

Actividad antibacteriana de extractos crudos del crustáceo *Austromegabalanus psittacus* (Cirripedia: Balanidae)

Antibacterial activity in crude extracts of the crustacean *Austromegabalanus psittacus* (Cirripedia: Balanidae)

Lilian E. Trujillo¹, José M. Uribe¹, Boris A. López^{2,3} y Daniel A. López⁴

¹Departamento de Salud, Universidad de Los Lagos, Casilla 933, Osorno, Chile

²Departamento de Acuicultura y Recursos Agroalimentarios, Universidad de Los Lagos, Avenida Fuchslocher #1305, Casilla 933, Osorno, Chile. borislop@ulagos.cl

³Facultad de Ciencias del Mar, Universidad Católica del Norte, Larrondo #1281, Coquimbo, Chile

⁴Centro de Estudios Avanzados, Universidad de Playa Ancha, Traslaviña #450, Viña del Mar, Chile

Abstract.- Antibacterial activity in crude extracts of *Austromegabalanus psittacus* soft tissue, originating from 2 coastal localities in the north and south of Chile, was evaluated in 7 solvents. Antibacterial activity was determined using the disk diffusion method to test 7 bacterial strains (ATCC). Evidence of inhibition was found in *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis*, *Staphylococcus aureus*, *Aeromonas hydrophila* and *Yersinia ruckeri*, with high variability, depending on the solvent utilized. No differential patterns were recorded according to specimen origin. Results are discussed in terms of their potential application to the aquaculture and food industries.

Key words: Antibacterial activity, crude extract, acorn barnacle, Chile

INTRODUCCIÓN

La identificación de nuevos compuestos antimicrobianos se ha convertido en un tema relevante, particularmente en organismos marinos, los cuales han desarrollado eficazmente su sistema innato de defensa contra el ataque de microorganismos patógenos (Roch 1999, Tincu & Taylor 2004, Tadesse *et al.* 2008, Defer *et al.* 2009, Vázquez *et al.* 2009). La alta diversidad de los ecosistemas marinos son una fuente potencial de nuevas sustancias para el desarrollo de productos bioactivos (Harnedy & FitzGerald 2012). Actualmente, diversos metabolitos secundarios, tales como péptidos, sesquiterpenos, ergosteroles, alcaloides, compuestos halogenados, entre otros, han sido aislados de macroalgas, esponjas, cnidarios, holoturias y tunicados (Hatakeyama *et al.* 1999, Kazanjian & Fariñas 2006, Khattab *et al.* 2008, Tan *et al.* 2012). Dentro de estos compuestos destacan los péptidos antimicrobianos (PAM), proteínas de bajo peso molecular que se sintetizan principalmente en tejidos epiteliales regularmente expuestos al ataque microbiano y que constituyen un medio rápido, no específico para combatir una amplia variedad de bacterias, hongos, virus e incluso protozoarios (Montaño-Pérez & Vargas-Albores 2002, Sharma *et al.* 2009). En Chile, considerando la importancia

de las actividades extractivas y productivas de especies hidrobiológicas en diversas zonas geográficas y sus consecuencias sociales y económicas se vuelve gravitante estimular el interés por estudios en estos temas. Por ejemplo, las actividades acuícolas desarrolladas a lo largo de la costa han generado variados problemas ambientales; uno de ellos está asociado al control de enfermedades en cultivos de salmonídeos, evidenciándose un incremento en el número de bacterias y fracciones de resistencia a antibióticos (oxitetraciclina, ácido oxolínico y florfenicol) en sedimentos en zonas de cultivo en comparación a sitios controles, así como el impacto de enfermedades virales sobre la producción de estas especies (Asche *et al.* 2009, Buschmann *et al.* 2012, Cortez-San Martín *et al.* 2012, Shah *et al.* 2014). A pesar de ello, la detección de metabolitos con actividad antimicrobiana en la mayoría de estas especies no ha sido abordada o es escasa (Vega 2013). En otros países, existen avances en la identificación de los mecanismos de defensa y prevención de enfermedades en invertebrados marinos cultivables como *Mytilus edulis* (Nottage & Birkbeck 1990), *Mytilus galloprovincialis* (Hubert *et al.* 1997), *Crassostrea gigas* (Hubert *et al.* 1996), *Callinectes*

sapidus (Noga *et al.* 1996) y *Litopenaeus vannamei* (Destoumieux *et al.* 1997).

