

ANTIBIOTSKA AKTIVNOST NEKIH BENTOSKIH ALGA U OKOLICI SPLITA

ANTIBIOTIC ACTIVITY OF SOME BENTHIC ALGAE IN VICINITY OF SPLIT

Slavko Šobot, Ante Špan i Nada Mašković

Institut za oceanografiju i ribarstvo, Split

Ispitana je antibiotska aktivnost 21 vrste bentoskih alga u okolici Splita na 5 mikroorganizama. Određenu aktivnost je pokazalo 13 vrsta algi, a najaktivnije su bile *Dictyota dichotoma* v. *implexa* i *Cystoseira compressa*. Najosjetljiviji test organizam je bila Gram neg. bakterija *Staphylococcus pyogenes*. Intenzitet aktivnosti je ovisio o stupnju razvijenosti algi.

Antibiotic activity of 21 species of benthic algae in vicinity of Split was examined. Some activity exhibited from 13 species and the most actived species were *Dictyota dichotoma* v. *implexa* and *Cystoseira compressa*. *Staphylococcus pyogenes* appeared to be more susceptible to the inhibitory products of algae than the other microorganisms. Maximum levels of activity was depending upon degree of growth the benthic algae.

UVOD

Zagađenje mora kopnenim bakterijama, koje je ekstremno jako na mjestu izljeva gradskih otpadnih voda, dosta se brzo smanjuje udaljavanjem od izvorišta zagađenja. Razlog je tome postojanje složenog procesa samoočišćenja mora u kojem sudjeluju razni čimbenici kao npr. fenomen disperzije i sedimentacije, razni fizičko-kemijski parametri (UV zrake, temperatura, pH, salinitet, teški metali i dr.), te mikro i makro predatori. Nadalje u ovom procesu samoočišćenja mora određenu ulogu igraju izlučevine raznih morskih organizama, koje imaju antibiotsko djelovanje na kopnene mikroorganizme.

Postoje brojni radovi koji raspravljaju pojavu tvari s antibiotskim djelovanjem u morskoj sredini, a potječu od morskih organizama (kao npr. spužva, koralja, fitoplanktona, morskih bakterija i dr.). Neka od ovih istraživanja su izvršena s morskim algama. Roos (1957) je ispitivao prisustvo alga koje inhibiraju bakterijski rast u vodama Sjevernog mora, dok su Chesters and Stott (1956) izvijestili o antimikrobnim bentoskim algama na obali Velike Britanije. Allen and Dawson (1959) ispitivali su antibiotsko djelovanje talusa i ekstrakta iz tropskih bentoskih alga na mikroorganizme i u oba slu-

čaja utvrdili inhibitorno djelovanje na rast gram pozitivne, ali ne i na gram negativne bakterije. Nadalje se ističu radovi na istoj problematici grupe suradnika Sveučilišta u Puerto Rico (Burkholder et al., 1960); Martinez Nadal et al., 1963; Olesen, 1964). Sieburth (1968) je utvrdio da abundancija bakterija u morskoj vodi varira tijekom godine i da se u vrijeme intenzivnog rasta bentoskih alga opaža znatno smanjenje broja bakterija. Novija istraživanja (Helbust, 1965 i 1970) pokazala su da morske alge (bentoske i planktonske) u vrijeme intenzivnog rasta izlučuju u okolnu vodu razne organske tvari, vrlo različitog kemijskog sastava, koje su biološki jako aktivne. Prema podacima Khailov i Burakove (1968, 1969) to izlučivanje dostigne u bentoskih alga oko 23 do 39% njihove ukupne godišnje produkcije organske tvari.

Obzirom da su takva istraživanja u Jadranu malobrojna (Berti et al. 1964) pristupili smo sustavnom istraživanju antibiotske aktivnosti raznih vrsta bentoskih alga u vodama srednjeg Jadrana. Ovaj rad obuhvaća rezultate antimikrobne aktivnosti nekih bentoskih alga iz skupine Rhodophyta, Phaeophyta i Chlorophyta u okolini Splita i samo su dio opsežnijeg programa istraživanja čiji je cilj da se utvrdi ekološka uloga i opseg antibiotske aktivnosti tih alga u srednjem Jadranu, osobito u onim područjima koja su ugrožena urbanim загаđenjem.

