تعيين مواقع المورثات المنتجة للمضادات الحيوية في جرثومة *Streptomyces spp.*

ريان مازن فيصل
قسم علوم الحياة
كلية العلوم
جامعة الموصل

خالد دحام احمد
قسم علوم الحياة
كلية التربية
جامعة الموصل

اسراء غانم السماك
قسم علوم الحياة
كلية العلوم
جامعة الموصل

(تاريخ الاستلام 2008/2/20 ؛ تاريخ القبول 2008/8/31)

الملخص

اخذت 12 عزلة مشخصة سابقا تابعة للانـواع (3) *Streptomyces antibioticus* و *S. albus* (3) و(1) *S . streptovaticillium* و(5) *S. pupureus* المعزولة من التربة. اختبرت مقاومتها تجـاه مضادات حيوية مختلفة واظهرت النتائج تباينا في المقاومة بين العزلات قيد الدراسة، ثم اختبرت قدرة هذه السلالات على انتاج المضاد ضد بعض الجراثيم الموجبة والسالبة لصبغة كرام ولوحظ من بينها خمـسة عزلات منتجة للمضاد. استخدمت طريقتان في تعيين مواقع المورثات المنتجة للمضادات الحيوية الاولـى بالاقتران بين العزلات قيد الدراسة وسلالة المختبرية *E . coli* JM83. اذ لم تحمل المستعمرات المقترنة صفة انتاج المضاد، والثانية بتحييد محتوى الـ DNA البلازميدي للعزلات التي نجحت بالاقتران كواهب باستخدام المحييد بروميد الايثيديوم بتركيز (25µg/ml). تم التأكد من ان العزلة (4) تمتلك بلازميـدات تشفر لصفة انتاج المضادات الحيوية بعد الحصول على نسبة تحييد 40%. أما العزلتان 1 و 8 فـتحملان هذه المورثات على الكروموسوم لعدم حدوث تحييد لهذه الصفة في كلتا العزلتين.

الكلمات الدالة: أنتاج المضادات، *Streptomyces*

Determining the location of some Antibiotic- Coding Genes in *Streptomyces spp.*

Rayan M. Faisal
Department of Biology
College of Science
Mosul University

Khalid D. Ahmed
Department of Biology
College of Education
Mosul University

Essra G. Al-Sammak
Department of Biology
College of Science
Mosul University

ABSTRACT

Twelve isolates belonging to the species *streptomyces antibioticus*(3), *S. albus* (2), *S. streptovaticillium*(1), and *S. purpureus* (5) were checked for their ability to resist

different antibiotics. The results showed variation in their pattern of antibiotic resistance. The antibiotic production ability of these isolates was tested and it was found that five of them are antibiotic producers while the rest were not. Two methods were used to determine the location of genes encoding antibiotics, conjugation and plasmid curing. Conjugation between each of the isolates of *streptomyces* as donars and the laboratory strain *E. coli* JM83 as a recipient produced no transconjugant colonies capable of antibiotic production .Treating the original donar isolates with ethidium bromide (25µg/ml), showed that 40% of the isolate (4) lost their ability to produce antibiotics. This result suggests that the genes encoding antibiotic production are located on the plasmid DNA.Failure of curing colonies towards antibiotic production in the isolates 1,8 may indicate that antibiotic resistant trait is located on the chromosomal DNA in these isolates.

Keywords : Antibiotic production , *streptomyces* .

المقدمة

تنتشر البكتريا الخيطية بصورة واسعة في البيئة وتعد مصدرا تجاريـا هامـا لانتـاج الانزيمـات والمركبات الدوائية، اذ تشكل افراد جـنس *Streptomyces* اكثـر مـن 95% مـن البكتريـا الخيطيـة المتواجدة في التربة وهي من اكثر الاجنـاس التـي لهـا القـدرة علـى انتـاج المـضادات الحيويـة (Cook and Meyers, 2003 ; Sahin and Ugur, 2003). تشير الدراسات الى ان البكتريا الخيطية تنتج حوالي ثلثين من مجموع المضادات الحيوية المستعملة ذات الاصل الجرثومي وان اكثر من 6000 مـن هذه المضادات ينتجها الجنس *Streptomyces* والتي تستعمل كمضادات للجراثيم والفطريات والطفيليـات وبعضها مضادات الاورام السرطانية واخرى كمنشطات للجهاز المنـاعي (Butler *et al.*, 2003) وفـي الوقت الحاضر دخلت تقنية اعادة التكوين للـ ـ Recombinant DNA technology DNA فـي انتـاج وتحسين المضادات الحيوية المنتجة من هذا الجنس (Hapwood, 1993).

