

PRELIMINARNA ISPITIVANJA ANTIBIOTIKA IZOLIRANIH IZ ALGI

Antonija-Nada ČABOV
»Krka« — Institut, Novo mesto

I z v o d

Ispitani su vodeni homogenati monokultura jednostaničnih morskih algi na posjedovanje eventualnog antibakterijskog djelovanja u odnosu na pet različitih bakterijskih vrsta.

Od ukupno 12 monokultura algi, ispitivanjem je utvrđeno da 8 posjeduje izrazito antibakterijsko djelovanje.

A b s t r a c t

PRELIMINARY INVESTIGATION OF ANTIBIOTICS ISOLATED FROM MARINE ALGAE

Testing of water homogenats monoculture of unicellular marine algae on antibacterial activity of 5 different bacterial species was performed.

We stated, by testing, that from total of 12 monoculture marine algae 8 have expressive antibacterial activity.

UVOD

Ideološka zamisao za ovaj rad rođena je u MBP Portorož¹⁾ na osnovi sakupljene zbirke monokultura jednostaničnih algi Jadrana, a u suradnji sa tvornicom lijekova »Krka«²⁾ koja je financijski omogućila intenzivnije bavljenje tom problematikom. U dogovoru obje ove organizacije načinjen je plan projekta za preliminarno ispitivanje fonda monokultura algi iz MBP Portorož u svrhu eventualnog dobivanja takvih aktivnih substanci koje bi se mogle koristiti u farmaceutskoj proizvodnji.

¹⁾ Morsko biološka postaja — Portorož

²⁾ »Krka«, Tvornica lijekova, Institut, Odjel za predklinična istraživanja, Novo mesto.

Ispitivanjem kopnenih organizama dobivena je masa klinički interesantnih i korisnih lijekova sa antibiotskim, antitumornim, kardiotropnim i neurotropnim svojstvima. U potrazi za novim izvorima aktivnih supstancija istraživači su se okrenuli prema morskim organizmima kao potencijalnim davaocima.

Inotoksikacije uzrokovane toksinima morskih organizama odavno su poznate, kao što su: tetrodotoksin, saxitoksin, nereistoksin, eleudoisin (uz kemijsku modifikaciju upotrebljiv u klinici).

Poznato je da alge posjeduju visoko aktivne antimikrobne komponente. Nažalost, mnogi od tih izolata su halogenirani derivati koji posjeduju preveliku toksičnost za njihovu primjenu u humanoj medicini. Mnogi od tih tipova izolirani su iz roda *Lautentia* (alga) i spužava roda *Verongia*.

Možda najbolji primjer iskorištavanja morskih izvora, koji se nalazi na tržištu je D — arabinozil citozin (Cytrabine, Cytosar). To je sintetički antileukemijski agent koji je vrlo sličan nukleozidima izoliranim iz spužve *Cryptotethia crypta* — spongozin, spongotimidin i spongouridin. Do tada nije bilo publicirano o antileukemijskom i antiviralnom djelovanju nekih D — arabinozil nukleozida. Nekoliko derivata nukleozida iz spužve preparirano je i testirano. Tri derivata spongouridina patentirano je, a kao najaktivnija komponenta ostao je D — arabinozil citozin.

Prvi konkretniji podaci datiraju iz 1945. godine (Emerson i Taft). Od tada, pa sve do danas, a naročito posljednjih deset godina formiraju se grupe istraživača koji se intenzivno bave tom problematikom. Nažalost, moramo istovremeno istaknuti da se kod nas tom problematikom bavi vrlo malen broj ljudi, te da počeci datiraju tek negdje poslije 1970. godine (prof. Jože Štirn, prof. Miroslav Gašić), što je velika šteta, obzirom na prirodne i ekološke karakteristike Jadrana sa svojim specifičnim fiziogeografskim svojstvima, te karakterističnom florom i faunom.

Iz navedenih primjera vidljivo je, da su perspektive farmakološkog iskorištavanja, u najširem smislu te riječi, veoma velike u području iskorištavanja morskih bioloških resursa.

