جداسازی باکتری‌های تولیدکنندهٔ مواد آنتی‌باکتریال از خاک شور

انسیه صالح قمری*، مرضیه حسینی و فاطمه طاهری

دریافت: ۱۳۹۶/۱۰/۱۳/ اصلاح: ۱۳۹۷/۰۳/۰۵/ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۳/۳۰/ انتشار: ۱۳۹۷/۱۲/۲۸

گروه علوم سلولی و مولکولی، دانشکدهٔ علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران
*مسئول مکاتبات: esaleh@khu.ac.ir

چکیده. خاک‌های شور دارای پراکندگی وسیعی در کشور ایران هستند. این خاک‌های بکر منبع بسیار بارزشی برای جداسازی باکتری‌های جدید با متابولیت‌های با کارکرد بالا در زیست فن‌آوری هستند. سویه‌های اکتینومیست از محیط کشت‌های نشاسته کازئین آگار و ISP2 با درصدهای مختلف از نمک سدیم کلرید (۰، ۵ و ۱۰ درصد) از نمونه‌های خاک تیمارشده جدا شدند. کلنی‌های خالص باکتری‌ها، روی محیط کشت گلیسرول کازئین کشت داده شدند و پس از رشد کامل با لایه نازکی از مولر هینتون آگار (۱ درصد) حاوی *Staphylococcus aureus* مقاوم به متی سیلین (MRSA) پوشیده شدند. متابولیت‌های فعال سویه‌های منتخب استخراج و به روش انتشار در ژل بررسی شدند. ۳۸ درصد از جدایه‌ها تولیدکنندهٔ ترکیبات متابولیتی با فعالیت آنتی‌بیوتیک علیه این پاتوژن بودند. متابولیت‌های تولیدشده توسط جدایه‌های act-2 و act-5 که دارای هاله عدم رشد موثرتری علیه MRSA بودند استخراج و اثر ضد MRSA عصاره act-5 نشان داده شد. همچنین اثر ضدمیکروبی سویه act-5 علیه سایر باکتری‌ها نیز بررسی شد و باکتری مورد نظر شناسایی شد. در این تحقیق برای اولین بار اکتینومیست‌های نمک دوست تولیدکننده ترکیبات فعال زیستی از خاک‌های شور شهرستان قم جداسازی شدند و پتانسیل تولید متابولیت‌های ضد MRSA توسط این میکروارگانیسم‌ها تحت بررسی قرار گرفت. نتایج این تحقیق، پتانسیل اکتینومیست‌های خاک شور را برای تولید متابولیت‌های مفید نشان می‌دهد.

واژه‌های کلیدی. استافیلوکوکوس اورئوس، اکتینومیست، باکتری‌های نمک دوست، متابولیت ثانویه، مقاوم به متی سیلین

Isolation of antibacterial material-producing bacteria from saline soil

Ensieh Salehghamari*, Marzieh Hosseini & Fatemeh Taheri

Received 03.01.2018/ Revised 26.05.2018/ Accepted 20.06.2018/ Published 19.03.2019

Department of Cell and Molecular Sciences, Faculty of Biological Sciences, Kharazmi University, Tehran, Iran
*Correspondent author: esaleh@khu.ac.ir

Abstract. Saline soils are widely spread in Iran. These intact soils are a great source for the isolation of new bacteria with highly functional metabolites in biotechnology. Actinomycete strains were isolated on starch casein agar and ISP2 with different concentrations of sodium chloride (0, 5 and 10%) from treated soil samples. Pure colonies were cultured on a casein glycerol medium. After complete growth, the plates were covered with a thin layer of Muller Hinton Agar (1%) containing methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). Active metabolites of selected strains were extracted and their antibacterial activities analyzed by agar well diffusion method. 38% of isolates produced antibiotics against the pathogen. The metabolites produced by act-2 and act-5 isolates, which had a more effective inhibition zone against MRSA, were extracted and anti MRSA activity of act-5 extract was shown. The antimicrobial activity of act-5 against other bacteria was also investigated and the bacterium was identified. In this study halophilic actinomycetes producing bioactive compounds were isolated from the saline soils of Qom and the anti-MRSA potential of their metabolites was investigated for the first time. The results of this study show the potential of saline soil actinomycetes for the production of useful metabolites.