El cirripedio gigante *Austromegabalanus psittacus* (Molina, 1782) es un recurso endémico de la costa de Chile (Brattström 1990, López *et al.* 2007), cuya explotación económica se efectúa por pesquerías artesanales y que presenta desarrollo de cultivos a escala piloto y semi-industrial (López *et al.* 2010, 2012a, b; Andrade *et al.* 2011, Bedecarratz *et al.* 2011). Se desconocen las mecanismos de defensa innata que presenta este recurso contra patógenos bacterianos y por consiguiente en el presente estudio, se determinó la presencia de metabolitos con actividad antibacteriana en extractos crudos de tejidos de *A. psittacus* sobre bacterias potencialmente patógenas de importancia en la industria alimentaria y acuícola.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se recolectaron ejemplares adultos de *Austromegabalanus psittacus* (>3,0 cm de largo carino-rostral) durante enero y febrero del 2011, mediante buceo SCUBA, en 2 localidades: Totoralillo Norte (29°29'S; 71°29'W) y Bahía Metri (41°36'S; 72°42'W), ambas bahías protegidas de la exposición del oleaje, ubicadas en la zona norte y sur de Chile, respectivamente. En ambos sitios se evidenciaron bancos naturales de la especie y se ubican dentro de las zonas de mayor extracción pesquera del recurso (SERNAPESCA 2012). Los ejemplares fueron refrigerados y posteriormente trasladados al Laboratorio de Cultivo Marinos de la Universidad de Los Lagos, Osorno para su procesamiento. Los individuos recolectados fueron disectados, separando los tejidos blandos en: (a) gónada femenina, (b) músculo aductor de placas operculares y (c) branquias, los cuales fueron congelados a -20°C (con 1% glicerol). Los tejidos fueron liofilizados y se dispusieron de manera independiente en diferentes solventes orgánicos (agua, metanol, metanol 70%, etanol, éter de petróleo, acetona y cloroformo) a una concentración de 100 mg ml⁻¹ (material liofilizado / ml de solvente) durante 3 días a temperatura ambiente. Los extractos se filtraron a través de papel Whatman N° 1 y se evaporaron al vacío, obteniéndose extractos crudos, los que fueron almacenados a 4°C para su posterior análisis. La determinación de la actividad antibacteriana se efectuó mediante la técnica de difusión en agar (Peterson & Shanholtzer 1992). Para ello se inocularon 30 µl de cada extracto crudo en sensidiscos de 6 mm de diámetro, los cuales fueron dispuestos en placas Petri con agar Müller-Hinton previamente inoculadas con 10⁶ UFC ml⁻¹ de cepas ATCC de patógenos alimentarios, *Escherichia coli* (ATCC 10799), *Salmonella enteritidis* (ATCC 13076),

Staphylococcus aureus (ATCC 25923), *Listeria monocytogenes* (ATCC 7644) y acuícolas, *Aeromonas hydrophila* (ATCC 7966), *Vibrio alginolyticus* (ATCC 17749), y *Yersinia ruckeri* (ATCC 29473). Se realizaron controles positivos con antibióticos de acción conocida (penicilina 10 µg y oxitetraciclina 30 µg) y controles de falsos positivos con sensidiscos impregnados con los solventes orgánicos utilizados. Después de la incubación a 35°C por 24 h para patógenos alimentarios y a 30°C por 24 h para patógenos acuícolas, se midió con vernier digital (0,01 mm de precisión), el diámetro (mm) de la zona de inhibición de los extractos para cada cepa bacteriana.