MATERIJAL I METODE

Naša ispitivanja vršili smo sa potencijalno interesantnim monokulturama jednostaničnih morskih algi, u svrhu traženja posjedovanja antibakterijskih aktivnih supstanci. Testirali smo sve postojeće monokulture iz zbirke algi MBP Portorož. Prednost mogućnosti kultiviranja je u tome, što se uz relativno skromne osnovne investicije može proizvesti relativno velika masa jednostaničnih algi. Monokulture algi ne možemo ostaviti inaktivne, već je potrebno redovno presađivanje na svježe medije u intervalima od jednog do dva tjedna ovisno o vrsti alge.

METODE KULTIVIRANJA JEDNOSTANIČNIH ALGI

Monokulture algi, kao zbirka inokulata, uzgajaju se u Erlenmayer tikvicama od 100 ml koje su pokrivene staklenim cilindrima radi sprečavanja kontaminacije (kontaminacija stanicama ili sporama drugih vrsta algi). Količina kulture u banci je 60 ml/Erlenmayer tikvicu. Kulture je potrebno jednom dnevno homogenizirati radi sprečavanja stvaranja aglomerata algi, kao i njihovog semisedentarnog rasta, te zbog obogaćivanja kultivacionog medija sa atmosferskim CO₂. Pomanjkanje ugljičnog dioksida u kulturama može biti jedan od limitirajućih faktora rasta algi, a to se veoma lako događa u gustim stacionarnim kulturama.

Kulture se uzgajaju u inkubatoru na temperaturi od 20 ± 1°C, uz 12 satni interval izmjene svijetla i tame. Osvjetljavanje se vrši pomoću ugrađenih Sylvania — Growlux fluorescentnih cijevi, čije je svijetlo za fotosintezu u optimalnom spektralnom području. Kulture dobivaju približnu jačinu svijetla od oko 1500 Luxa.

MEDIJI ZA KULTIVIRANJE JEDNOSTANIČNIH ALGI

Osnovni medij za kultiviranje jednostaničnih kultura morskih algi je prirodna morska voda koja se membranski filtrira (Milipore 0.4-0.5 mikrona). Autoklavirana morska voda u pojedinim slučajevima uzgoja algi nije bila podesna, vjerovatno dolazi do izlučivanja pojedinih komponenata autoklaviranjem a te se komponente ne nadoknađuju obogaćivanjem sa »f-2« medijem. Osnovni medij obogaćuje se dodavanjem »f-2« medija prema Guillard-Ryther-u (1962). Medij se obogaćuje sa dodatkom osnovnih hranidbenih otopina: po 1 ml fosfata, nitrata, kompleta mikroelemenata i silikata (samo za diatomeje), te 0.5 ml mješavine vitamina na litru morske vode.

Medij treba uvijek svježije pripremiti i temeljito ga promiješati prije razlijevanja u Erlenmayer tikvice (po 60 ml). U tikvicama se miješanje ponovi radi nadoknađivanja izgubljenog CO₂ do kojeg je došlo pri membranskoj filtraciji vakuumom, a zatim se zagrije na 20°C.

Osnovne otopine, osim vitaminske mješavine, mogu se čuvati na sobnoj temperaturi ali zaklonjene od svijetla, i po više mjeseci a da pritom ne dođe do neke bitne promjene. Pripravljaju se u bidestiliranoj vodi. Otopina mješavine vitamina pohranjuje se u dubokom smrzavanju na —20°C. Način pripremljanja osnovnih otopina je slijedeći:

- *Makronutrienti* (n grama substance u / do 100 ml bidestilirane vode)
- | | |
|---|----------------------------|
| NaNO ₃ | 7.5 |
| NaH ₂ PO ₄ · H ₂ O | 0.5 |
| Na ₂ SiO ₃ · H ₂ O | 3.0 (po potrebi zagrijati) |

— *Mikroelementi*

CuSO ₄ · 5 H ₂ O	0.98
ZnSO ₄ · 7 H ₂ O	2.2
ili	
ZnCl ₂	1.05
CoCl ₂ · 6 H ₂ O	1.0
MnCl ₂ · 4 H ₂ O	18.0
Na ₂ MoO ₄ · H ₂ O	0.63

— *Helirana Fe otopina*

3.15 g FeCl₃ · 6 H₂O i 4.36 g Na₂EDTA u 995 ml bidestilirane vode.