أظهرت الدراسات حول النوع *S . avermitilis* كمثال قياسي لهذا الجنس انه يمتلك محتوى وراثيـا عاليا لا يقل عن 8.7 مليون زوج من القواعد النتروجينية التي تشكل كروموسوما خيطيا واحدا تؤلف على الاقل 7600 مورثا. وتعزى الزيادة في حجم المحتوى الوراثي الى حاجة هـذه الجـراثيم للعديـد مـن المتطلبات لمواجهة العوامل البيئية التي تصادفها في حياتها الحرة في التربة (Omura, 2001).

ان انتقال الصفات الوراثية بين افراد جنس *Streptomyces* الممزوجة معـا تـدل علـى ان هـذه الصفات تشفر من جزئيات DNA لا كروموسـومية هـي البلازميـدات (Sykes and Skinner, 1973) يمتـاز هـذا الجـنس بامتلاكـه البلازميـدات الخيطيـة Linear plasmids اذ لـوحظ فـي الـسلالة

S . lavendulae IMRU 3455 احتوائها على اثنين من البلازميدات الخيطية هي PSLV 45 بحجم (45Kb) و PSLV 195 بحجم (195 Kb) تمتاز بخاصية الانتقال الذاتي Self-transmissible وتحمل المقاومة لبعض المضادات الحيوية (Hosted *et al.*, 2004). كما جرى عزل اثنين من البلازميدات الخيطية العملاقة من السلالة *Streptomyces* CHR3 واخر من السلالة *Streptomyces* CHR 248 تشفر المقاومة لمركبات الزئبق ولها القدرة على الانتقال بالاقتران الى السلالة *Streptomyces* TK24 الخالية من البلازميدات (Ravel *et al.*, 1998) كما اظهرت نتائج التهجين Hybridization بان المورثات المسؤولة عن مقاومة الزئبق تقع على الـ DNA البلازميدي للمستعمرات المقترنة كما انها لا تزال فعالة (Ravel *et al.*, 2000).

على الرغم من ان البلازميدات تتضاعف بشكل تلقائي الا انه يحدث فقدان تلقائي قليل للبلازميدات ربما بسبب اخطاء في تضاعف البلازميدات لعدد قليل من الخلايا البكتيرية وغالبا ما يكون غير معنوي ولكن هناك بعض المواد الكيميائية التي تزيد من معدل فقدان البلازميدات مثل Acridine و Ethidium bromide و Mitomycin C ويطلق على هذا الفقدان بالتحييد Curing (Bull and Meadow, 1978). تكون الصفات الواقعة على البلازميدات غير ثابتة ويمكن ان تختفي عند معاملتها بالمحيدات مثل صفة انتاج المضادات في جرثومة *Streptomyces* لتتولد خلايا جرثومية لا تتمكن من انتاج ذلك المضاد وعندئذ يمكن القول ان هذه الصفة تشفر من مورثات واقعة على الـ DNA البلازميدي للعزلة المختبرة (Hapwood, 1978).

يهدف البحث لتعيين مواقع المورثات المشفرة للمضادات الحيوية باستخدام الاقتران الجرثومي بين السلالات قيد الدراسة من جرثومة *Streptomyces* وسلالة *E. coli* JM83 المختبرية وكذلك عملية التحييد للمحتوى البلازميدي لسلالات *Streptomyces* التي نجحت بالاقتران كواهب.

المواد وطرائق العمل

جمع العزلات الجرثومية وتشخيصها

اخذت 12 سلالة من جرثومة *Streptomyces* المعزولة من التربة المشخصة سابقا (السماك, 2006) كما جرى تأكيد تشخيصها مرة أخرى باعادة زرعها على مزرعة الشريحة وملاحظة شكل الغزل الارضي والهوائي كما تم الحصول على الانواع الاختبارية *Bacillus subtilis* و *Klebsiella pneumoniae* و*Staphylococcus aureus* و*Escherichia coli* و*Pseudomonas aeruginosa* و*Proteus mirabilis* من كلية العلوم قسم علوم الحياة، وكان مصدر السلالة *E .coli* JM83 الخالية من البلازميدات من الدكتور خالد دحام احمد كلية التربية قسم علوم الحياة.