Por tratarse de extractos orgánicos crudos cuya composición se desconoce total o parcialmente, los tamaños de la zona de inhibición no fueron interpretados de acuerdo a las tablas NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standard), sino que se aplicó el procedimiento propuesto por Monks *et al.* (2002), estableciéndose las siguientes categorías interpretativas para los diámetros de las zonas de inhibición: (-) No hay actividad; (+) Actividad leve o débil (diámetro del halo entre 7-11 mm); (++) Actividad moderada (diámetro del halo entre 11-16 mm); (+++) Actividad fuerte (diámetro del halo >16 mm).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados indicaron que los extractos crudos de los tejidos gonadal, muscular y branquial de *Austromegabalanus psittacus*, presentaron actividad antibacteriana, principalmente sobre *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis*, *Staphylococcus aureus*, *Aeromonas hydrophila* e *Yersinia ruckeri* (Tabla 1, 2 y 3), observándose una alta variabilidad en la zona de inhibición dependiendo del solvente utilizado. En algunos de ellos (agua, metanol y etanol), se reportaron valores similares a antibióticos de amplio espectro como penicilina y oxitetraciclina, utilizados como control. Estudios similares en otros organismos acuáticos sésiles (algas, esponjas, corales y tunicados) han reportado valores de halo de inhibición semejantes sobre cepas de *E. coli*, *S. aureus* e *Y. ruckeri* y otras (Bansemir *et al.* 2006, Galeano & Martínez 2007, Touati *et al.* 2007, Ganesan *et al.* 2011). Cualitativamente, no se evidenciaron patrones distintos en la actividad antibacteriana según la procedencia de los ejemplares. Esto último sugiere que esta variable no es un factor determinante en la producción de compuestos bioactivos de esta especie, aunque no se puede descartar que la estacionalidad, factor no evaluado en este estudio, pudiese ser importante en el metabolismo y síntesis de este tipo de sustancias

Tabla 1. Actividad antibacteriana, expresada como diámetro (mm) de zona de inhibición, de extractos crudos de gónada femenina de *Austromegabalanus psittacus*, según diferentes cepas bacterianas, localidad y tipo de solvente orgánico / Antibacterial activity, expressed as inhibition zone diameter (mm), of crude Austromegabalanus psittacus female gonad extracts, according to different bacterial strains, locality and type of organic solvent

Localidad / Solvente	Actividad de inhibición (mm)					
	<i>E. coli</i>	<i>S. enteritidis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>A. hydrophila</i>	<i>V. alginolyticus</i>
Totoralillo Norte						
Agua	+	++	++	-	-	-
Metanol	++++	+	+++	-	++	++
Metanol 70%	+	-	+	-	-	-
Etanol	+	+	+	-	++	-
Éter de Petróleo	-	-	+	-	-	-
Acetona	-	-	-	-	-	-
Cloroformo	+	+	-	-	-	-
Control penicilina	-	-	+++	-	-	+
Control oxitetracicina	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Metri						
Agua	++	++	+++	-	-	-
Metanol	-	+	+++	-	-	-
Metanol 70%	++	-	+	-	+	-
Etanol	+++	+	++	-	++	++
Éter de Petróleo	++	+++	++	-	-	-
Acetona	+	+	+	-	-	-
Cloroformo	-	+	-	+	-	+
Control penicilina	-	-	+++	-	-	+
Control oxitetracicina	+++	+++	+++	+++	+++	+++

(-) Sin actividad; (+) actividad escasa (7-11 mm halo); (++) actividad moderada (11-16 mm halo); (+++) actividad fuerte (>16 mm halo).

Tabla 2. Actividad antibacteriana, expresada como diámetro (mm) de zona de inhibición, de extractos crudos de tejido muscular de *Austromegabalanus psittacus*, según diferentes cepas bacterianas, localidad y tipo de solvente orgánico / Antibacterial activity, expressed as inhibition zone diameter (mm) in crude Austromegabalanus psittacus muscle tissue extracts, according to different bacterial strains, locality and type of organic solvent

Localidad / Solvente	Actividad de inhibición (mm)					
	<i>E. coli</i>	<i>S. enteritidis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>A. hydrophila</i>	<i>V. alginolyticus</i>
Totoralillo Norte						
Agua	+	++	++	-	-	++
Metanol	++	+	++	-	-	-
Metanol 70%	++	+	+	+	+	+
Etanol	++	+	++	+	++	++
Éter de Petróleo	+	+	+	-	++	-
Acetona	+	+	+	-	-	-
Cloroformo	+	+	+	-	-	++
Control penicilina	-	-	+++	-	+	++
Control oxitetracicina	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Metri						
Agua	++	++	-	-	-	-
Metanol	+	+	++	+	-	+++
Metanol 70%	-	++	++	++	++	+++
Etanol	++	+	+	-	++	++
Éter de Petróleo	-	+	-	-	-	++
Acetona	-	+	-	-	-	-
Cloroformo	++	+	+	+	-	++
Control penicilina	-	+++	+++	-	+	+
Control oxitetracicina	+++	+++	+++	+++	+++	+++

(-) Sin actividad; (+) actividad escasa (7-11 mm halo); (++) actividad moderada (11-16 mm halo); (+++) actividad fuerte (>16 mm halo).