Keywords. actinomycete, halophilic bacteria, methicillin resistant, secondary metabolite, *Staphylococcus aureus*

مقدمه

ایران ازجمله کشورهایی است که خاک‌های شور در آن به فراوانی یافت می‌شود. به‌طوری‌که بسیاری از مناطق خشک و نیمه-خشک کشور از جمله مناطق مرکزی ایران خاک‌های شور دارند (Mohammadi *et al*., 2013). گرچه شوری خاک یکی از مسائل محدودکنندهٔ تولید پایدار در کشاورزی است، اما این محیط‌های بکر خاستگاه میکروارگانیسم‌های نمک‌دوست با تنوع زیستی زیاد هستند. این میکروارگانیسم‌های نمک‌دوست در تولید متابولیت‌های باارزش در زمینه زیست‌فن‌آوری توان زیادی دارند. متابولیت‌های تولیدشده با این میکروارگانیسم‌های نمک‌دوست در صنایعی همچون تولید شوینده، تصفیه پساب و تولید آنتی‌بیوتیک کاربرد بسیاری دارد (Ventosa *et al*., 1998; Yin *et al*., 2015). ازجمله باکتری‌های مهم در تولید آنتی‌بیوتیک، می‌توان به اکتینومیست‌های نمک‌دوست اشاره نمود. اکتینومیست‌ها، پروکاریوت‌هایی هستند که به‌صورت آزاد، ساپروفیت و گاهی همزیست باگیاهان به‌سر می‌برند و می‌توان آنها را در همهٔ اکوسیستم‌ها ازجمله خاک، آب، رسوبات دریایی و آب‌های گرم مشاهده کرد. اما محیط زیست اصلی آنها خاک بوده و جمعیت بزرگی از فلور طبیعی آن را تشکیل می‌دهند (Ventosa *et al*., 1998; Yin *et al*., 2015). تخمین زده می‌شود که این باکتری-ها، بیش از ۷۰۰۰ متابولیت را سنتز می‌کنند (Singh *et al*., 2006). تولیدات طبیعی میکروبی برای چندین دهه، یکی از موفق ترین منابع دارویی برای درمان بیماری‌های عفونی بودند. مقاومت زیاد قارچ‌ها و باکتری‌های مقاوم به طیف گسترده‌ای از آنتی-بیوتیک‌های شناخته شده، ازجمله چالش‌های مهم امروز بوده و کشف ترکیبات طبیعی با خاصیت ضدمیکروبی جدید برای رفع این مشکل ضروری است (Demain & Sanchez, 2009). در این میان استفاده از اکتینومیست‌های نمک‌دوست و جداسازی آنها از خاک‌های شور و بکر می‌تواند راهکار مناسبی به‌منظور جستجوی آنتی‌بیوتیک‌های جدید باشد. *Staphylococcus aureus* مقاوم به متی‌سیلین (MRSA) از عوامل مهم عفونت‌های بیمارستانی مقاوم به دارو است. تاکنون تلاش‌های زیادی در جهت کشف داروهای ضدمیکروبی جدید برای تأمین این مهم انجام شده است. گرچه داروهای شیمیایی نقش مهمی در درمان برخی بیماری‌ها ایفا می‌کنند اما همچنان طبیعت بکر به‌مثابهٔ‌مهم‌ترین منبع برای یافتن داروهای جدید به‌شمار می‌رود (Zhu *et al*., 2014; Claverias *et al*., 2015; Ramesh & Mathivanan, 2009). بنابراین، جداسازی گروه‌های جدید میکروبی از منابع بکر و گسترده ایران ازجمله مناطقی با خاک‌های شور می‌تواند به شناسایی ترکیبات با خواص ضد میکروبی جدید منجر شود. ازآنجایی‌که ایران دارای متنوع‌ترین اقلیم‌ها در بین کشورهای منطقه است، می‌توان سویه‌های اکتینومیست نمک‌دوست قدرتمندی در زمینهٔ تولید متابولیت‌های ثانویه به‌ویژه آنتی‌بیوتیک‌ها را در آن شناسایی و جداسازی کرد. بنابراین در این پژوهش سعی می‌شود با جداسازی باکتری‌های جدید از محیط‌های بکر خاک‌های شور اطراف قم بتوان به ترکیبات ضدمیکروبی جدید دست پیدا کرد.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری از خاک