الكشف عن العزلات المنتجة للمضادات الحيوية

استخدمت الطريقة المحورة من قبل السماك (2006) للكشف عن قـدرة جرثومـة *Streptomyces* على انتاج المضادات الحيوية، وذلك بزرع النوع المراد اختبار قدرته على انتاج المـضاد بـشكل خـط مستقيم في وسط الطبق الزرعي وبعد الوصول الى طور الثبات زرعت الانواع الاختبارية بشكل خطوط متعامدة على الخط الرئيسي من كلا الجانبين وتحضن بدرجة (37 م°) لمدة 24 ساعة ثم سجلت النتائج.

مقاومة المضادات الحيوية

حضرت المحاليل الخزينة باذابة اوزان معلومة من المضادات الحيوية المستخدمة والتي اضيفت الى اوساط الاكار المغذي بعد تبريده الى درجة 45م ° للحصول على تراكيز نهائية بالـ µg/ml للمـضادات الحيوية وكالاتي: التتراسايكلين (15) والريفامايسين (50) وحامض النالدكسيك (30) والسيفالكسين (30) والكلورامفينكول (10) والامبسلين (50) والستربتومايسين (25) وذلك اعتمادا علـى Puhler و Timmis (1984)، ثم لقحت الاوساط بالسلالات المستخدمة بالتخطيط وسجلت النتائج.

الاقتران الجرثومي

اجري الاقتران الجرثومي بين العزلات قيد الدراسة من جرثومة *Streptomyces* كخلايـا واهبـة وسلالة *E. coli* JM83 كخلايا مستلمة والمختلفتين بعليمتين وراثيتين وحسب طريقـة Olsen واخـرين (1992).

اختبرت المستعمرات المقترنة تجاه مقاومتها للمضادات الحيوية وكذلك تجـاه انتـاج المـضادات الحيوية ثم سجلت النتائج.

تحييد محتوى الـ DNA البلازميدي لجنس *Streptomyces*

اجري تحييد محتوى الـ DNA البلازميدي لجراثيم *Streptomyces* التي نجحت بالاقتران كواهب باستخدام مادة بروميد الايثيديوم بتركيز (25 µg/ml) وحسب طريقة Rubin و Rosenblum (1971).

النتائج والمناقشة

الكشف عن العزلات المنتجة للمضادات الحيوية

بعد اختبار القدرة الانتاجية لعزلات جرثومة *Streptomyces* على انتاج المضاد بالطريقة المذكورة انفا اظهرت العزلات تباينا في انتاجها للمضادات الحيوية ضد الانواع البكتيريـة الـستة المـستخدمة، اذ اوضحت النتائج قدرت العزلات 1 و3 و4 و7 و8 على انتاج المضادات الحيوية بـدرجات متفاوتـة، ان تفاوت القدرة في انتاج المضادات من قبل افراد جنس *Streptomyces* يتفق مـع العديـد مـن البـاحثين (Gupte and KulKarni, 2002) كما لاحظ Butler واخرون (2002) زيادة القدرة الانتاجية للمضاد من قبل *S . lividans* عند ادخال بعض المورثات المسؤولة عن انتاج المـساعد الانزيمـي NADPH مـن

الكلوكوز، واشار Meinhardt واخرون (1997) الى امتلاك بعض افراد جنس *Streptomyces* بلازميدات خيطية Linear plasmids كبيرة الحجم تشفر المقاومة للمضادات الحيوية.

كما لوحظ من نتائجنا ان العزلات 2 و5 و6 كانت غير منتجة للمضادات الحيوية اذ ذكر في Hopwood (1993) بان ليس جميع افراد جنس *Streptomyces* منتجة للمضادات الحيوية، كما لاحظ Kinashi واخرون (1988) ان السلالة *S. lasaliensis* NRRL 3382R غير المنتجة للمضادات الحيوية قد استعادت قدرتها على انتاج المضادين Echinomycin , lasalocid A وبنسبة 3-11 % بعد معاملتها بثلاث انواع مختلفة من المطفرات، اذ يتوقع هذا الباحث ان السبب الوراثي في عدم ثبات انتاج المضاد لهذه العزلة ان المورثات المسؤولة عن انتاج المضاد ربما تكون واقعة على بلازميدات او عناصر وراثية قافزة.