Tabla 3. Actividad antibacteriana, expresada como diámetro (mm) de zona de inhibición, de extractos crudos de tejido branquial de *Austromegabalanus psittacus*, según diferentes cepas bacterianas, localidad y tipo de solvente orgánico / Antibacterial activity, expressed as inhibition zone diameter (mm) in crude Austromegabalanus psittacus branchial tissue extracts, according to different bacterial strains, locality and type of organic solvent

Localidad / Solvente	Actividad de inhibición (mm)					
	<i>E. coli</i>	<i>S. enteritidis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>A. hydrophila</i>	<i>V. alginolyticus</i>
Totoralillo Norte						
Agua	+	+	++	-	-	-
Metanol	-	++	+++	-	-	-
Metanol 70%	+	-	++	-	+	+++
Etanol	+++	+	+	++	+++	+++
Éter de Petróleo	++	+	-	-	++	-
Acetona	-	-	-	-	-	-
Cloroformo	++	+	+	-	-	+
Control penicilina	-	-	+++	++	-	+
Control oxitetracicina	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Metri						
Agua	-	++	++	-	-	-
Metanol	+	++	++	+	-	+++
Metanol 70%	+	++	+	++	-	++
Etanol	++	++	+	+	++	+++
Éter de Petróleo	-	+	-	-	-	-
Acetona	-	-	-	+	-	++
Cloroformo	+	+	+	-	+	++
Control penicilina	-	-	+++	++	-	+
Control oxitetracicina	+++	+++	+++	+++	+++	+++

(-) Sin actividad; (+) actividad escasa (7-11 mm halo); (++) actividad moderada (11-16 mm halo); (+++) actividad fuerte (>16 mm halo)

(Duchemin *et al.* 2007). Sin embargo, se observaron excepciones a esto, ya que por ejemplo, no hubo inhibición bacteriana en extractos de gónada femenina con acetona para las cepas bacterianas en la localidad de Totoralillo Norte, pero si se apreció respuesta inhibitoria en Bahía Metri para *E. coli*, *S. enteritidis* y *S. aureus* con el mismo solvente (Tabla 1). Si bien, no es del todo claro el mecanismo que opera y explica estas variaciones en *A. psittacus*, factores bióticos y abióticos ambientales podrían estar influenciando esta variabilidad (Ganz 2003, Dang *et al.* 2011). En otras especies de invertebrados marinos como abalones, camarones y mitílidos se han reportado variaciones de actividad antibacteriana y antiviral a nivel de individuos dentro de una misma población, así como entre distintas poblaciones (Bachere *et al.* 2004, Dang *et al.* 2011). De la misma forma, existirían tejidos, según su funcionalidad, que serían más proclives a la secreción de sustancias bioactivas (Li *et al.* 2009). Los resultados sugieren que, al menos, deben considerarse las tres variables (localidad, tejido, solvente) para entender la actividad antibacteriana en esta especie. Estudios posteriores en *A. psittacus* debiesen enfocarse en la identificación, caracterización y cuantificación de estas moléculas bioactivas, e investigar su potencial actividad antifúngica, antiviral u otra bioactividad, complementando las investigaciones en aspectos fisiológicos y conductuales las cuales pueden ser aplicadas en la industria acuícola y alimentaria, dada su importancia como especie incrustante de sistemas flotantes, infraestructura portuaria y embarcaciones, así como de interés comercial como recurso explotable (López *et al.* 2012b, Grienke *et al.* 2014). Si bien en crustáceos, se han descrito los principales mecanismos de inmunidad (Vázquez *et al.* 2009), en el caso de los cirripedios, sólo se han evidenciado la presencia de lectinas que se asocian a procesos de defensa, a través del reconocimiento de partículas, a nivel molecular y celular que inducen aglutinación y fagocitosis (Muramoto *et al.* 2001, Matsubara *et al.* 2009). Considerando el eventual desarrollo de cultivos comerciales de esta especie (López *et al.* 2010, 2012a, b), es relevante y prioritario profundizar en el conocimiento de los mecanismos de defensa que poseen y así prevenir posibles infecciones que afecten la producción, particularmente en cultivos masivos (Charlet *et al.* 1996, Montaño-Pérez & Vargas-Albores 2002, Sharma *et al.* 2009).