MATERIJAL I METODE

Uzorke bentoskih alga smo skupljali na tri lokaliteta u blizini Instituta (u lučici, te 50 m sjevernije i južnije od lučice). Materijal je sabiran jednom mjesečno u mediolitoralu i infralitoralu do 1 m dubine. Period istraživanja je obuhvatio jesensko-zimsku i zimsko-proljetnu sezonu (studeni i prosinac 1976, te siječanj, veljaču, ožujak, travanj i svibanj 1977. godine). Sve ispitivane vrste alga u ovom radu su navedene u tablici 1.

Ekstrakte sakupljenih alga smo pravili iz svježeg materijala pomoću staklenog homogenizatora s teflonskim nastavkom. Na taj način dobivene ekstrakte smo nanosili na diskove filter papira Ø 1,25 cm i stavljali ih na ranije pripremljene hranjive ploče s test organizmima.

Kao test organizme smo upotrijebili G-poz. i G.-neg. bakterije *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus pyogenes*, te gljivicu *Candida albicans*. Bakterije smo održavali na hranjivoj podlozi sljedećeg sastava:

Beef extract	1,5 g
Yeast extract	3,0 g
Pepton	6,0 g
Dekstroza	1,0 g
Agar	15,0 g
Destilirana voda do	1 000 ml
pH 6,6	

U podlogu za gljivicu *Candida albicans* smo dodavali 2% dekstroze.

Testiranje smo izvršili u Petrijevim zdjelicama Ø 15 cm sa gore navedenom hranjivom podlogom inokuliranom suspenzijom pojedinog test organizma.

Tab. 1. Ispitane vrste bentoskih alga po mjesecima
Species of benthic algae tested by months

Naziv vrste	1976.		I	II	1977.		
	XI	XII			III	IV	V
CHLOROPHYCEAE							
<i>Ulva rigida</i>	—	—	—	—	—	—	—
<i>Codium dichotomum</i>	—	—	—	—	—	—	—
PHAEOPHYCEAE							
<i>Colpomenia sinuosa</i>							—
<i>Scytosiphon lomentaria</i>							—
<i>Halopteris scoparia</i>		—					
<i>Dictypteris membranacea</i>	—	—	—	—	—	—	—
<i>Dictyota dichotoma</i> v. <i>implexa</i>	—	—	—		—	—	—
<i>Taonia atomaria</i>				—	—	—	—
<i>Fucus virsoides</i>	—	—	—	—	—	—	—
<i>Cystoseira barbata</i>	—	—	—		—		
<i>Cystoseira compressa</i>	—	—	—	—	—	—	—
<i>Cystoseira crinitophylla</i>				—	—		
<i>Cystoseira stricta</i> v. <i>spicata</i>				—	—	—	—
<i>Sargassum vulgare</i>				—	—		
RHODOPHYCEAE							
<i>Pterocladia pinnata</i>		—	—	—	—	—	—
<i>Gracilaria verrucosa</i>	—	—	—	—	—	—	—
<i>Hypnea musciformis</i>	—	—		—	—		
<i>Gigartina acicularis</i>			—				
<i>Ceramium ciliatum</i>			—	—	—	—	—
<i>Spyridia filamentosa</i>	—	—					
<i>Polysiphonia sertularioides</i>						—	

Na inokulirane ploče stavljali smo diskove filter papira s ekstraktima pojedinih alga. Inkubacija je trajala 18—24 sata na 30°C, nakon čega smo vršili očitavanje zona inhibicije. U obzir smo uzimali zone inhibicije veće od 1 mm. Jačinu smo bilježili prema slijedećem ključu:

Zona inhibicije	oznaka
1—2 mm	1
2—3 mm	2
>3 mm	3
nema	0

REZULTATI I DISKUSIJA

Tijekom cijelog perioda testirano je ukupno 85 uzoraka bentoskih alga. Od njih je 34 pokazalo određenu aktivnost na jedan ili više test organizama. Rezultat antibiotske aktivnosti po pojedinim vrstama (determinirano je da uzorci pripadaju 21 vrsti bentoskih alga) je prikazan u tablici 2.