شش نمونه از خاک‌های شور منطقه شرقی اطراف قم از عمق ۵ سانتی متری خاک و همچنین خاک اطراف ریزوسفر درلوله‌های پلاستیکی استریل باحجم ۵۰ میلی‌لیتر جمع‌آوری شدند و در عرض ۳ ساعت به آزمایشگاه منتقل شده و در دمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری شدند.

جداسازی اکتینومیست‌ها از خاک

جهت جداسازی اکتینومیست‌ها، سوسپانسیونی از نرمال سالین ۵ درصد و نمونه‌های تیمار داده شده با استفاده از حرارت خشک (۱۰۰ درجهٔ سانتی‌گراد و به مدت یک ساعت) تهیه و به مدت یک ساعت در دمای ۲۸ درجهٔ سانتی‌گراد با ۱۵۰ دور در دقیقه گرماگذاری شد. ۱۰۰µl از رقت‌های تهیه‌شده (10^{-2}، 10^{-3} و 10^{-4}) در محیط کشت‌های نشاسته کازئین آگار و ISP2 در pH ۸ و بادرصدهای مختلف از نمک کلرید سدیم شامل صفر ، ۵ و ۱۰ درصد گسترش داده شد. محیط‌های کشت دارای آنتی‌بیوتیک‌های نالیدکسیک اسید (۱۰ mg/l) و نیستاتین (۵۰ mg/l) برای جلوگیری از رشد به ترتیب باکتری‌ها و قارچ‌ها بودند. پلیت‌ها در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد انکوبه شده و پس از ۷-۱۴ روز باکتری‌ها ، ظاهر شدند. اکتینومیست‌ها براساس ویژگی‌های ظاهری و مورفولوژیکی ،خالص‌سازی شدند. همچنین از اسپور اکتینومیست‌ها که به کمک توئین ۰/۲درصد جداسازی شده بودند،

در گلیسرول استوک تهیه شد و دردمای ۲۰-درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری شد .

بررسی تحمل پذیری به نمک

برای آزمون تحمل نمک از محیط کشت Sea Water تغییر یافته (عصاره مخمر ۰/۵ درصد) در pH ۸ و با درصد نمک کلرید سدیم ۰ تا ۵ درصد استفاده شد. باکتری‌هایی که در محیط کشت دارای ۵ درصد نمک بهتر از محیط بی‌نمک رشد کردند، نمک-دوست در نظر گرفته شدند.

غربالگری اکتینومیست‌های جداشده تولیدکنندهٔ متابولیت-های ضد MRSA به روش spektra-plak تغییریافته

جدایه‌های خالص‌شده روی محیط کشت نشاسته کازئین، به-صورت دایره‌ای به قطر نیم سانتی‌متر کشت داده شده و در دمای ۲۹ درجهٔ سانتی‌گراد به مدت ۵ روز نگه داری شد. سپس محیط-های کشت با لایه‌ای نازک از محیط کشت نوترینت آگار (میزان آگار ۱ درصد (W/V) تنظیم شد) حاوی پاتوژن تلقیح شده پوشیده و به مدت یک شب، دردمای ۳۷ درجهٔ سانتی‌گراد انکوبه شدند. گونه‌های فعال علیه MRSA، با بروز هاله‌های عدم رشد، مشخص شدند (Saadoun & Muhana, 2008).

