتائج الاختبارات الكيميائية الحيوية

الجراثيم الممرضة المختبرة	مصدر العينة	صبغة غرام	نتيجة الاختبار
<i>Staphylococcus aureus</i>	مسحة جرح	+	إيجابي الكاتالاز والمخثرز
<i>Escherichia coli</i>	بول	-	إيجابي الاندول
<i>Enterococcus faecalis</i>	بول	+	إيجابي تفاعل فوكس بروسكاور

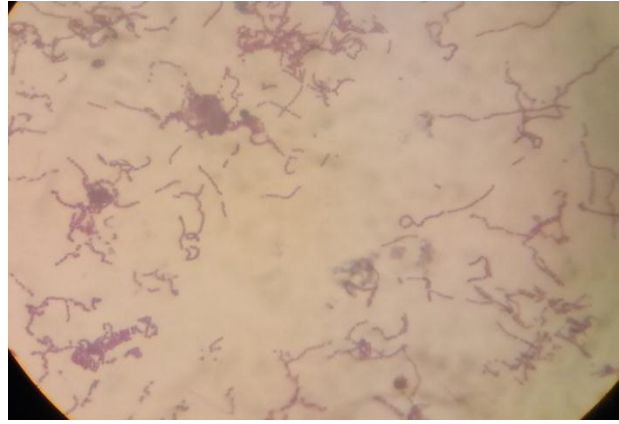
يوضح الجدول رقم (5) نتائج حساسية العزلات البكتيرية الممرضة للصادات الحيوية، والتي تم الحصول عليها من عينات سريرية مختلفة. يشير الجدول إلى أن *E. coli* أظهرت مقاومة لكل من سيفوتاكسيم و سيفيكسيم (CTX, CFM) بينما أظهرت حساسية ضعيفة لنيبتازوكسانيد (NIT) ، بقطر منطقة تثبيط يبلغ 13mm. أظهرت *Staphylococcus aureus* مقاومة عالية للأزيتروميسين (AZM) ولكن حساسية عالية للدابتومييسين (DA) بقطر منطقة تثبيط يبلغ 25mm. كانت *Enterococcus faecalis* مقاومة للأوكساسيلين (OX) وحساسة للجنتاميسين (CN)، بقطر منطقة تثبيط يبلغ 23mm.

الجدول (5) حساسية ومقاومة الجراثيم الممرضة للصادات الحيوية :

Tested Pathogenic Bacteria	Positive control (S)	Negative control (R) Antibiotic	Negative control (R) DMSO
<i>Staphylococcus aureus</i>	DA=25mm	AZM	R
<i>Escherichia coli</i>	NIT=13mm	CFM-CTX	R
<i>Enterococcus faecalis</i>	CN=23mm	OX	R

نتائج الدراسة المجهرية لجنس *Streptomyces* العزلة ST3:

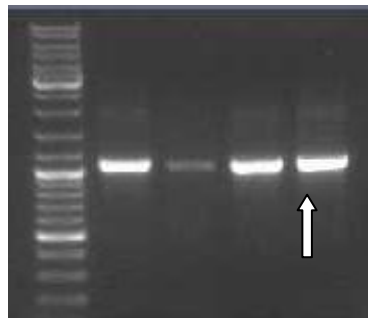
أبدت العزلة ST3 تفاعلاً إيجابياً لصبغة غرام وكان شكل التسلسلات البوغية عند دراستها بالمجهر الضوئي تسلسلات حلزونية كما في الشكل (3) شكل التسلسلات البوغية بالمجهر الضوئي.



