

CZU: 579.6:582.26(478)

ACTIVITATEA ANTIMICROBIANĂ A UNOR TULPINI DE MICROALGE IZOLATE DIN LACUL LA IZVOR

ȚURCAN OLGA

Institutul de Microbiologie și Biotehnologie
(Colecția Națională de Microorgansime Napatogene)

Rezumat. Din apa lacului La Izvor au fost izolate opt tulpini de microalge: *Oscillatoria planktonica*, *O. brevis*, *O. acutissima*, *Chlorella vulgaris*, *Nostoc verrucosum*, *Spirulina major*, *Anabaena variabilis*, *Aphanizomenon flos-aquae*. Din biomasa acestor microalge s-au obținut extracte alcoolice și s-a determinat activitatea antimicrobiană împotriva unor tulpini fitopatogene bacterii. Astfel, conform rezultatelor experimentelor, tulpinile izolate de microalge sunt capabile să sintetizeze metaboliți care au activitate antibacteriană și antifungică împotriva anumitor fitopatogeni.

Cuvinte cheie: microalge, cianobacterii, activitate antimicrobiană

ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF MICROALGAE STRAINS ISOLATED FROM LA IZVOR LAKE

Abstract. From the "La Izvor" Lake water were isolated 8 strains of microalgae: *Oscillatoria planktonica*, *O. brevis*, *O. acutissima*, *Chlorella vulgaris*, *Nostoc verrucosum*, *Spirulina major*, *Anabaena variabilis*, *Aphanizomenon flos-aquae*. Were obtained alcoholic extracts from the biomass of these microalgae and was determined their antimicrobial activity against some phytopathogenic bacterial strains. Thus, according to the results of experiments, isolated strains of microalgae are able to synthesize metabolites that have antibacterial and antifungal activity against some phytopathogens.

Keywords: microalgae, cyanobacteria, antimicrobial activity

Introducere

În prezent, microalgele și cianobacteriile atrag din ce în ce mai mult atenția cercetătorilor datorită potențialului lor aplicativ în diverse domenii ale biotehnologiei. Aceste microorganisme sunt tot mai mult studiate datorită conținutului lor ridicat de substanțe bioactive, inclusiv metaboliți secundari [12, 14, 15] cu diverse activități biologice, cum ar fi antibacteriană, antifungică, antivirală, anticancerigenă, antimicrobiană și imunostimulatoare [8, 9, 11].

Cianobacteriile sunt destul de promițătoare pentru utilizarea lor în diverse domenii, precum farmaceutica, zootehnia, biotehnologia, cosmetologia etc. Extractele din cianobacterii au efecte fungicide, bactericide și bacteriostatice, astfel tot mai multe cercetări sunt legate de utilizarea acestor microorganisme ca sursă alternativă de

antibiotice Un exemplu este acidul eicosapentaenoic (EPA), acidul hexadecatrienoic și acidul palmitoleic izolate din *Phaeodactylum tricornutum*, care au demonstrat activitate antimicrobiană împotriva unei tulpini de *Staphylococcus aureus* rezistentă la meticilină [1, 10]. În mod similar, acizii grași nesaturați derivați din *Scenedesmus intermedius*, *Chaetoceros muelleri*, *Haematococcus pluvialis*, *Chlorococcum sp.* și *Skeletonema kastum* au activitate antimicrobiană împotriva unei game largi de bacterii gram-pozitive și gram-negative. În plus, extractele organice din *Euglena viridis* și *S. kastum* au prezentat activitate inhibitoare împotriva *Pseudomonas sp.* și *Listeria monocytogenes* [3, 16].

Microalgele și cianobacteriile au de asemenea, activitate antivirală și antifungică împotriva unei game largi de microorganisme. Gasemi și colab. au raportat că extractele cu metanol și hexan din *Chlamydomonas reinhardtii*, *Chlorella vulgaris*, *Scenedesmus obliquus* și *Oocystic sp.* previn creșterea ciupercilor patogene precum *Aspergillus niger*, *Candida kefyr* și *Aspergillus fumigatus* [7].

Alte studii au arătat că compușii biologic activi din microalge inhibă replicarea virusurilor. De exemplu, polizaharidele sulfatate izolate din *Navicula directa* și *Chlorella autotrophica* inhibă replicarea enzimei hialuronidaza a VHSV, ASFV, HSV 1 și 2 și virusul gripal A [6]. Calciu Spirulan (Ca-SP) este un polizaharid sulfatat izolat din *Spirulina platensis* care are proprietăți de a inhiba replicarea mai multor virusuri încapsulate, inclusiv virusul herpes simplex tip 1, citomegalovirusul uman, virusul rujeolei, virusul oreionului, virusul gripal A și infecția-HIV. Efectul antiviral al Ca-SP se datorează chelatării ionului de calciu cu grupările sulfat [17].

Astfel reieșind din cele expuse scopul studiului a fost determinarea activității antimicrobiene a unor microalge izolate din apa lacului "La Izvor".