استخراج متابولیت ثانویه برای بررسی فعالیت ضد MRSA به روش انتشار در ژل

به‌منظور تولید متابولیت ضد MRSA از محیط کشت ISP2 در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد و ۲۲۰ دور شیکر در دقیقه به مدت ۵ روز استفاده شد. سلولها پس از رشد به کمک سانتریفوژ در شرایط ۴۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه رسوب داده شدند. مایع تخمیر برای استخراج با حلال اتیل استات به کار گرفته شد. مخلوط مایع تخمیر و حلال (۱:۱ v/v) در شیکر به مدت ۲ ساعت قرار گرفت. لایه آلی برداشت و تغلیظ شد. اثر ضد MRSA عصاره اکتینومیستی به روش انتشار در ژل در محیط کشت مولر هینتون آگار بررسی شد. بدین منظور چاهک گذاری با قطر ۶ میلی متر در محیط کشت انجام و در هر چاهک ۱۰۰ میکرولیتر عصاره وارد شد (Saadoun & Muhana, 2008). پلیتها در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد و به مدت ۲۴ ساعت گرماگذاری شدند. آزمایش با سه بار تکرار انجام شد.

همچنین به منظور بررسی وسیع الطیف بودن ماده آنتی باکتریال استخراج شده از سویه منتخب، تاثیر آن بر دو باکتری گرم مثبت *Micrococcus loteus* ATCC 9341 و *Bacillus subtilis* ATCC 6633 و دو باکتری گرم منفی *Escherichia coli* ATCC 10536 و *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031 نیز بررسی شد.

شناسایی مولکولی سویه

برای شناسایی باکتری، DNA ژنومی آن به روش Salting out استخراج شد (Kieser *et al.*, 2000). ژن 16s rDNA بوسیله پرایمرهای 8F (GAGTTTGATCCTGGCTCAG-3′-5′) و 1542R (AGAAAGGAGGTGATCCAGCC-3′-5′) تکثیر شد و برای تعیین توالی به شرکت ماکروژن (کره جنوبی) فرستاد شد.

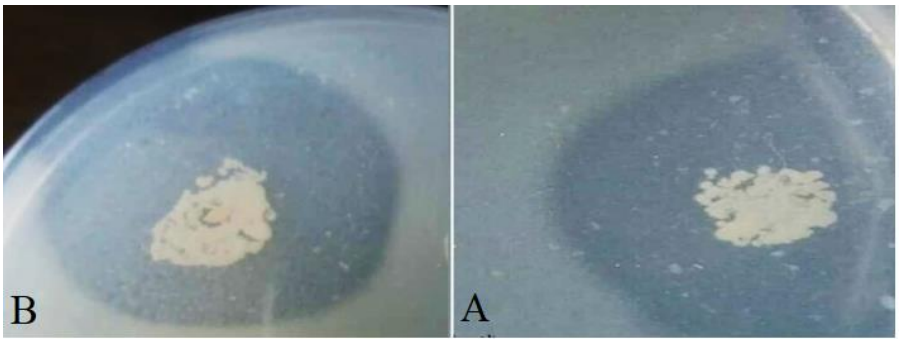
نتایج

غربالگری جدایه ها

شش نمونه خاک از خاکهای شور ریزوسفری و غیر ریزوسفری اطراف قم جمع آوری شد. پس از گذشت یک ماه دوره گرماگذاری، تعداد ۳۴ جدایه از نمونه های خاک در محیطهای کشت دارای آنتی بیوتیک نیستاتین و نالیدکسیک اسید غربال شدند. ۸۲ درصد از سویه‌ها مربوط به نمونه ریزوسفری بودند. همه جدایه ها توانایی تولید میسلیوم هوایی و زمینی داشتند و بیشتر آنها دارای سرعت رشد پایین، هوازی، گچی شکل و دارای میسلیوم هوایی و زمینی با رنگهای سفید، زرد، نارنجی و تعداد معدودی به رنگ قرمز، قهوه‌ای، خاکستری، آبی و سبز بودند. جدایه‌ها جهت بررسی تحمل نمک تحت بررسی قرار گرفتند. از ۳۴ جدایه خالص سازی شده ۸۱ درصد نمک دوست و ۱۹ درصد تحمل کننده نمک ۵ درصد بودند.