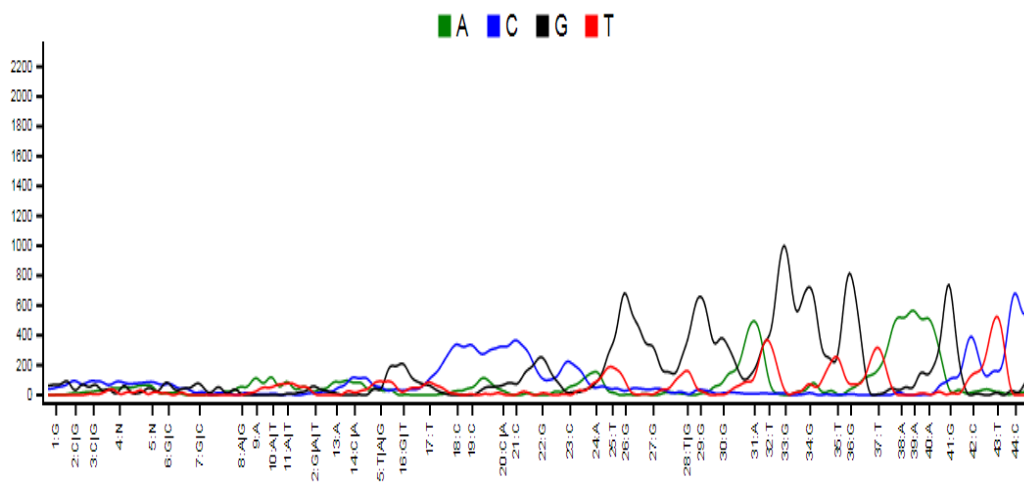
الشكل (3) التسلسلات الحلزونية للأبواغ لعزلة ST3

نتائج السلسلة ضمن إجراء التصنيف الجزيئي لعزلات من الجنس *Streptomyces* :

أجري ترحيل لمنتج الـ PCR على هلامة الأغاروز 1.5%، حيث أظهرت صورة الهلامية وجود حزمة واحدة واضحة للعزلة ST3 عند حجم 1500 bp. الماركر المستخدم: GeneRuler 1Kb Plus DNA Ladder, SM0333. المسار 1: العزلة Bac 1، المسار 2: العزلة Bac 2، المسار 3: العزلة Bac 3، المسار 4: العزلة Bac 4



الشكل (4) صورة الترحيل على جيل آغاروز 1.5%:



الشكل (5) نتيجة تفاعل السلسلة

### Bac3 Stre F /R

CCCCGCATGGTGGATGGTGTAAAGCTCCGGCGGTGCAGGATGAGCCCGCGGCCTATCAGCTAG  
 TTGGTGAGGTAGTGGCTACCAAGGCGACGACGGGTAGCCGGCCTGAGAGGGCGACCGGCCA  
 CACTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATG  
 GGCGAAAGCCTGATGCAGCGACGCCCGGTGAGGGATGACGGCCTTCGGGTTGTAAACCTCTTT  
 CAGCAGGGAAGAAGCGAAAGTGACGGTACCTGCAGAAGAAGCGCCGGCTAACTACGTGCCAG  
 CAGCCGCGTAATACGTAGGGCGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGAGCTCGTAG  
 GCGGCTTGTACGTGCGTTGTGAAAGCCGGGGCTTAACCCCGGGTCTGCAGTCGATACGGGC  
 AGGCTAGAGTTCGGTAGGGGAGATCGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGAAATGCGCAGATATCA  
 GGAGGAACACCGGTGGCGAAGGCGGATCTCTGGGCCGATACTGACGCTGAGGAGCGAAAGCG  
 TGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGGTGGGCACTAGGTGTG  
 GGCAACATTCCACGTTGTCCGTGCCGAGCTAACGCATTAGTGCCCCGCCTGGGGAGTACGGCC  
 GCAAGGCTAAAACCTCAAAGKAATTGACGGGGGCCCGCACAAGCGGCGGAGCATGGTGGCTTA  
 ATTCGACGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGCTGACATACACGGAAG

أظهرت نتيجة مقارنة التسلسل مع قاعدة بيانات ncbi تشابه بنسبة % مع النوع التالي:

النوع	نسبة التشابه %
<i>Streptomyces diastaticus</i>	99.25

### نتائج الدراسة المورفولوجية لجنس *Streptomyces* المعزول:

تم في هذا البحث توصيف وتصنيف عزلة واحدة تنتمي إلى جنس *Streptomyces*، وذلك نظراً لما أظهرته من فعالية واضحة ضد بعض الجراثيم الممرضة. وقد تم عزل هذه العزلة من تربة حديقة كلية العلوم. أظهرت الدراسة المجهرية للشريحة المائلة بعد تلوينها بصبغة غرام أن العزلة تتكون من خيوط إيجابية صبغة غرام، وتتميز بتشكيل أبواغ خارجية مرتبة على هيئة سلاسل متعددة الحلقات ومعقوفة الشكل. أسفرت النتائج المورفولوجية والكيميائية الحيوية عن تصنيف العزلة ضمن جنس *Streptomyces*، وتم الوصول إلى تحديدها حتى مستوى النوع في هيئة الطاقة الذرية في دمشق. وتجدر الإشارة إلى أن تصنيف العزلات بدقة على مستوى النوع يُعدّ مهمة معقدة، حيث تمت مقارنة نتائج هذه العزلة مع بيانات تعود إلى 533 نوعاً من نفس الجنس.

وبالاعتماد على دليل Bergey's Manual of Systematic Bacteriology، ونتائج كل من الاختبارات المورفولوجية والكيميائية الحيوية، تم تأكيد انتماء العزلة ST3 إلى نوع *Streptomyces diastaticus*. وقد دعمت نتائج تخمير السكريات المختلفة، المبينة في الجدول (6)، هذا التصنيف، حيث كانت الخصائص متوافقة مع الخصائص المميزة لهذا النوع وفقاً لدليل بيرجي. كما أظهرت نتائج هذه الدراسة تقارباً مع ما توصلت إليه الباحثة حبيب وزملاؤها، الذين تمكنوا من عزل أنواع مختلفة من *Streptomyces* من تربة متنوعة في سوريا، مما يعكس التنوع الحيوي الواسع وانتشار هذا الجنس في بيئات مختلفة [23].

جدول(6):يوضح نتائج الاختبارات المورفولوجية والكيميائية لجراثيم *Streptomyces* المعزولة.

الصفات المورفولوجية والكيميائية للعزلات	العزلة ST1	العزلة ST2	العزلة ST3	العزلة ST4	العزلة ST5
صبغة غرام	+	+	+	+	+
لون المشيجة الهوائية	بيضاء	رمادية	أبيض الى ابض كريمي	أبيض	رمادي
لون المشيجة الإعاشية	رمادي مصفر مائل للبيني	رمادية	بني غامق	أصفر مائل للبيني	أحمر
نوع التسلسل البوغي	حلقات متعددة معقوفة	حلزوني	متعددة الحلقات ومعقوفة	سلسلي	حلزوني
إنتاج صباغ الميلانين	-	-	+	-	-
استقلاب السكريات					
Sucrose	-	+	+	-	-
Glucose	+	+	+	+	+
Fructose	+	-	-	+	-
D-mannitol	+	+	+	-	+
D-xylose	+	+	+	+	+
Arabinose	+	+	+	+	+
pH	6	7	7	5	6
T(C°)	27	30	28	28	30
+نتيجة التفاعل إيجابي					
-نتيجة التفاعل سلبي					