مقاومة المضادات الحيوية

بعد اختبار قدرة عزلات جرثومة *Streptomyces* قيد الدراسة على مقاومة المضادات الحيوية المستخدمة اظهرت العزلات تباينا في المقاومة وكما في الجدول (1).

الجدول 1: مقاومة انواع جرثومة *Streptomyces* تجاه المضادات الحيوية قيد الدراسة

رقم العزلة	النوع	التراكيز النهائية للمضادات المستخدمة في الأوساط الزرعية						
		Tc (15)	Rif (50)	NA(30)	Cf(30)	Cm(10)	A(50)	Sm(25)
1	*S. antibioticus*	S	S	R	R	R	S	S
2	*S. streptovaticillium*	S	R	R	R	R	S	S
3	*S. purpureus*	S	S	S	R	R	S	S
4	*S. antibioticus*	S	S	R	S	R	S	S
5	*S. albus*	S	S	R	R	R	S	S
6	*S. purpureus*	S	S	R	R	R	R	S
7	*S. purpereus*	S	S	R	R	R	R	S
8	*S. antibioticus*	R	R	R	R	S	R	S
9	*S. albus*	S	R	S	S	R	R	R
10	*S. albus*	S	S	R	R	S	S	R
11	*S. purpureus*	S	S	S	S	R	S	R
12	*S. purpureus*	S	S	S	R	S	S	R
	E. coli JM83	S	S	S	S	R	R	R

يوضح الجدول (1) ان عزلات جرثومة *Streptomyces* كانت مقاومة بنسبة (8.3%) تجاه مضاد التتراسايكلين و(25%) تجاه الريفامايسين و(33.33%) تجاه المضادين الامبسلين والستربتومايسين و(66.6%) تجاه حامض النالدكسيك و(75%) تجاه المضادين السيفالكسين والكلورامفينيكول، ان ارتفاع نسب المقاومة لهذه الجرثومة قد يعزى الى تعدد طرق المقاومة للمضادات الحيوية، اذ ذكر Goodfellow واخرون (1983) ان جنس *Streptomyces* يعتبر احد الاجناس الغنية بالمورثات المقاومة للمضادات الحيوية وخصوصا ضد المضادات التي تنتجها هذه الجرثومة اذ يعتقد ان هذا الجنس له الدور الاول في ظاهرة انتشار المقاومة للمضادات الحيوية بين اجناس البكتريا الحقيقة Eubacteria بسبب ما يمتلكه من بلازميدات تشفر لمقاومة بعض المضادات مثل الكلورامفينيكول عن طريق انتاج الانزيم Chloramphenicol acetyltransferase المترافق مع المورث المسؤول عن تشفير هذا المضاد. كما لاحظ Ma واخرون (2000) عند دراسة النوع *Streptomyces viridifaciens* ان هذا النوع يقاوم العديد من المضادات باستخدام بروتينات نافذة للجدار الجرثومي تعمل على ضخ المضاد الى خارج الخلية ومن هذه المضادات مضاد الـ Valinomycin ومضاد الـ Tetracyclin والذي وجدنا العزلة 8 مقاومة له، وبرهن ايضا Pang واخرون (1994) ان المقاومة لمضاد التتراسايلكين مقاومة بلازميدية حيث اكتشف وجود محددات المقاومة r-determinants تحمل المقاومة لهذا المضاد وفي نفس الدراسة لاحظ ان المقاومة للريفامايسين مقاومة كروموسومية. كما تتفق دراستنا مع ما توصلت اليه السماك (2006) اذ لاحظت مقاومة جرثومة *Streptomyces* بدرجات متفاوتة تجاه مضاد الامبسلين وبعض السيفالوسبورينات.

الاقتران الجرثومي

اختيرت العزلات الثمانية الاولى المبينة في الجدول (1) كخلايا واهبة لاجراء الاقتران وذلك لوجود اختلاف بعليمتين وراثيتين على الاقل بينها وبين السلالة *E. coli* JM83 المستلمة، اذ اجري الاقتران لغرض التعرف الى امتلاك عزلات جرثومة *Streptomyces* جزئيات DNA بلازميدي تحمل مورثات تشفير المضادات ومقاومتها ، وقدرتها على الانتقال الذاتي الى سلالة *E. coli* JM83 المستلمة الخالية من البلازميدات وكما موضح في الجدول (2).