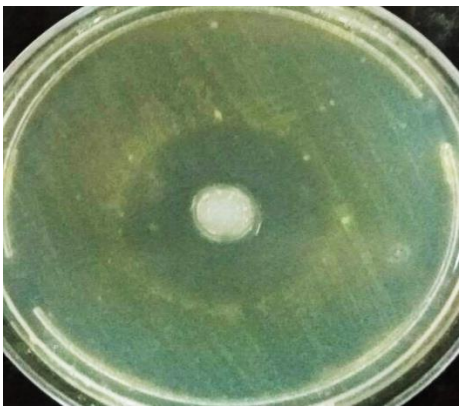
بررسی تولید متابولیت ضد MRSA در اکتینومیست‌های خالص‌سازی‌شده به روش spektra plak تغییریافته

تمامی اکتینومیست‌های جدا شده جهت تولید متابولیت علیه MRSA تحت بررسی کیفی قرار گرفتند. از میان ۳۲ جدایه ۱۳ درصد دارای هاله عدم رشد با قطر حدود ۴۰-۲۰ میلی متر بودند که نشان از حساسیت بالای MRSA نسبت به آنتی‌باکتریال تولید شده توسط سویه‌ها داشت. ۲۵درصد از جدایه‌ها دارای قطر هاله عدم رشد ۲۰-۱۵ میلی‌متر بودند که نشان‌دهندهٔ حساسیت نسبی پاتوژن نسبت به متابولیت‌های تولید شده داشت و ۶۲ درصد از جدایه‌ها هاله عدم رشد نسبت به MRSA تولید نمی‌کردند. جدایه‌های act-2 و act-5 دارای بیشترین هاله‌های عدم رشد علیه MRSA بودند (شکل ۱).



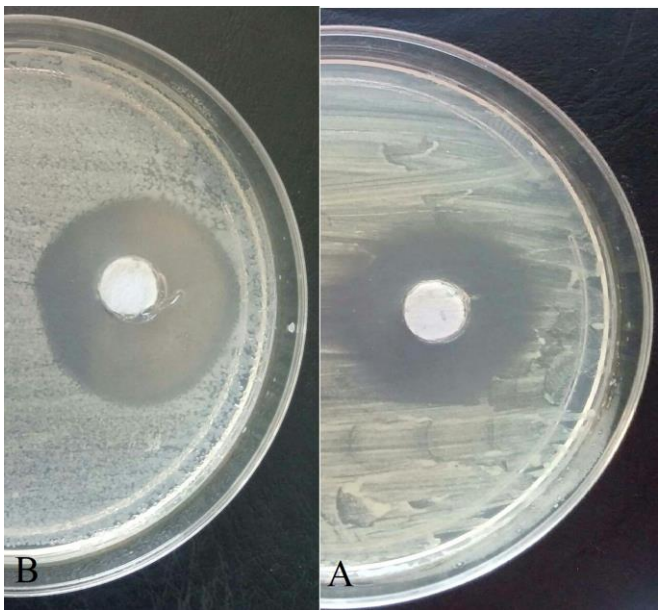
شکل ۱- تولید متابولیت ضد MRSA و ایجاد هاله عدم رشد در دو سویه **A:** act-5 و **B:** act-2.

Fig. 1. Anti MRSA metabolite production and formation of inhibition zone by the strain **A:** act-5 and strain **B:** act-2.



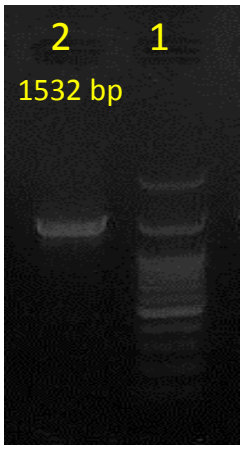
شکل ۲- تولید هاله عدم رشد علیه MRSA در جدایه act-5 به روش انتشار در چاهک.