تمت دراسة خمس عزلات جرثومية ST1 إلى ST5 اعتماداً على صفاتها المورفولوجية والكيميائية الحيوية. أظهرت جميع العزلات استجابة إيجابية لصبغة غرام. تباين لون المشيجة الهوائية بين العزلات، حيث تراوحت الألوان بين الأبيض الزيتوني، الرمادي، والكريمي، بينما أظهرت المشيجة الإعاشية ألواناً مميزة مثل الأحمر، البني المحمر، والرمادي المصفر، مما يعكس تنوعاً في تركيبها الخلوي والتمثيل الغذائي. من حيث نوع التسلسل البوغي، سادت الأنماط الحلزونية في معظم العزلات، في حين انفردت ST1 و ST3 بنمط الحلقات المعقوفة، و ST4 بالنمط السلسلي. وبالنسبة لإنتاج صبغة الميلانين، لوحظ أن العزلة ST3 فقط أظهرت قدرة على إنتاجها، مما يشير إلى اختلاف في المسارات الأيضية بين العزلات. فيما يخص استقلاب السكريات، كانت جميع العزلات قادرة على استقلاب الجلوكوز D-xylose، و Arabinose، بينما أظهرت تبايناً في استقلاب السكريات الأخرى مثل السكروز، الفركتوز و D-mannitol على سبيل المثال، العزلة ST3 كانت الأكثر قدرة على استقلاب مجموعة متنوعة من السكريات. أما من حيث الظروف المثلى للنمو، فقد تراوح الرقم الهيدروجيني (pH) الملائم بين 5 و 7، بينما تراوحت درجات الحرارة المثلى بين 27 و 30°C.

أظهرت نتائج الاختبارات أن المادة المختبرة تمتلك نشاطاً مضاداً لمجموعة من الجراثيم الممرضة، وذلك كما هو موضح في الجدول 7. وقد تبين من خلال المعطيات أن المادة أبدت تأثيراً إيجابياً (تمثل بالرمز "+") ضد كل من *Escherichia coli* و *Staphylococcus aureus* و *Enterococcus faecalis* تشير هذه النتائج إلى أن المادة تمتلك فعالية واسعة الطيف، توافقت النتائج مع [24] حيث أبدت خلاصة *Streptomyces* فعالية واسعة الطيف. حيث أثرت على كل من الجراثيم موجبة الجرام مثل *Staphylococcus aureus* و *Enterococcus faecalis* سالبة الجرام مثل *Escherichia coli*.

بناءً على ذلك، يمكن الاستنتاج أن المادة قيد الدراسة تُظهر خصائص واعدة كمركب مضاد للبكتيريا، وقد تمثل خياراً فعالاً في مكافحة العدوى الجرثومية، خصوصاً في ظل تزايد مقاومة الجراثيم للصادات الحيوية.

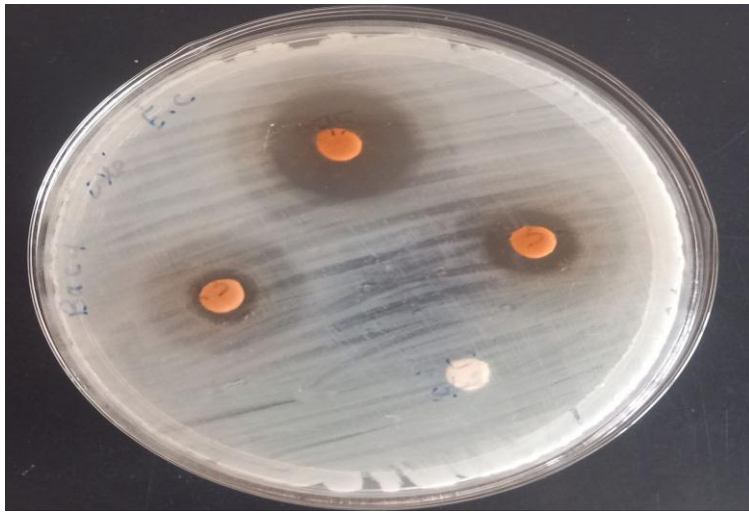
جدول(7): نتائج إختبار التضاد الجرثومي للنوع المعزول (*Streptomyces diastaticus* (ST3):

التأثير	الجراثيم الممرضة
+	<i>Escherichia coli</i>
+	<i>Staphylococcus aureus</i>
+	<i>Enterococcus faecalis</i>