الجدول 2: الاقتران بين عزلات جرثومة *Streptomyces* الواهبة وجرثومة *E. coli* JM 83 المستلمة

عزلات *Streptomyces*		السلالة المستلمة *E.coli* JM83	نمط المقاومة وإنتاج المضاد للمستعمرات المقترنة على أوساط المضادات الحيوية المناسبة	تردد الاقتران $*10^{-6}$
رقم العزلة	نمط المقاومة وإنتاج المضاد			
1	NA^R, Cf^R, Sm^S Anti P^+	NA^S, Cf^S, Sm^R, Tc^S, Rif^S Anti p^-	NA^R, Cf^R, Sm^R, Anti P^-	0.6
2	NA^R, Cf^R, Sm^S, Rif^R, Anti P^-		NA^R, Cf^S, Sm^R, Rif^S, Anti P^-	0.2
4	NA^R, Sm^S, Anti P^+		NA^R, Sm^R, Anti P^-	0.8
8	NA^R, Cf^R, Rif^R, Tc^R, Sm^S, Anti P^+		NA^R, Cf^R, Tc^R, Sm^R, Rif^S, Anti P^-	1.3

- تشير الرموز R , S الى مقاومة وحساسية الجرثومة لذلك المضاد على التـوالي, $Antip^+$ و $Antip^-$ صفة انتاج المضاد وعدم انتاجه على التوالي ولكل عزلة, Sm ستربتوماليسين, Cf سيفاليكـسين, NA حامض النالدكسيك, Rif ريفامايسين, Tc تتراسايكلين.

يلاحظ من الجـدول (2) ان عمليـة الاقتـران بـين العـزلات (1 و2 و4 و8) مـن جرثومـة *Streptomyces* قد حصلت مع السلالة المستقبلة *E. coli* JM83، اذ تم الحصول على مستعمرات مقترنة تحمل صفة المقاومة للمضادات الحيوية حامض النالدكسيك والسيفالكسين والتتراسايكلين وهذا ربما يـدل الى وقوع المورثات التي تشفر لهذه المضادات على جزئيات بلازميدية تمتلك صفة الانتقال الـذاتي الـى العزلات المستقبلة في جرثومة *Streptomyces* وهذا يتفق مع ما ذكره Goodfellow واخـرون (1983) اذ لاحظ امتلاك جراثيم *Streptomyces* ثلاثة انواع من البلازميـدات ذاتيـة الانتقـال هـي البلازميـد (PIJ101, SCP1.2, SCP 2) وذكر ان النوعين الاخرين يحملان صفة المقاومة لانـواع مختلفـة مـن المضادات الحيوية. لاحظ Tabakov واخـرون (2001) ان الاقتـران بـين الاجنـاس Intergeneric conjugation يمكن ان يحدث بين جراثيم *Streptomyces* و*E.coli* اذ لاحظ عند القيام بنقـل المـورث *Vhb* gene الى افراد جنس *Streptomyces* حدث زيادة بتردد الاقتران عند اسـتخدام جرثومـة *E. coli* كخلايا مستقبلة.

ان عدم انتقال صفة المقاومة لمضاد الريفامايسين من العزلتين (2 و8) الى العزلات المستقبلة ربما يدل الى وقوع المورثات المسؤولة عن مقاومة هذا المضاد علـى الكروموسـوم الجرثـومي لجرثومـة *Streptomyces* وهذا يتفق مع ما توصل اليه Pang واخرون (1994) اذ لاحـظ ان المقاومـة لمـضاد الريفامايسين مقاومة كروموسومية.

كما يلاحظ ايضا من الجدول (2) اننا لم نتمكن من الحصول على مستعمرات مقترنة تحمل صفة انتاج المضاد وهذا قد يعود الى ان المورثات المسؤولة عن تشفير المضادات تقع على بلازميدات غير الذاتية الانتقال Non – transmissible plasmids او قد تقع هذه المورثات على الكروموسوم ولاعطاء الدعم لذلك تم اجراء التحييد البلازميدي للعزلات (1و4 و8) المنتجة للمضادات باستخدام مادة بروميد الايثيديوم كعامل محييد.