Fig. 2. Formation of anti MRSA inhibition zone by act-5 extract by well diffusion method.



شکل ۳- تولید هاله عدم رشد علیه ***M. loteus*** **:A** و ***B. subtilis*** **:B** در جدایه act-5 به روش انتشار در ژل.

Fig. 3. Production of inhibition zone against **A:** *M. loteus* and **B:** *B. subtilis* in act-5 isolate by agar well diffusion method.



شکل ٤- شناسایی مولکولی سویه act-5 به روش تکثیر ژن 16S rDNA. چاهک اول نردبان مولکولی و چاهک دوم ژن 16S rDNA.

Fig. 4. Molecular identification of act-5 strain by 16S rDNA gene replication, the first well contains molecular ladder and the second well contains 16S rDNA gene.

استخراج عصاره اتیل استاتی از اکتینومیست‌های منتخب و بررسی اثر ضد باکتریایی آن به روش انتشار در ژل

بر اساس سنجش کیفی انجام شده دو اکتینومیست act-2 و act-5 به منظور استخراج عصاره اتیل استاتی انتخاب شدند. پس از کشت و ۵ روز گرماگذاری، عصاره خام سویه ها تهیه شد. بر اساس سنجش کیفی مشخص شد که سویه act-5 دارای متابولیت فعال در ماده استخراجی توسط اتیل استات علیه MRSA است (شکل ۲). هاله عدم رشد به دلیل متابولیت تولید شده در act-5 برابر ۳۲ میلی متر است. از act-2 متابولیت آنتی MRSA استخراج نشد. همچنین اثر آنتی باکتریال عصاره استخراج شده از سویه act-5 نیز علیه دو باکتری گرم مثبت و دو باکتری گرم منفی بررسی شد. اثر آنتی باکتریال عصاره استخراج شده بر دو باکتری *M. loteus* و *B. subtilis* در شکل ۳ نشان داده شده است و قطر هاله عدم رشد تشکیل شده برای دو باکتری به ترتیب ۲,۲ و ۳۰ میلی متر گزارش شد.

شناسایی مولکولی سویه

بر اساس بررسی توالی ژن 16s rDNA سویه act-5 این باکتری بیشترین تشابه (۹۹/۸ درصد) را به گونه *Streptomyces youssoufiensis* نشان داد. این ژن در پایگاه داده GeneBank تحت کد دسترسی MK377001 ثبت شد.

بحث

براساس مطالعات انجام شده اکتینومیست‌ها بزرگترین گروه باکتری‌های تولید کننده متابولیت‌های ثانویه هستند. در طی چند دهه گذشته ترکیبات ضد میکروبی زیادی از این گروه خالص سازی شده است (Bredholt *et al.*, 2008). از آنجایی که تقاضا برای تولید آنتی‌بیوتیکهای جدید همچنان وجود دارد، استفاده از محیط‌های بکر و به ویژه شور برای جداسازی این باکتری‌ها می‌تواند در این زمینه تاثیر بسزایی داشته باشد. در این گزارش هالواکتینومیستها از خاک‌های بکر و شور استان قم جداسازی شدند. بیشترین تعداد اکتینومیستها مربوط به خاک ریزوسفری بود. در سایر مقالات نیز به این موضوع اشاره شده است که اکتینومایستهای متنوعی در ریزوسفر گیاهان وجود دارند و اهمیتی بالایی در روابط همزیستی، آنتاگونیستی و رقابتی با گیاه و گونه‌های مختلف میکروبی در ریزوسفر دارند (Trabelsi *et al.*, 2016; Xue *et al.*, 2013). برای جداسازی اکتینومیست‌ها از دو محیط کشت ویژه برای جداسازی این باکتری ها به نام ISP2 و نشاسته کازئین استفاده شد(Iwai & Omura, 1992). باکتری‌های جداسازی شده برای بررسی فعالیت ضد MRSA مورد بررسی قرار گرفتند. هاله‌های عدم رشد با قطر ۲۰-۴۰ میلی متر که در ۱۳ درصد از اکتینومیستهای خالص شده یافت شد، نشان از پتانسیل بالای باکتری‌های غربال شده داشت و می‌توان این سویه ها را به عنوان منبع جدیدی برای جستجوی ترکیبات جدید در نظر گرفت. بدین منظور دو سویه با بزرگترین هاله عدم رشد برای استخراج ماده موثره در نظر گرفته شدند. در این میان فقط act-5 هاله عدم رشد علیه MRSA را نشان داد. عدم ایجاد هاله توسط