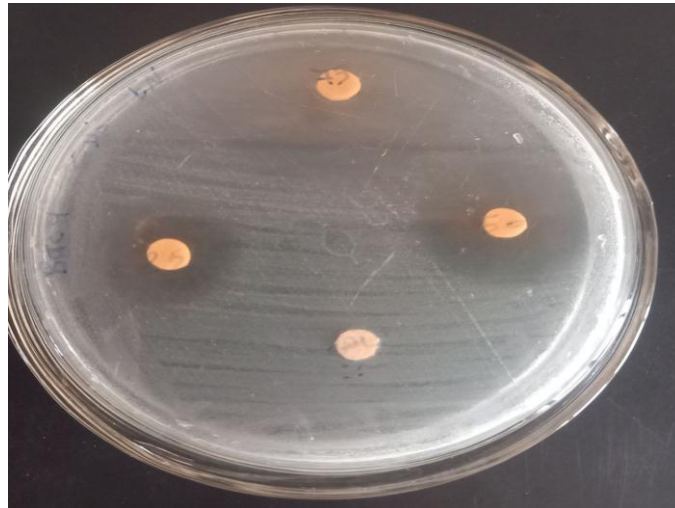
أظهرت نتائج اختبار فعالية الخلاصة الجرثومية المعزولة من *Streptomyces diastaticus* تأثيراً مثبطاً تجاه ثلاثة أنواع من الجراثيم الممرضة للإنسان، وهي *Escherichia coli*، *Staphylococcus aureus*، و *Enterococcus faecalis*، وقد تم اختبار ثلاث تراكيز مختلفة من الخلاصة (50، 100، 150 mg/ml)، حيث تم قياس قطر منطقة التثبيط (بالمليمتر) حول الأقراص المشبعة بالخلاصة لتحديد مستوى الفعالية كما هو موضح في الجدول (8). لوحظ أن زيادة كمية الخلاصة أدت إلى زيادة ملحوظة في أقطار مناطق التثبيط ضد جميع الجراثيم المختبرة، مما يشير إلى أن فعالية الخلاصة تعتمد بشكل واضح على التركيز، أظهرت *Staphylococcus aureus* أعلى درجات الحساسية تجاه الخلاصة، إذ بلغ قطر منطقة التثبيط 20 مم عند استخدام 150 mg/ml، وارتفع إلى 29 مم عند 150 mg/ml وتوافقت نتائج هذه الدراسة مع Rammali حيث أكد تفوق النشاط المضاد لـ *S. aureus* على بقية الأنواع البكتيرية [25]. ويشير ذلك إلى فعالية واضحة للخلاصة ضد الجراثيم موجبة الغرام. أما بالنسبة لـ *Enterococcus faecalis*، فقد كانت الاستجابة متوسطة، حيث تراوح قطر منطقة التثبيط بين 13 و 28 مم مع تزايد التركيز في المقابل. كانت *Escherichia coli* الأقل تأثرًا بالخلاصة، حيث بلغ أقصى قطر لمنطقة التثبيط 20 مم فقط عند استخدام التركيز 150 mg/ml، مما قد يدل على وجود درجة من المقاومة الطبيعية لديها أو ضعف فعالية المركبات النشطة تجاه هذا النوع. بشكل عام، تؤكد هذه النتائج أن الخلاصة الجرثومية تحتوي على مركبات ذات نشاط حيوي ضد الجراثيم. وتوافقت هذه النتيجة مع العالم Hassan حيث أظهرت دراسته أن بعض عزلات *Streptomyces* قد تبدي فعالية ملحوظة أيضاً تجاه *E. coli* [26]

الجدول (8): نتائج الفعالية التضادية لكميات متزايدة من المستخلص لجراثيم *Streptomyces diastaticus* تجاه الجراثيم الممرضة المختبرة