تحييد محتوى الـ DNA البلازميدي لعزلات *Streptomyces* المنتجة للمضاد

للتأكد من ان صفة انتاج المضاد في العزلات (1 و4 و8) واقعة على الـ DNA البلازميدي او الكروموسومي تم استخدام تقنية التحييد البلازميدي باستخدام مادة بروميد الايثيديوم بتركيز (25 µg/ml)، اذ تم اختيار هذا المحييد حسب ما لوحظ في Crameri واخرون (1986) من التاثير الفعال لهذا المحييد في احداث التحييد البلازميدي لعزلات هذه الجراثيم وكما موضح في الجدول (3).

الجدول 3: النسب المئوية لتحييد العزلات (1 و 4 و 8) تجاه مقاومة المضادات وانتاجها

رقم العزلة	T c	Rif	NA	Cf	Cm	Ap	Anti P
1	S	S	%42	%36	%22	S	%0
4	S	S	%54	S	%26	S	%40
8	%34	%0	%20	%40	S	%34	%0

يلاحظ من الجدول (3) اعلاه حدوث نسب تحييد تراوحت من (20%-54%) تجاه المقاومة المضادات التتراسكايكلين وحامض النالدكسيك والسيفالكسين والكلورامفينكول والامبسلين وهذا يدل على ان مورثات المقاومة لهذه المضادات تقع على جزئيات بلازميدية وهذا يدعم ما توصلنا اليه في الاقتران كما تتفق نتائجنا مع ما توصل اليه Crameri واخرون (1986)، اذ لاحظ حصول بعض التغيرات الفسلجية نتيجة التحييد ببروميد بالايثيديوم مثل فقدان بعض الفعاليات الانزيمية ومقاومة المضادات والقدرة على انتاج السبورات، كما لم يلاحظ حصول تحييد في مقاومة مضاد الريفامايسين في العزلة (8) وهذا يؤكد ايضا ما تم الحصول عليه في الاقتران ويثبت ان المقاومة لهذا المضاد مقاومة كروموسومية.

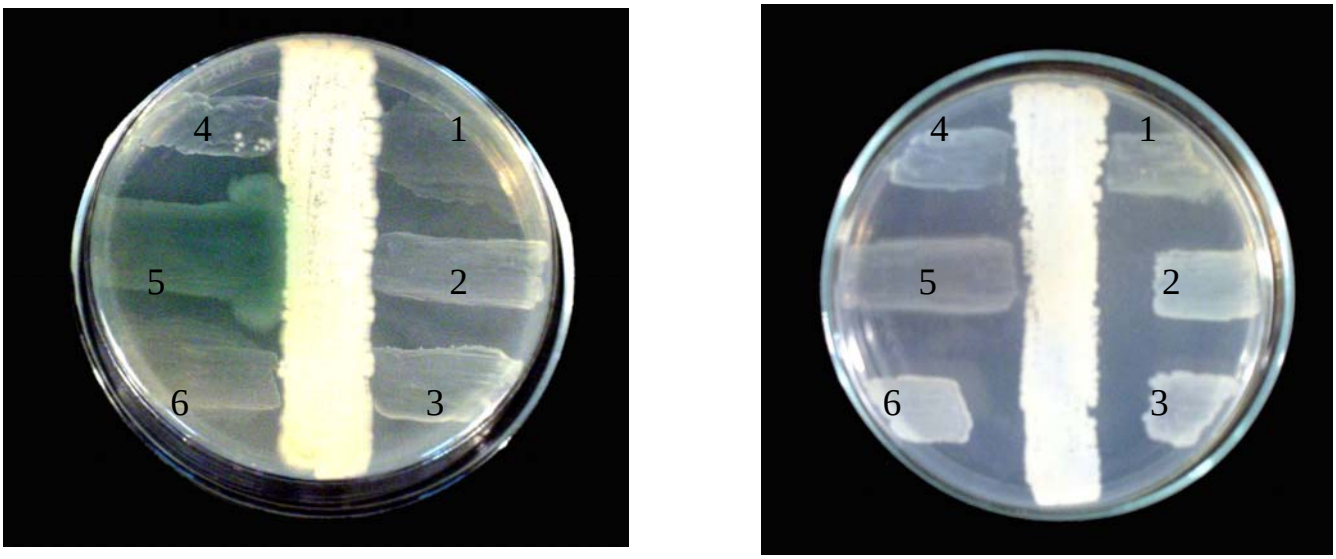
يلاحظ من العزلة (4) انها قد حدث فيها تحييد لانتاج المضاد بنسبة 40% وهذا ربما يدل على مورثات تشفير المضاد في هذه العزلة تقع على البلازميد وليس على الكروموسوم اذ توضح الصورة (1, A) العزلة (4) قبل التحييد وهي تنتج المضاد ضد الانواع *Bacillus subtilis* و *E. coli*