Din apa lacului "La Izvor" au fost selectate pentru studiu 8 tulpini de microalge care prezintă interes pentru biotehnologie datorită caracteristicilor și proprietăților biochimice ale acestora. Culturile au fost izolate prin inocularea pe medii nutritive minerale lichide și agarizate. Extractele alcoolice (60-70%) din biomasa microalgelor au fost utilizate pentru determinarea activității antimicrobiene asupra unor culturi fitopatogene de bacterii și ciuperci din Colecția Națională de Microorganisme Nepatogene a Institutului de Microbiologie și Biotehnologie. Pe mediul agarizat distribuit în plăci Petri și inoculat cu cultura fitopatogenă, au fost formate godeuri unde au fost introduse extractele etanolice (60-70%) ale culturilor de microalge și

cianobacterii luate în studiu. Cutiile Petri au fost incubate timp de 48-72 ore la temperatura de 30°C. A fost determinat diametrul zonei de inhibiție a creșterii tulpinilor fitopatogene de referință [5].

Rezultate și discuții

Astfel, conform rezultatelor acestui studiu, se poate observa că toate cele 8 tulpini de microalge izolate din apa lacului "La Izvor" au prezentat un efect antibacterian împotriva a 3 culturi de bacterii fitopatogene, și anume, împotriva tulpinilor de *Bacillus subtilis* B-117, *Xanthomonas campestris* 8003b și *Erwinia caratovora* 8982; dar nu a putut inhiba creșterea fitopatogenilor *Corynebacterium michiganense* 13a și *Agrobacterium tumefaciens* (*Rhizobium radiobacter*) 8628.

După cum se poate observa din tabel, dintre toate microalgele izolate, *Chlorella vulgaris* a prezentat o activitate antibacteriană maximă, prezentând cele mai mari zone de inhibare a creșterii la *Bacillus subtilis* B-117 (30 mm), *Xanthomonas campestris* 8003b (26 mm) și *Erwinia caratovora* 8982 (25,5 mm).

Tabel 1. Activitatea antibacteriană a microalgelor izolate din sistemul de lacuri „La Izvor”, diametru (mm)

Microalge	Teste de cultură bacteriană, diametrul zonei de inhibiție, mm				
	<i>Bacillus subtilis</i> B-117	<i>Xanthomonas campestris</i> 8003b	<i>Corynebacterium michiganense</i> 13 a	<i>Agrobacterium tumefaciens</i> (<i>Rhizobium radiobacter</i>) 8628	<i>Erwinia caratovora</i> 8982
<i>Oscillatoria planctonica</i>	27,5	26,5	0	0	21,5
<i>Chlorella vulgaris</i>	30	26,5	0	0	25,5
<i>Nostoc verrucosum</i>	12	13	0	0	11
<i>Oscillatoria brevis</i>	16	20	0	0	10,5
<i>O. acutissima</i>	19	12	0	0	16
<i>Spirulina major</i>	28	21	0	0	0
<i>Anabaena variabilis</i>	20	17,6	0	0	11
<i>Aphanizomenon flos aquae</i>	21	17	0	0	22

Cianobacteria *O. planctonica* a prezentat, de asemenea, activitate semnificativă în inhibarea creșterii culturilor de *Bacillus subtilis* B-117 (27,5 mm) și *Xanthomonas campestris* 8003b (26,5 mm), iar *Spirulina major* are activitate antibacteriană evidentă împotriva tulpinii *Bacillus subtilis* B-117 (zona de inhibare a creșterii – 28 mm).

În prezent, extracția de noi compuși din macroalge și microalge a confirmat activitatea lor biocidă ca agenți antifungici. Datele din literatura științifică confirmă că majoritatea compușilor biologic activi conținuți în algele marine pot fi utilizați ca agenți terapeutici [4]. Cox și colaboratorii [2] au confirmat că compușii fenolici izolați din extractele uscate din alge marine sunt responsabili pentru proprietățile lor antimicrobiene. Compușii antifungici inhibă germinarea sporilor și suprimă stadiile incipiente ale creșterii miceliului [13, 18]. Activitatea antifungică a extractelor din algele verzi, diatomee și dinoflagelate se manifestă prin afectarea activității enzimelor fungice. Cordeiro și colab. au confirmat că chitinazele și β -1,3-glucanaza (care pot afecta funcția pectinazei) sunt într-adevăr recunoscute ca proteine antifungice naturale găsite pe scară largă în plante și alge marine. Este raportat în literatură că extractele brute de *P. gymnospora* și *C. frutic* au arătat aceeași eficacitate ca și fungicidul nistatin [2, 4].

Concluzii

Astfel în urma realizării studiului de testare activității antibacteriene a tulpinilor de microalge asupra unor culturi bacteriene fitopatogene se poate de menționat că toate cele 8 tulpini de microalge au manifestat acțiune antibacteriană asupra 3 culturi: *Bacillus subtilis* B-117, *Xantomonas campestris* 800 36, *Erwinia caratovora* 8982, dar nu au prezentat activitate antimicrobiană asupra tulpinii de *Corynebacterium miciganense* 13 a și *Agrobacterium tumefaciens* (*Rhizobium radiobacter*) 8628.