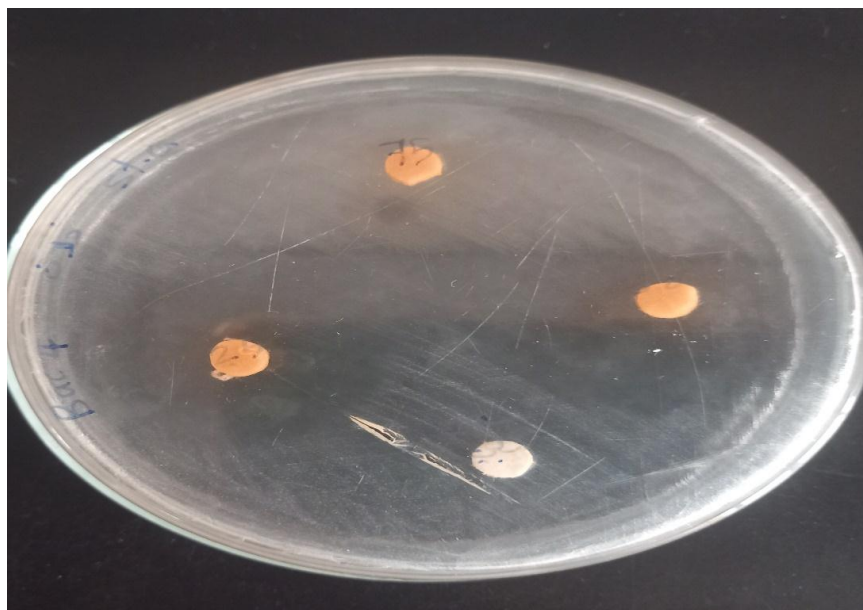
متوسط أقطار حلقات التثبيط عند التراكيز			تراكيز الخلاصة المستخدمة	الجراثيم المختبرة
mg/ml 150	mg/ml 100	mg/ml 50		
28mm	25mm	13mm		<i>Enterococcus faecalis</i>
29mm	25mm	20mm		<i>Staphylococcus aureus</i>
20mm	15mm	10mm		<i>Escherichia coli</i>



الشكل (6) أقطار مناطق التثبيط تجاه جراثيم *E. coli* باستخدام مستخلص خلاص الأيثيل لجراثيم *S. diastaticus*



الشكل (7) أقطار مناطق التثبيط تجاه جراثيم *E. faecalis* باستخدام مستخلص خلاص الأيثيل لجراثيم *S. diastaticus*



الشكل (6) أقطار مناطق التثبيط تجاه جراثيم *S. aureus* باستخدام مستخلص خلايا الايثيل لجراثيم *S. diastaticus*

### الاستنتاجات والتوصيات:

يُظهر النوع المعزول *Streptomyces diastaticus* قدرة عالية على مقاومة الجراثيم الممرضة للإنسان، مما يجعله ذا أهمية كبيرة في المجال الطبي. ومن الضروري العمل على تحديد المركبات الثانوية النشطة التي ينتجها هذا النوع، لما لها من دور محتمل في النشاط الحيوي. كما يُوصى بدراسة أنواع مختلفة من التربة بهدف عزل سلالات إضافية من هذا النوع، نظراً لكون جنس *Streptomyces* واسع الانتشار في البيئات الترابية. ويُعد هذا الجنس مصدراً واعداً لاكتشاف صادرات حيوية جديدة، مما يبرز أهمية الاستمرار في البحث عن أنواع جديدة من أفرادها واستغلالها في التطبيقات الطبية والصناعية المستقبلية. بناءً على ذلك، يمكن الاستنتاج أن الخلاصة تُظهر خصائص واعدة كمركب صاد للجراثيم، وقد تمثل خياراً فعالاً في مكافحة العدوى الجرثومية، خصوصاً في ظل تزايد مقاومة الجراثيم للمضادات الحيوية التقليدية. ومع ذلك، يُوصى بإجراء دراسات إضافية لتحديد آلية التأثير، والتحقق من الفعالية في النماذج الحية.