- *Osnovnu otopinu mikroelemenata* dobivamo sa dodatkom po 1 ml otopine svakog od gornjih elemenata u 995 ml helirane otopine Fe, što dodajemo neposredno prije pripravljanja medija. U medij dodamo, kao što smo rekli po 1 ml kompleksne otopine na litru morske vode.

— *Mješavina vitamina* (mg na 1000 ml bidestilirane vode)

Tiamin HCl	200
Biotin	1
B ₁₂	1

(zagrijati na 50°C, dobro promiješati, ostavlja se samo 100 ml duboko smrznuto, a ostatak se baci. U medij dodamo, kao što smo rekli po 0.5 ml mješavine na litru morske vode).

Ne uzimajući u obzir makrokonstituente slanosti morske vode i autohtone nutrijente, mikroelemenata i vitamina ima finalni »f-2« medij slijedeći sastav:

	mg/l		mikrogram/l		mikrogram/l
N	12.0	Zn	5.0	Tiamin HCl	100.0
P	1.1	Cu	2.5	Biotin	0.5
Si	2.9	Co	2.5	B ₁₂	0.5
Fe	0.65	Mo	2.5		
Mn	0.05				

Za neke oceanske, oligotrofne vrste (kokolitoforide) upotrebjavamo finalni medij »f-2« ili »f-50«, što znači razrijeđenje finalnog medija sa morskom vodom 10 ili 25 puta.

PRESAĐIVANJE KULTURA JEDNOSTANIČNIH ALGI

Presaðivanje kultura vrši se uobičajeno svaka 2-3 tjedna sa izuzetkom oceanskih vrsta kod kojih se presađivanje mora vršiti svaki tjedan.

U principu, inokulat se uzima u zadnjem dijelu faze eksponencijalnog rasta, a nikada za vrijeme stacionarne faze. Obično se uzima minimalno 2 ml ishodišne kulture i presadi na svježi hranidbeni medij (60 ml). Ako se ne radi o kvantitativnim ispitivanjima, najbolji način za izbjegavanje kontaminacije je prelijevanje kulture.

U našim ispitivanjima testirali smo slijedeće vrste monokultura jednostaničnih morskih algi iz zbirke MBP Portorož:

- *Cryptomonas*
- *Prymnesium parvum*
- *Thalassiosira fluviatilis*
- *Thalassioira pseudonana*
- *Nitzschia acicularis*
- *Cylindrotheca closterium*
- *Phaeodactylum tricorneratum*
- *Tetraselmis tetrachelae*
- *Tetraselmis stricta*
- *Tetraselmis maculata*
- *Nannochloris oculata*
- *Diogenes* sp.

Kao što je iz navedenog popisa vidljivo, ispitivane alge pripadaju redovima: *Cryptophyta*, *Chrysophyta*, *Prasinophyta* i *Chlorophyta*.

TESTIRANJE ANTIBIOTSKE AKTIVNOSTI JEDNOSTANIČNIH KULTURA MORSKIH ALGI

Dobivanje homogenata iz monokultura algi

Odabrane monokulture algi odvajane su od hranljivog medija metodom membranske filtracije (Milipore 0.45 mikrona). Dobivenom materijalu (jednostanične alge) određivana je težina u svrhu izjednačavanja uvjeta rada, te dobivanja težinskih omjera.

Algalni materijal homogeniziran je u tarioniku. Nakon maceracije od 3 sata u sterilnoj destiliranoj vodi homogenat je ponovo filtriran (Milipore 0.45 mikrona) a filtrat nam je služio kao substrat za testiranje. Polovinu filtrata autoklavirali smo 20 minuta na 120°C radi određivanja termostabilnosti eventualno aktivnih komponenata sadržanih u homogenatu.

Dobivene substrate testirali smo na njihovo antibakterijsko djelovanje metodom antibiograma bez prethodne difuzije. Testiranje homogenata na antibiogramima rađeno je pomoću dvije metode, i to:

— *Metodom diskova*

Sterilni diskovi filter papira promjera 6 mm navlaženi su homogenatom i stavljeni na kulturu bakterija. Bakterije su kultivirane na hranljivom agaru, a rezultati su očitavani nakon 18 satne inkubacije na 37°C. Uslijed niske koncentracije homogenata na diskovima nismo dobili jasnu sliku antibakterijske aktivnosti, te smo upotrijebili drugu metodu testiranja pomoću bazena.