Tab. 2. Antibiotiska aktivnost testiranih bentoskih alga
Antibiotic activity of benthic algae

Alge	*) A	B	C	D	E
CHLOROPHYCEAE					
<i>Ulva rigida</i>	—	+	—	+	—
<i>Codium dichotomum</i>	—	+	—	—	—
PHAEOPHYCEAE					
<i>Colpomenia sinuosa</i>	—	—	—	—	—
<i>Scytosiphon lomentaria</i>	—	—	—	—	—
<i>Halopteris scoparia</i>	—	—	—	—	—
<i>Dictyopteris membranacea</i>	—	+	—	—	—
<i>Dictyota dichotoma</i> v. <i>implexa</i>	+	+	—	+	—
<i>Taonia atomaria</i>	—	+	—	—	+
<i>Fucus virsoides</i>	—	—	—	—	—
<i>Cystoseira barbata</i>	—	—	—	+	—
<i>Cystoseira compressa</i>	—	+	—	+	+
<i>Cystoseira crinitophylla</i>	—	+	—	—	+
<i>Cystoseira stricta</i> v. <i>spicata</i>	—	+	—	—	+
<i>Sargassum vulgare</i>	—	—	—	—	—
RHODOPHYCEAE					
<i>Pterocladia pinnata</i>	—	+	+	—	—
<i>Gracilaria verrucosa</i>	—	—	—	—	—
<i>Hypnea musciformis</i>	—	+	—	—	+
<i>Gigartina acicularis</i>	—	—	—	—	—
<i>Ceramium ciliatum</i>	—	+	—	—	—
<i>Spyridia filamentosa</i>	—	—	—	—	—
<i>Polysiphonia sertularioides</i>	—	+	—	—	+

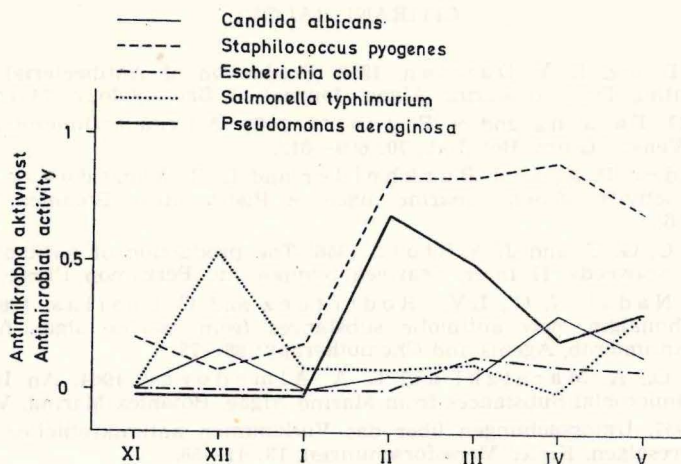
*) A — *Candida albicans*, B — *Staphylococcus pyogenes*,
C — *Escherichia coli*, D — *Salmonella typhimurium*,
E — *Pseudomonas aeruginosa*

Kao najaktivnije vrste s obzirom na broj test organizama su bile *Dictyota dichotoma* v. *implexa* i *Cystoseira compressa*, koje su djelovale inhibitorno na rast tri test organizma. Na gljivicu *Candida albicans* antibiotsku aktivnost je pokazala samo vrsta *Dictyota dichotoma* v. *implexa*, dok je na G-neg. bakteriju *Escherichia coli* djelovala samo vrsta *Pterocladia pinnata*. Test organizam *Staphylococcus pyogenes* se pokazao kao najosjetljiviji na inhibitorne produkte bentoskih alga u odnosu na ostale mikroorganizme.

Od ukupno ispitane 21 vrste algi, 13 ih je tijekom ispitnog perioda pokazalo inhibitornu aktivnost prema testiranim mikroorganizmima.

Nije se mogla uočiti određena specifičnost djelovanja ispitanih alga u odnosu na Gram pozitivne i Gram negativne mikroorganizme.

Intenzitet aktivnosti se tijekom ispitivanog perioda općenito povećavao u zimsko-proljetnom periodu, tako da možemo zaključiti da je sezonska aktivnost vezana uz stupanj razvoja organizma (sl. 1).