act-2 می‌تواند به دلیل تولید متابولیتی باشد که قابلیت حل شدن در اتیل استات را به دلیل به شدت قطبی بودن و یا به شدت غیر قطبی بودن نداشته باشد. بنابراین بایستی از حلال‌هایی همچون اتانول به عنوان یک حلال قطبی و یا هگزان به عنوان یک حلال غیرقطبی استفاده نمود.

در مقایسه با کار سایر دانشمندان بر روی متابولیت‌های تولید شده در اکتینومیست‌ها و هالو اکتینومایست‌ها، قطر هاله عدم رشد بدست آمده در این پژوهش توسط سویه act-5 (۳۲ میلی متر) بیشتر از موارد گزارش شده در سایر گزارشات (۱۴–۲۵ میلی متر) بوده است (Gurung *et al.*, 2009; Jenifer *et al.*, 2013; Sharma *et al.*, 2011).

بررسی اثر عصاره استخراج شده از act-5 بر سایر باکتری‌ها نشان داد که این عصاره فقط علیه دو باکتری گرم مثبت *M. loteus* و *B. subtilis* اثر ضد میکروبی دارد این امر نشان میدهد که ماده آنتی باکتریال بر گرم منفی ها اثر نداشته و بنابراین وسیع الطیف نیست. از آنجایی که آنتی بیوتیکهایی که بر تعداد محدودی از باکتری‌ها اثر مهاری دارند نسبت به آنتی بیوتیکهای وسیع الطیف ارجح هستند بنابراین میتوان از عصاره این باکتری برای مراحل بعدی شناسایی ساختار ترکیب آنتی بیوتیک استفاده نمود (Fischbach & Walsh, 2009). در این گزارش برای اولین بار در گونه *S. youssoufiensis* اثر آنتی MRSA گزارش شده است.

همچنین از آنجایی که بر روی هالواکتینومیستها مطالعات کمتری انجام گرفته است و بر اساس اطلاع ما تا کنون مطالعه ویژه‌ای بر جداسازی هالو اکتینومیستها از خاکهای شور قم انجام نگرفته است، با جداسازی این نوع از باکتری‌ها از خاک‌های شور و بکر قم می‌توان منبع مهمی برای کشف ترکیبات ثانویه مختلف از جمله آنتی‌بیوتیک‌های جدید ایجاد نمود.

سپاسگزاری

نویسندگان این مقاله از آقای حمیدرضا جعفری برای همراهی در نمونه برداری و فراهم آوردن تجهیزات لازم در بهبود مقاله قدردانی می‌کنند. همچنین پشتیبانی مالی این مطالعه با کمک دانشگاه خوارزمی انجام پذیرفت.

REFERENCES

Bredholt, H., Fjærvik, E., Johnsen, G. and Zotchev, S.B. 2008. Actinomycetes from sediments in the Trondheim fjord, Norway: diversity and biological activity. – Mar. Drugs 6: 12-24.

Demain, A.L. and Sanchez, S. 2009. Microbial drug discovery: 80 years of progress. – J. Antibiotics 62: 5.

Claverias, F.P., Undabarrena, A., Gonzalez, M., Seeger, M. and Camara B. 2015. Culturable diversity and antimicrobial activity of Actinobacteria from marine sediments in Valparaísobay. Chile. – Front. Microb. 6: 737-743.

Fischbach, M.A. and Walsh, C.T. 2009 Antibiotics for emerging pathogens. – Science. 325: 1089-1093.