— *Metoda bazena u agaru*

U bakterijama zasijanom hranljivom agaru načinjeni su bazeni promjera 5 mm, a u svaki bazenčić stavljeno je po 0.05 ml testiranog substrata. Bakterijske kulture razvijene su na 37°C, a nakon 18 sati vršeno je očitavanje rezultata. Ova metoda rađena je također bez prethodne difuzije.

Bakterijske vrste za testiranje odabrane su na osnovi dva aspekta:

- na bazi literaturnih podataka u svrhu lakše komparacije rezultata
- da bi se obuhvatili predstavnici Gramm pozitivnih i Gramm negativnih bakterijskih vrsta. Bakterijski sojevi za testiranje nabavljeni su u Institutu za higijenu Sveučilišta u Trstu.³⁾ Za naša ispitivanja upotrijebili smo slijedeće sojeve bakterija. *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi murium* i *Pseudomonas aeruginosa*. Za testove antibakterijskog djelovanja razvijali smo bakterijske sojeve na hranljivom agaru.

REZULTATI

Ispitivanje antibakterijske aktivnosti monokultura jednostatičnih algi rađeno je u dva navrata sa različitim koncentracijama homogenata. U prvom dijelu ispitivanja količina upotrebene kulture iznosila je 1 litru po monokulturi i testirane su sve postojeće monokulture u zbirci MBP Portorož. Svako testiranje rađeno je komparativno na dvije serije sa istim koncentracijama i količinama homogenata. Pored toga postojala je još jedna serija testiranih homogenata koja je bila autoklavirana na 120°C, 20 minuta.

³⁾ Prof. dr Luigi Majori, Istituto di Igiene, Università di Trieste.

Tabela 1.

Vodeni homogenati algi	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Streptococcus epidermidis</i>
inkubacija 18 sati na 37°C					
<i>Cryptomonas</i>	++	++	++	++	+++
<i>Prymnesium parvum</i>	—	—	—	—	+
<i>Thalassiosira fluviatilis</i>	—	—	—	—	—
<i>Thalassiosira pseudonana</i>	+	+	+++	++	++
<i>Nitzschia acicularis</i>	—	+	—	—	—
<i>Cylindrotheca closterium</i>	+	—	+	—	+
<i>Phaeodactylum tricorutum</i>	+	+	++	—	+
<i>Tetraselmis tetrachelae</i>	+	—	+	+	+++
<i>Tetraselmis stricta</i>	+	—	+	+	++
<i>Tetraselmis maculata</i>	—	—	—	—	—
<i>Nannochloris oculata</i>	+	—	+	—	++
<i>Diogenes</i> sp.	+	—	+	—	+

+ zona inhibicije do 10 mm

++ zona inhibicije do 20 mm

+++ zona inhibicije 30 mm i više

U našim ispitivanjima dobili smo slijedeće rezultate:

Kao najaktivnija vrsta pokazao se *Cryptomonas* u odnosu na slijedeće bakterijske vrste: *Streptococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi murium* i *Pseudomonas aeruginosa*.

Thalassiosira pseudonana pokazuje također jaku aktivnost u odnosu na: *Escherichia coli*, *Streptococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi murium* i *Pseudomonas aeruginosa*.

Tetraselmis tetrachelae posjeduje aktivnost u odnosu na: *Streptococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* i *Pseudomonas aeruginosa*.

Tetraselmis stricta aktivan je u odnosu na: *Streptococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* i *Pseudomonas aeruginosa*.

Phaeodactylum tricornerutum pokazuje aktivnost u odnosu na: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus epidermidis* i *Salmonella typhi murium*.

Nannochloris oculata u odnosu na: *Streptococcus epidermidis*, *Escherichia coli* i *Pseudomonas aeruginosa*.

Cylindrotheca closterium i *Diogenes sp.* u odnosu na: *Streptococcus epidermidis*, *Escherichia coli* i *Pseudomonas aeruginosa*.

Preostale vrste testiranih homogenata algi posjeduju vrlo slabu ili nikakvu aktivnost. Tako je *Nitzschia acicularis* slabo aktivna u odnosu na bakterijsku vrstu *Salmonella typhi murium*, a *Prymnesium parvum* u odnosu na *Streptococcus epidermidis*.