Sl. 1. Kolebanje antibiotske aktivnosti bentoskih alga na test organizme tijekom perioda istraživanja

Fig. 1. The antibiotic activity of benthic algae on test organisms in time (during research)

Dobiveni rezultati ukazuju na određeno antibiotsko djelovanje bentoskih alga na testirane mikroorganizme. Prema tome u morskoj vodi postoje tvari koje djeluju nepovoljno na mikroorganizme, a potječu od raznih morskih organizama (morske bakterije, fitoplankton, spužve, koralji itd), te se može smatrati da morska voda stalno posjeduje određeno antibiotsko djelovanje. U tom procesu samoočišćenja morske vode određenu ulogu imaju i bentoske alge i to naročito u priobalnom dijelu.

ZAKLJUČCI

Na temelju dobivenih rezultata ispitivanja antibiotske aktivnosti nekih bentoskih alga u okolini Splita može se zaključiti sljedeće:

1. Od ispitanih 21 vrste algi 13 vrsta je pokazalo određenu antibiotsku aktivnost na jedan ili više testiranih mikroorganizama.
2. Najizrazitije djelovanje su pokazale vrste *Dictyota dichotoma* v. *imlexa* i *Cystoseira compressa* koje su djelovale svaka na tri test organizma.
3. Gram neg. bakterija *Staphylococcus pyogenes* se pokazala kao najosjetljivija na antibiotsko djelovanje ispitanih bentoskih algi.
4. Intenzitet antibiotske aktivnosti raste uz stupanj razvoja alga.
5. Zbog lučenja antibiotskih tvari i bentoske alge sudjeluju u procesu samoočišćenja morske vode i na taj način smanjuju broj bakterija kopnenog porijekla.

CITIRANI RADOVI

- Allen, M. B. and E. Y. Dawson. 1959. Production of Antibacterial Substances by Benthic Tropical Marine Algae. *Journal of Bacteriology*, 72 (2): 459—460.
- Berti, T., G. Fassina and S. Pignatti. 1963. Attività antimicrobica di alghe Costa Veneta. *Giorn. Bot. Ital.*, 70: 609—612.
- Burkholder, P. R., L. M. Burkholder and L. R. Almodovar. 1960. Antibiotic activity of some marine algae of Puerto Rico. *Botanica Marina*, II: 149—156.
- Chesters, C. G. C. and J. A. Stott. 1956. The production of antibiotic substances by seaweeds. II Inter. Seaweed Symposium, Pergamon Press, New York.
- Martinez Nadal, N. G., L.V. Rodriguez and C. Casilas. 1963. Sarganin and Chonalgin, new antibiotic substances from marine algae from Puerto Rico. *Antimicrob. Agents and Chemotherapy*: 68—72.
- Olesen, P. O., A. Maretzki and L. A. Almodovar. 1964. An Investigation of Antimicrobial Substances from Marine Algae. *Botanica Marina*, VI: 224—232.
- Roos, H. 1957. Untersuchungen über das Vorkommen antimikrobieller Substanzen in Meeresalgen. *Kieler Meeresforschungen*, 13: 41—58.
- Sieburth, J. M. 1968. The Influence of Algal Antibiosis on the Ecology of Marine Microorganisms. *Advances in Microbiology of the sea*, 1: 63—94.

Primljeno: 22. decembra 1980.

ANTIBIOTIC ACTIVITY OF SOME BENTHIC ALGAE IN VICINITY OF SPLIT

Slavko Šobot, Ante Špan and Nada Mašković

Institute of Oceanography and Fisheries, Split

SUMMARY

Twenty one marine benthic algae of Split were tested for antibiotic activity against five species of microorganisms (*Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus pyogenes* and *Candida albicans*). Totally were tested 85 specimens of benthic algae and 34 (40%) of them showed antimicrobial activity against one or more microorganisms.

Among the most active species of algae were *Dictyota dichotoma* v. *implexa* and *Cystoseira compressa*. The most susceptible to the inhibitory products of algae was *Staphylococcus pyogenes*. Seasonal activity was depending upon degree of maturity of the algae.