Gurung, T.D., Sherpa, C., Agrawal, V.P. and Lekhak, B. 2009. Isolation and characterization of antibacterial actinomycetes from soil samples of Kalapatthar, Mount Everest Region. – Nepal J. Sci. Technol. 10: 173-182.

Iwai, Y. and Omura, S. 1992. Cultural conditions for screening of new antibiotics. – J. Antibiot. 34: 123-141.

Jenifer, J.S.C.A., Donio, M.T.B.S., Viji, V.T., Velmurugan, S., Babu, M.M., Dhas, S.A. and Citarasu T. 2013. Halo-alkaliphilic actinomycetes from solar salt works in India: diversity and antimicrobial activity. – Blue Biotechnol. J. 2: 137-142.

Kieser, T., Bibb, M.J., Buttner, M.J., Chater, K.F. and Hopwood, D.A. 2000. Practical *Streptomyces* Genetics. Crowes, Norwich, England.

Mohammadi, A., Calagari, M., Ladan-Moqaddam, AR. and Mirakhori, R. 2013. Investigation on growth and physiological characteristics of *Populus euphratica* Oliv. Provenances at Garmsar Desert Station. – Iran. J. For. Poplar Res. 21: 115-125

Ramesh, S. and Mathivanan, N. 2009. Screening of marine actinomycetes isolated from the Bay of Bengal, India for antimicrobial activity and industrial enzymes. – World. J. Microb. Biot. 25: 2103-2111.

Saadoun, I. and Muhana, A. 2008. Optimal production conditions, extraction, partial purification and characterization of inhibitory compound(s) produced by *Streptomyces* Ds-104 isolate against multi-drug resistant Candida albicans. – Curr. Trends Biotechnol. Pharm. 2: 402-420.

Sharma, D., Kaur, T., Chadha, B.S. and Manhas, R.K. 2011. Antimicrobial activity of actinomycetes against multidrug resistant *Staphylococcus aureus*, *E. coli* and various other pathogens. – Trop. J. Pharm. Res. 10: 801-808.

Singh, L.S., Baruah, I. and Bora, T.C. 2006. Actinomycetes of Loktak habitat: isolation and screening for antimicrobial activities. – Biotechnol. 5: 217-221.

Trabelsi, I., Oves, D., Manteca, A., Genilloud, O., Altalhi, A. and Nour, M. 2016. Antimicrobial activities of some Actinomycetes isolated from different rhizospheric soils in Tunisia. – Curr. Microbial. 73: 220-227.

Ventosa, A., and Nieto. J.J. and Oren, A. 1998. Biology of moderately halophilic aerobic bacteria. – Microbiol. Mol. Biol. Rev. 62: 504-544.

Xue, L., Xue, Q., Chen, Q., Lin, C., Shen, G. and Zhao, J. 2013. Isolation and evaluation of *Rhizosphere actinomycetes* with potential application for biocontrol of Verticillium wilt of cotton. – Crop Prot. 43: 231-240.

Yin, J., and Chen, J.C. and Wu, Q. and Chen, G.Q. 2015. Halophiles, coming stars for industrial biotechnology. – Biotechnol. Adv. 33: 1433-1442.

Zhu, H., Swierstra, J., Wu, C., Girard, G., Choi, Y.H., Wamel, W.V., Sandiford, S.K. and Wezel, G.P. 2014. Eliciting antibiotics active against the ESKAPE pathogens in a collection of actinomycetes isolated from mountain soils. – Microbiol. 160: 1714-1726.

*****

How to cite this article:

Salehghamari, E., Hosseini, M. and Taheri, F. 2019. Isolation of antibacterial material-producing bacteria from saline soil. – Nova Biol. Reperta 2019: 372-378.

صالح‌قمری، ا.، حسینی، م. و طاهری، ف. ۱۳۹۷. جداسازی باکتری‌های تولیدکنندهٔ مواد آنتی‌باکتریال از خاک شور. – یافته‌های نوین در علوم زیستی ۱۳۹۷: ۳۷۸-۳۷۲.