Homogenati vrsta algi *Thalassiosira fluviatilis* i *Tetraselmis maculata* nisu pokazivali antibakterijsku aktivnost u odnosu na testirane bakterijske vrste. Rezultati su prikazani sumarno u tabeli 1.

Od autoklaviranih homogenata aktivnost pokazuju jedino vrste algi *Thalassiosira pseudonana* u odnosu na *Staphylococcus aureus* i *Pseudomonas aeruginosa*, te *Tetraselmis tetrachelae*, *Tetraselmis stricta*, *Nannochloris oculata* i *Diogenes sp.* u odnosu na *Pseudomonas aeruginosa*.

Antibakterijska aktivnost dobivena testiranjem autoklaviranih homogenata obuhvaća mnogo manji broj bakterijskih vrsta.

U drugom dijelu testiranja izvršili smo selekciju monokultura algi i povećali koncentraciju homogenata, time što smo radili sa dvije litre po pojedinoj monokulturi. Također smo radili komparativno na dvije serije sa istim koncentracijama i količinama homogenata algi. U ovom dijelu eksperimenta radili smo samo sa monokulturama koje su pri prvom ispitivanju pokazivale antibakterijsku aktivnost. Testirane monokulture jednostaničnih morskih algi bile su sljedeće: *Cryptomonas*, *Thalassiosira pseudonana*, *Cylindrotheca closterium*, *Tetraselmis tetrachelae*, *Tetraselmis stricta*, *Nannochloris oculata* i *Diogenes sp.* Nažalost, nismo mogli dobiti i vrstu *Phaeodactylum tricornerutum* radi kontaminacije monokulture u zbirci.

Tabela 2.

Vodeni homogenati algi	inkubacija 18 sati na 37°C				
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Streptococcus epidermidis</i>
<i>Cryptomonas</i>	++	++	++	+++	+++
<i>Thalassiosira pseudonana</i>	+	++	+++	+++	+++
<i>Cylindrotheca closterium</i>	+	—	+	+	+
<i>Tetraselmis tetrachelae</i>	+	—	+	+	+++
<i>Tetraselmis stricta</i>	+	—	+	+	+++
<i>Nannochloris oculata</i>	++	+	+	+	++
<i>Diogenes sp.</i>	+	—	+	+	++

+ zona inhibicije do 10 mm

++ zona inhibicije do 20 mm

+++ zona inhibicije 30 mm i više

Ovim testiranjem homogenata uglavnom smo dobili potvrđene rezultate prvog ispitivanja, uz male promjene tj. neki rezultati koji su bili prije slabo pozitivni, a definirali smo ih u završnoj tabeli prvog dijela (tabela 1) kao negativne, pokazali su jasno pozitivnu, premda slabiju antibakterijsku aktivnost. Isto tako, prema našim očekivanjima, veća koncentracija homogenata rezultirala je pojačavanjem antibakterijske aktivnosti u pojedinim slučajevima, a naročito kod osjetljivih bakterijskih vrsta kao što je *Streptococcus epidermidis*.

Do promjena u aktivnosti homogenata došlo je kod vrste *Cryptomonas* u odnosu na vrste: *Salmonella typhi murium*, *Staphylococcus aureus* i *Streptococcus epidermidis*.

Cylindrotheca closterium pokazuje aktivnost u odnosu na *Staphylococcus aureus* koji je prije bio negativan (slabo pozitivan).

Tetraselmis stricta pojačava aktivnost u odnosu na *Streptococcus epidermidis*.

Nannochloris oculata pojačava antibakterijsku aktivnost u odnosu na slijedeće bakterijske vrste: *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi murium* i *Staphylococcus aureus*, a *Diogenes sp.* prema vrsti *Staphylococcus aureus*. Rezultati su prikazani sumarno u tabeli 2.

Dobiveni rezultati jasno ukazuju na relativno veliku učestalost pojave antibakterijskog djelovanja monokultura jednostaničnih morskih algi. Obzirom na oskudne literaturne podatke o antibiotskoj aktivnosti jednostaničnih morskih algi, možemo reći da bi se na tom području trebalo ozbiljnije pristupiti ispitivanjima.

Naš rad se, kao i većina drugih radova iz tog područja, završava na dokazivanju antibakterijskog djelovanja, bez produbljivanja saznanja o karakteru i strukturi aktivnih komponenata koje inhibiraju bakterijski rast, a to je samo jedna od faza istraživanja antibiotske aktivnosti jednostaničnih morskih algi u svrhu dobivanja aktivnih substanci koje bi se mogle koristiti u farmakološkom smislu.