Se concluye que existe evidencia, mediante esta evaluación diagnóstica, de actividad antibacteriana en extractos crudos de tejidos blandos de *A. psittacus* sobre diversas bacterias patógenas. Las nuevas investigaciones

debiesen apuntar a la detección y caracterización molecular de sustancias bioactivas en esta especie que incluso, como se ha reportado en mitílidos recientemente, pudiesen ser aplicables a la salud humana (Grienke *et al.* 2014).

AGRADECIMIENTOS

Este estudio fue financiado por el proyecto N°9010 de la Dirección de Investigación de la Universidad de Los Lagos, Osorno. Se agradece la colaboración de Sergio Arriagada, Óscar Mora, Mauricio Pineda, Pedro González y Luis Pereira en la obtención de muestras. Asimismo, la asistencia de Susan Angus para la traducción del resumen también es reconocida. Finalmente, se agradecen los comentarios y sugerencias de tres evaluadores anónimos.

LITERATURA CITADA

- Andrade LI, DA López & BA López. 2011.** Dynamics models applied to giant barnacle culture. Aquaculture International 19: 1047-1060.
- Asche F, H Hansen, R Tveteras & S Tveteras. 2009.** The salmon disease crisis in Chile. Marine Resource Economics 24(4): 405-411.
- Bachere E, Y Gueguen, M González, J de Lorgesil, J Garnier & B Romestand. 2004.** Insights into the anti-microbial defense of marine invertebrates: the penaeid shrimps and the oyster *Crassostrea gigas*. Immunological Reviews 198: 149-168.
- Bansemir A, M Blume, S Schroder & U Lindequist. 2006.** Screening of cultivated seaweeds for antibacterial activity against fish pathogenic bacteria. Aquaculture 252(1): 79-84.
- Bedecarratz PC, DA López, BA López & OA Mora. 2011.** Economic feasibility of aquaculture of the giant barnacle, *Austromegabalanus psittacus* in southern Chile. Journal of Shellfish Research 30(1): 147-157.
- Brattström H. 1990.** Intertidal ecology of the northern part of the Chilean Archipelago. Sarsia 75: 105-160.
- Buschmann AH, A Tomova, A López, MA Maldonado, LA Henríquez, L Ivanova, F Moy, HP Godfrey & FC Cabello. 2012.** Salmon aquaculture and antimicrobial resistance in the marine environment. Plos One 7(8): e42724.
- Charlet M, S Chernysh, H Philippe, C Hetru, J Hoffmann & P Bulet. 1996.** Isolation of several cysteine-rich antimicrobial peptides from the blood of a mollusc, *Mytilus edulis*. Journal of Biological Chemistry 271(36): 21808-21813.
- Cortez-San Martín M, A Rivas-Aravena, S Guajardo, MT Castillo, M Jashes, AM Sandino & E Spencer. 2012.** Simultaneous detection of the IPN and ISA viruses in outbreaks of clinical disease and mortality in farmed Atlantic salmon, *Salmo salar* L., in Chile. Journal of Fish Diseases