### References:

- [1] R. Subramani and W. Aalbersberg, "Marine actinomyces: An ongoing source of novel bioactive metabolites," *Microbiological Research*, vol. 167, pp. 571–580, 2012.
- [2] M. Goodfellow, M. Kämpfer, and W. Whitman, *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology: Volume Five, The Actinobacteria, Part A*. New York, NY: Springer, 2012.
- [3] A. Al-Saadi, N. Hameed, and E. M. Jaralla, "Isolation and identification of *Streptomyces* from different samples of soils," *Journal of Biology and Medical Sciences*, vol. 1, pp. 31–36, 2013.

- [4] S. D. Bhinge, D. S. Randive, M. A. Bhutkar, K. P. Shejwal, A. D. Jadhav, and R. P. Jadhav, "Synergistic effects of neem (*Azadirachta indica* L.) leaves extract with conventional antibiotic against gram positive and negative microorganisms," *Jordan Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol. 15, no. 2, pp. 276–288, 2022.
- [5] M. L. Jordan and S. Schlimpert, "Microbe profile: *Streptomyces venezuelae* – a model species to study morphology and differentiation in filamentous bacteria," *Microbiology*, vol. 171, no. 3, p. 001541, 2025.
- [6] S. Rammali, A. Rahim, M. El Aalaoui, B. Bencharki, K. Dari, A. Habach, and A. Khattabi, "Antimicrobial potential of *Streptomyces coeruleofuscus* SCJ isolated from microbiologically unexplored garden soil in Northwest Morocco," *Scientific Reports*, vol. 14, no. 1, p. 3359, 2024.
- [7] H. H. Math, S. Nayaka, M. Rudrappa, R. S. Kumar, A. I. Almansour, K. Perumal, and G. B. Kantli, "Isolation and characterization of pyraclostrobin derived from soil actinomycete *Streptomyces* sp. HSN-01 and its antimicrobial and anticancer activity," *Antibiotics*, vol. 12, no. 7, p. 1211, 2023.
- [8] Z. Shang, V. Sharma, L. Pai, T. Kumar, and S. Patil, "Optimizing the production and efficacy of antimicrobial bioactive compounds from *Streptomyces kanamyceticus* in combating multi-drug-resistant pathogens," *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, vol. 14, p. 1500440, 2025.
- [9] J. N. Selvaraj, U. Ganapathi, S. G. P. Vincent, S. Ramamoorthy, and C. Thavasimuthu, "Statistical optimization of media components for antibiotic production in *Streptomyces* sp. CMSTAAHAL-3," *Electronic Journal of Biotechnology*, vol. 65, pp. 1–13, 2023.
- [10] S. T. Williams, M. Goodfellow, and G. Alderson, "Genus *Streptomyces*," in *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, vol. 4, S. T. Williams, M. E. Sharope, and J. M. Holt, Eds. Baltimore, MD: Williams and Wilkins, 1989, pp. 2452–2492.
- [11] M. Mohseni, H. Norouzi, J. Hamedi, and A. Roohi, "Screening of antibacterial producing actinomycetes from sediments of the Caspian Sea," *International Journal of Molecular and Cellular Medicine*, vol. 2, no. 2, p. 64, 2013.
- [12] G. M. Garrity, J. A. BEH, and T. G. Lilburn, "Taxonomic outline of prokaryotes," in *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 2nd ed. New York, NY: Springer, 2004, p. 401.
- [13] M. Arifuzzaman, M. R. Khatun, and H. Rahman, "Isolation and screening of actinomycetes from Sundarbans soil for antibacterial activity," *African Journal of Biotechnology*, vol. 9, no. 29, pp. 4615–4619, 2010.
- [14] S. Habib, S. Yazji, and L. Al-Amir, "Screening of local *Streptomyces* isolates to assess their ability to produce glucose isomerase," *Damascus University Journal of Agricultural Sciences*, vol. 31, no. 2, pp. 195–211, 2015.
- [15] K. E. Odo, M. O. Agbo, and P. O. Osadebe, "Extract and fractions from soil bacteria (*Streptomyces canus* ATCC 12647) possess antimicrobial and anti-oxidative potential in vitro," *Jordan Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol. 15, no. 3, pp. 405–412, 2022.
- [16] Al-Dhabi, N. A., Esmail, G. A., Arasu, M. V., & Duraipandiyan, V. (2019). *Chemical profiling of ethyl acetate extract of Streptomyces sp. Al-Dhabi-2 and its antimicrobial and anticancer activities*. **Saudi Journal of Biological Sciences**, 26(6), 1100–1108.
- [17] H. Maleki, A. Dehnad, S. Hanifian, and S. Khani, "Isolation and molecular identification of *Streptomyces* spp. with antibacterial activity from northwest of Iran," *BioImpacts*, vol. 3, no. 3, p. 129, 2013.
- [18] S. Rammali, A. Rahim, M. El Aalaoui, B. Bencharki, K. Dari, A. Habach, and A. Khattabi, "Antimicrobial potential of *Streptomyces coeruleofuscus* SCJ isolated from