و*K. pneumoniae* بينما فقدت قدرة التأثير على الانواع سابقة الذكر بعد التحييد وكما في الصورة (1, B) بهذه النتيجة تم التاكد من عدم وقوع هذه المورثات على الكروموسوم في العزلة (4) وان السبب في عدم انتقال الصفة بالاقتران قد يعود الى ان هذا البلازميد بلازميد غير مقترن ولا يمتلك صفة الانتقال الذاتي حسب ما ذكر في Goodfellow واخرون (1983).

لاحظ Michelson وVining (1978) ان العزلة *Streptomyces spp* 3022 alpha بعد معاملتها بالمحييد acriflavine وEthidium bromide قد فقدت القدرة على انتاج مضاد الكلورامفينكول وهذا الفقدان كان بسبب التحييد البلازميدي وليس التطفير. كما تتفق نتائجنا مع ما ذكره Hapwood (1978) اذ لاحظ ان العديد من المضادات في جرثومة *Streptomyces* تشفر من مورثات واقعة على البلازميد مثل مضاد Methylenomycin و Turimycin وKanamycin وStreptomycin.

يلاحظ ايضا من الجدول (3) انه لم يحدث تحييد في صفة المحيدة على قدرتها لانتاج المضاد في العزلتين (1 و8) اذ حافظت جميع العزلات المحيدة على قدرتها لانتاج المضاد وهذا يدل ان مورثات تشفير المضاد في هاتين العزلتين ربما تقع على الكروموسوم لجرثومة *Streptomyces*، وهذا يتفق مع ذكره Goodfellow واخرون (1983)، اذ اوضح بان المضادات Actinorhodin وRed antibiotic وOxytetracyelline وRifamycin وZorbomycin المنتجة من قبل افراد جنس *Strepetomyces* تشفر من قبل مورثات تقع ضمن منظومات Operons وان المورثات التركيبية والمنظمة تقع سوية على الكروموسوم. كما تتفق نتائجنا مع ما توصل اليه Ahmed وVining (1983) اذ لاحظ ان المورثات المسؤولة عن انتاج مضاد الكلورامفينكول تقع على الكروموسوم وذلك بعد بقاء القدرة على انتاج هذا المضاد بعد تحييد العزلة *Streptomyces venezuelae* باستخدام الـ acriflavine و الـ Ethidium Bromide.

الصورة 1: العزلة (4) من جرثومة *Streptomyces* قبل التحييد (A) وبعد التحييد (B) يوضح فقدان القدرة على انتاج المضادات ضد الانواع الاختبارية



(B) (A)

1- *P. mirabilis*
2- *K. pneumoniae*
3- *E. Coli*
4- *S. aureus*
5- *P. aeruginosa*
6- *B. subtilis*

المصادر العربية

السماك، اسراء غانم, 2006. دراسة تصنيفية لمجموعة البكتريا الخيطية, اطروحة دكتوراه، كلية العلوم، جامعة الموصل.

المصادر الأجنبية

Ahmed, Z.U., and Vining, L.C., 1983. Evidence for a chromosomal location of the genes coding for chloramphenicol production in *Streptomyces venezuelae*, J. Bacteriol, 154: pp.239-244.

Bull, A.T., and Meadow, P.M., 1978. Companion to Microbiology, Longman group ltd. London.

Butler, M.J.; Bruheim, P.; Jovetic, S.; Marinelli, F.; Postma, P.W., and Bibb, M.J., 2002. Engineering of primary carbon metabolism for improved antibiotic production in *Streptomyces lividans*, Applied and Environmental Microbiology, 68, pp.4731-4739.

Butler, M.J.; Takano, E.; Brueim, P.; Jovetic, S.; Marinelli, F., and Bibb, M.J., 2003. Deletion of scb A enhances antibiotic production in *Streptomyecs lividans*, Appl Microbiol Biotechnology, 61: pp.512-516.