Cercetarea a fost finanțată în cadrul proiectului 20. 80009. 7007. 09 (ANCD).

Bibliografie

1. BENKENDORFF, A.R. DAVIS; C.N. ROGERS; J.B. BREMNER *Free fatty acids and steroids in the benthic spawn of aquatic molluscs, and their associated antimicrobial properties* J. Exp. Mar. Biol. Ecol., 316 (1) (2005), p. 29-44
2. COX, S.; ABU-GHANNAM, N.; GUPTA, S. *An assessment of the antioxidant and antimicrobial activity of six species of edible Irish seaweeds* *International Food Research Journal* (2010)17: 205-220
3. DAS, B.K., and JYOTIRMAY, P. *Antibacterial properties of selected freshwater microalgae against pathogenic bacteria* *Indian J. Fish*, 2010 57(2): 61-66.
4. ERTÜRK, Ö.; BEYHAN, T. *Antibacterial and Antifungal Effects of Some Marine Algae* *Kafkas Univ Vet Fak Derg* 17 (Suppl A): 2011 DOI:10.9775/kvfd.2010.2539, p.121-124
5. ЕГОPOB, H.C. *Основы учения об антибиотиках*. Изд. 6, перераб.2004. 528 с. ISBN 5-02-033595-9.
6. FABREGAS, J.; D.GARCÍA, M.; FERNANDEZ-ALONSO, A.I.; ROCHA, P.; GÓMEZ-PUERTAS, J.; M. ESCRIBANO; A.OTERO; J.M. COLL. *In vitro inhibition of the replication of*

- haemorrhagic septicaemia virus (VHSV) and African swine fever virus (ASFV) by extracts from marine microalgae*, Antiviral Research, Volume 44, Issue 1, November 1999, Pages 67-73
7. GHASEMI, Y.; AMENEH, M.; ABDOLALI, M.; SHADMAN, S. *Antifungal and Antibacterial Activity of the Microalgae Collected from Paddy Fields of Iran: Characterization of Antimicrobial Activity of Chroococcus disperses*, Article in Journal of Biological Sciences · June 2007 DOI: 10.3923/jbs.2007.904.910
 8. JAKI, B., HEILMANN, J., STICHER, O. *New antibacterial metabolites from the Cyanobacterium Nostoc commune* (EAWAG 122b). In: J. Nat. Prod., 2000, vol.63, nr.9, p.1283–1285.
 9. MAGARVEY, N.; BECK, Z, GOLAKOTI, T. *Biosynthetic characterization and chemoenzymatic assembly of the cryptophycins, potent anticancer agents from cyanobionts*. In: Acs Chem. Biol., 2006, vol.1, no.12, p.766-779
 10. PRATT, R.H. MAUTNER, G.M. GARDNER; Y. SHA & J. DUFRENOY. 1951. *Report on antibiotic activity of seaweed extracts*. J. Am. Pharm. Ass. 40: 575–579.
 11. RAMAMURTHY, V.; RAVEENDRAN, S.; THIRUMENI, S. et al. *Antimicrobial activity of Heterocytic Cyanobacteria*. In: International Journal of Advanced Life Sciences (IJALS), 2012, vol.1, p.32-39.
 12. RUDIC, V.; COJOCARI, A. CEPOI, L. și al. *Ficobiotehnologie – cercetări fundamentale și realizări practice*. Chișinău: Elena V.I. SRL, 2007, p. 365
 13. SASTRY, V. et al. *Antibacterial substances from marine algae Algae: Successive Extraction Using Benzene, Chloroform and Methanol*, Botanica Marina Vol. 37, 1994, pp. 357-360
 14. SINGH, S.; KATE, B., BANERJEE, U., *Bioactive compounds from cyanobacteria and microalgae: an overview*. In: Crit. Rev. Biotechnol., 2005, vol.25, no.3, p.73-95.
 15. ȘALARU, V.; BULIMAGA, V.; ȘALARU, V. et al. *Rolul unor alge cianofite azotfixatoare în rezolvarea problemei alimentare*. În: Studia Universitatis. Seria „Științe ale naturii”, Biologie, 2013, nr. 6 (66), p. 33-41.
 16. TEREKHOVA, V.E.; AIZDAICHER, N.A.; BUZOLEVA, L.S.; SOMOV, G.P. *Influence of extrametabolites of marine microalgae on the reproduction of the bacterium Listeria monocytogenes*, Russian Journal of Marine Biology volume 35(2009), pages 355–358
 17. TOSHIMITSU, H.; KYOKO, H.; MASAOKA, M., and ICHIRO, K., *Calcium Spirulan, an Inhibitor of Enveloped Virus Replication, from a Blue-Green Alga Spirulina platensis* Cite this: J. Nat. Prod. 1996, 59, p. 83–87
 18. YI, ZHENG; CHEN, YIN-SHAN; LU, HAI-SHENG, *Screening for antibacterial and antifungal activities in some marine algae from the Fujian coast of China with three different solvents*, Chinese Journal of Oceanology and Limnology, (2001), volume 19, pag. 327–331