- microbiologically unexplored garden soil in Northwest Morocco," *Scientific Reports*, vol. 14, no. 1, p. 3359, 2024.
- [19] H. Maleki, A. Dehnad, S. Hanifian, and S. Khani, "Isolation and molecular identification of *Streptomyces* spp. with antibacterial activity from northwest of Iran," *BioImpacts*, vol. 3, no. 3, p. 129, 2013.
- [20] N. Şahin and A. Uğur, "Investigation of the antimicrobial activity of some *Streptomyces* isolates," *Turkish Journal of Biology*, vol. 27, no. 2, pp. 79–84, 2003.
- [21] I.GAJIC , J. KABIC, D.Kekic, M.JOVICEVIC, M.MILENKOVIC, M.D.CULAFIC, A.TRUDIC, L.RANIN and N.OPAVISKI, – Antimicrobial Susceptibility Testing: A Comprehensive Review of Currently Used Methods. *Nathional Library of Medicine*, Vol 11(4). 2022
- [22] P. D.TAMMA, P.N.A. HARRIS, A.J.M .MATHERS, E.WENZLER and R.M.HUMPHRIES–Breaking Down the Breaking: Rationale for the 2022 Clinical and Laboratory Standards Institute Revised PiperacillinTazobactam Breakpoints Against Enterobacterales.Clinical Infectious Diseases, VOL.77(11). 1585-1590. 2023
- [23] T. Irianti, S. U. T. Pratiwi, and I. F. Yasmin, "Activity of active compound of ethyl acetate extract for Patikan Kebo (*Euphorbia hirta* L.)," *Jordan Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol. 15, no. 4, pp. 461–473, 2022.
- [24] I. Charousová, J. Medo, L. Hleba, and S. Javoreková, "*Streptomyces globosus* DK15 and *Streptomyces ederensis* ST13 as new producers of factumycin and tetrangomycin antibiotics," *Brazilian Journal of Microbiology*, vol. 49, no. 4, pp. 816–822, 2018.
- [25] S. Rammali, F. Z. Kamal, M. El Aalaoui, B. Bencharki, V. Burlui, A. Khattabi, ... and A. Ciobică, "In vitro antimicrobial and antioxidant activities of bioactive compounds extracted from *Streptomyces africanus* strain E2 isolated from Moroccan soil," *Scientific Reports* , vol. 14, no. 1, pp. 27372, 2024.
- [26] A. Fouda, S. E. D. Hassan, A. M. Abdo, and M. S. El-Gamal, "Antimicrobial, antioxidant and larvicidal activities of spherical silver nanoparticles synthesized by endophytic *Streptomyces* spp.," *Biological Trace Element Research* vol. 195, no. 2, pp. 707–724, 2020.