Cook, A.E., and Meyers, P.R., 2003. Rapid identification of filamentous actinomycetes to the genus level using genus-specific 16S rRNA gene restriction fragment patterns. Int. J. Syst. Euol. Microbiol., 53: 1907p.

Crameri, R.; Davies, J.E., and Hutter, R., 1986. Curing and generation of mutations induced with ethidium bromide in Streptomycetes, J. Gen. Microbiol., 132: pp.819-824.

Goodfellow, M.; Mordarski, M., and Williams, S.T., 1983. The biology of the Actinomycetes, Academic press Inc. London.

Gupte, M.D., and Kulkarni, P.R., 2002. A study of Antifungal antibiotic production by *Streptomyces chattanoogensis* MTCC 3423 using full factorial design, letters in applied microbiology, 35: pp.22-26.

Hopwood, D.A., 1993. Genetic engineering of *Streptomyces* to create hybrid antibiotics. Curr. Opinion Biotechnol. 4, pp.531-785.

Hapwood, D.A., 1978. Extrachromosomally determined antibiotic production in: Annual review of microbiology, Vol. 32.

Hosted, T.J.; Wang, T., and Horan, A.C., 2004. Characterization of the *Streptomyces lavendulae* IMRU 3455 linear plasmid pSLV45, Microbiology, 150: pp.1819-1827.

Kinashi, H.; Otten, S.L.; Duncan, J.S., and Hutchinson, C.R., 1998. Frequent loss and restoration of antibiotic production by *Streptomyes lasalinesis*, J. Antibiotic, 41: pp.624-637.

Ma, Y.; Patel, J., and Parry, R.J., 2000. A novel valinomycin-resistance determinant (*vlmF*) from *Streptomyces viridifaciens* MG456-hF10, Microbiology, 146: pp.345-352.

Meinhardt, F.; Schaffrath, R., and Larsen, M., 1997. Microbial linear plasmids, Appl. Microbiol Biotechnol. 47: pp.329-336.

Michelson, A.M., and Vining, L.C., 1978. Loss of chloramphenicol production in strains of *Streptomyces* species 3022 alpha treated with acriflavine and ethidium bromide, Can. J. Microbiol., 24: pp.662-669.

Olsen, J.E.; Brown, D.J.; Baggesen, D.L., and Bisgaard, M., 1992. Biochemical and molecular characterization of *Salmonella entrica* serova berta, and comparison of methods for typing, Epidemiol. Infect. 108: pp.243-260.

Omura, S., 2001. Genome sequence of an industrial microorganism *Streptomyces avermitilis*: Deducing the ability of producing secondary metabolites, Proc. Natl Acad Sci USA. 98: pp.12215-12220.

Pang, Y.; Brown, B.A.; Steingrube, V.A.; Wallace, J.R., and Rober, M.C., 1994. Tetracycline resistance determinants in Mycobacterium *Streptomyces* species, Antimicrobial Agents and Chemotherapy 38: pp.1408-1412.

Puhler, A., and Timmis, N.K., 1984. Advances in Molecular genetics, Springer-Verlarg, New York.

Ravel, J.; Schrempf, H., and Hill, R.T., 1998. Mercury resistance is encoded by transferable giant linear plasmids in two chesapeake bay *Streptomyces* strains and environmental Microbiology, 64: pp.3383-3388.

Ravel, J.; Wellington, E.M.H., and Hill, R.T., 2000. Interspecific transfer of *Streptomyces* Giant linear plasmids in sterile amended soil microcosms. Applied and Environmental Microbiology, 66: pp.529-534.

Rubin, S. J., and Rosenblum, E.D., 1971. Effects of Ethidium bromide on growth and loss of the penicillinase plasmid of *Staphylococcus aureus* J. Bacteriol., 108: pp.1200-1204.

Sahin, N., and Ugur, A., 2003. Investigation of the antimicrobial activity of some streptomyces isolates Turk. J. Biol., 27: pp.79-84.

Sykes, G., and Skinner, F.A., 1973. Actinomycetales characteristics and practical importance, Academic press INC., London.

Tabakov, V.Y; Emelyanova, L.K.; Antonova, S.V., and Voeikova, T.A., 2001. Effect of the bacterial Haemoglobin *vhb*Gene on the efficiency of intergeneric conjugation *Escherichia coli – Streptomyces* and biosynthesis of antibiotics in *Streptomyces*, Russian Journal of Genetics, 37: pp.332-334.