Na osnovi naših ispitivanja možemo zaključiti, da su dvije alge posebno interesantne u svrhu daljnjeg ispitivanja i produbljivanja saznanja o strukturi aktivnih komponenata tih vrsta, a to su *Cryptomonas* i *Thalassiosira pseudonana*, radi posjedovanja najšireg spektra antibakterijske aktivnosti utvrđenog u našim ispitivanjima.

Također možemo zaključiti, da od 12 ispitivanih monokultura jednostaničnih morskih algi, čak 7 vrsta je pozitivno u odnosu na *Pseudomonas aeruginosa*, što može biti od velikog značaja.

Poznato je, da je to jedna od bakterijskih vrsta koja je rezistentna na većinu antibiotika, a često je veliki problem u bolnicama jer se brzo širi a teško suzbija.

Osim toga, sve monokulture testirane u drugom dijelu našeg eksperimentalnog rada, možemo također okarakterizirati kao dobar početni materijal za daljnje ispitivanje u svrhu strukturnog definiranja antibiotski aktivnih komponenata. Ovdje treba također dodati i vrstu *Phaeodactylum tricorutum*, koju nažalost nismo mogli testirati u većim koncentracijama homogenata. Isto tako, na osnovi literaturnih podataka možemo zaključiti, da se kod jednostaničnih algi vjerovatno ne radi o halogeniranim spojevima koji bi bili nosioci antibiotske aktivnosti algi, a što je prepreka za njihovo farmakološko iskorištavanje.

Našim ispitivanjima dokazali smo posjedovanje antibakterijske aktivnosti slijedećih monokultura jednostaničnih morskih algi:

Cryptomonas, *Prymnesium parvum*, *Thalassiosira pseudonana*, *Nitzschia acicularis*, *Cylindrotheca closterium*, *Phaeodactylum tricorutum*, *Tetraselmis tetrachelae*, *Tetraselmis stricta*, *Nannochloris oculata* i *Diogenes* sp.

Također možemo zaključiti, da je većina antibakterijski aktivnih komponenata u testiranim homogenatima termolabilna, što smo ustanovili autoklaviranjem.

LITERATURA

1. Baslow M. H., 1969: Marine Pharmacology, Williams and Wilkins, Baltimore, 1969.
2. Burkholder et al. 1960: Antibiotic activity of some marine algae of Puerto Rico, Bot. Mar., 2: 149-156.
3. Chesters C. et al. 1956: The production of antibiotic substances by seaweeds. In: Second International Seaweed Symposium, Pergamon, New York p. 49-53.
4. Constantine et al. 1975: Aquaculture (in press).
5. Constantine et al. 1975: Marine bioactive substances, Pharmindex, Vol. 17, No 8, 13-15.
6. Duff D. C. B. et al. 1966: The antibacterial activity of marine planctonic algae, Can. J. Microbiol., 12: 877-884.
7. Fogg G. E., 1962: Extracellular Products In: Physiology and Biochemistry of Algae, R. A. Lewin, Ed. Academic, New York, 475-489.

PRELIMINARY INVESTIGATION OF ANTIBIOTICS ISOLATED FROM MARINE ALGAE

Antonija-Nada ČABOV

Summary

The experimental part included investigation of antibacterial acting monoculture of unicellular marine algae from the collection in MBP Portorož. From 12 investigated monocultures of unicellular marine algae eight of them possess distinctive antibacterial activity: *Cryptomonas*, *Thalassiosira pseudonana*, *Cylindrotheca closterium*, *Phaeodactylum tricorutum*, *Tetraselmis tetrachelae*, *Tetraselmis stricta*, *Nanochloris oculata* and *Diogenes* sp. Two monocultures *Primnesium parvum* and *Nitzschia acicularis*, are antibacterial active only in regard to one bacterial species, while two monocultures: *Thalassiosira fluviatilis* and *Tetraselmis maculata*, do not show any antibacterial activity in relation with other investigated species.

The investigations are carried out with homogenized water mixtures of monocultures. The stamms of bacterial strains tested in this work were: *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi* murium, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus epidermidis*.