- 35(6):461-465.
- Dang VT, P Speck, M Doroudi, B Smith & K Benkendorff. 2011.** Variation in the antiviral and antibacterial activity of abalone *Haliotis laevigata*, *H. rubra* and their hybrid in South Australia. *Aquaculture* 315(3-4): 242-249.
- Defer D, N Bourgougnon & Y Fleury. 2009.** Screening for antibacterial and antiviral activities in three bivalve and two gastropod marine mollusks. *Aquaculture* 293(1-2): 1-7.
- Destoumieux D, P Bulet, D Loew, A VanDorselaer, J Rodríguez & E Bachere. 1997.** Penaeidins, a new family of antimicrobial peptides isolated from the shrimp *Penaeus vannamei* (Decapoda). *Journal of Biological Chemistry* 272(45): 28398-28406.
- Duchemin MB, M Fournier & M Auffret. 2007.** Seasonal variations of immune parameters in diploid and triploid Pacific oysters, *Crassostrea gigas* (Thunberg). *Aquaculture* 264(1-4): 73-81.
- Galeano E & A Martinez. 2007.** Antimicrobial activity of marine sponges from Uraba Gulf, Colombian Caribbean region. *Journal de Mycologie Medicale* 17(1): 21-24.
- Ganesan K, S Bragadeeswaran & T Balasubramanian. 2011.** Comparative study on antibacterial activity of ascidians, *Polyandrocarpa indica* Michaelsen and *Phallusia arabica* Savigny from Tuticorin coast of India. *Indian Journal of Geo-Marine Sciences* 40(3): 438-442.
- Ganz T. 2003.** The role of antimicrobial peptides in innate immunity. *Integrative and Comparative Biology* 43: 300-304.
- Grienke U, J Silke & D Tasdemir. 2014.** Bioactive compounds from marine mussels and their effects on human health. *Food Chemistry* 142: 48-60.
- Harnedy PA & RJ Fitzgerald. 2012.** Bioactive peptides from marine processing waste and shellfish: A review. *Journal of Functional Foods* 4(1): 6-24.
- Hatakeyama T, T Sato, ET Aira, H Kuwahara, T Niidome & H Aoyagi. 1999.** Characterization of the interaction of hemolytic lectin CEL-III from the marine invertebrate, *Cucumaria echinata*, with artificial lipid membranes: involvement of neutral sphingoglycolipids in the pore forming process. *Journal of Biochemistry* 125(2): 277-284.
- Hubert F, EL Cooper & P Roch. 1996.** Structure and differential target sensitivity of the stimulable cytotoxic complex from hemolymph of the Mediterranean mussel *Mytilus galloprovincialis*. *Biochimica et Biophysica Acta-Molecular Basis of Disease* 1361(1): 29-41.
- Hubert F, W Van der Knaap, T Noel & P Roch. 1997.** Cytotoxic and antibacterial properties of *Mytilus galloprovincialis*, *Ostrea edulis* and *Crassostrea gigas* (bivalve molluscs) hemolymph. *Aquatic Living Resources* 9(2): 115-124.
- Kazanjian A & M Fariñas. 2006.** Actividades biológicas del extracto acuoso de la esponja *Aplysina lacunosa* (Porifera: Aplysinidae). *International Journal of Tropical Biology and Conservation* 54(3): 189-200.
- Khattab R, A Ali, B El-Nomany & T Temraz. 2008.** Screening for antibacterial and antifungal activities in some selected marine organisms of the Suez Canal and Red Sea. *The Egyptian Journal of Experimental Biology, Zoology* 4: 223-228.
- Li CH, JM Zhao & LS Song. 2009.** A review of advances in research on marine molluscan antimicrobial peptides and their potential application in aquaculture. *Molluscan Research* 29(1): 17-26.
- López DA, BA López & ML González. 2007.** Índice bibliográfico sobre biodiversidad acuática de Chile: Crustacea, Cirripedia, Thoracica. *Ciencia y Tecnología del Mar, Chile* 30(1): 161-165.
- López DA, BA López, CK Pham, EJ Isidro & M De Girolamo. 2010.** Barnacle culture: background, potential and challenges. *Aquaculture Research* 41: 367-375.
- López DA, BA López, CK Pham & EJ Isidro. 2012a.** Potency of barnacle in aquaculture industry. In: Muchlisin ZA (ed). *Aquaculture*, pp. 295-316. InTech, Rijeka. <http://cdn.intechopen.com/pdfs/27115/InTech-Potency_of_barnacle_in_aquaculture_industry.pdf>
- López DA, BA López, SE Arriagada, OA Mora, PC Bedecarratz, MO Pineda, ML González, LI Andrade, JM Uribe & VA Riquelme. 2012b.** Diversification of Chilean aquaculture: the case of the crustacean *Austromegabalanus psittacus* (Molina, 1782). *Latin American Journal of Aquatic Research* 40 (Suppl. 1): 1-12.
- Matsubara H, T Hayashi, T Ogawa, K Muramoto, M Jimbo & H Kamiya. 2009.** Modulating effect of acorn barnacle C-type lectins on the crystallization of calcium carbonate. *Fisheries Science* 74(2): 418-424.
- Monks N, C Lerner, A Henriquez, F Farias, E Schapoval, E Suyenega, A Da Rocha, G Schwartsmann & B Mothes. 2002.** Anticancer, antichemotactic and antimicrobial actives of marine sponges collected off the coast of Santa Catarina, southern Brazil. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 281: 1-12.
- Montaño-Pérez K & F Vargas-Albores. 2002.** Péptidos antimicrobianos: un mecanismo de defensa ancestral con mucho futuro. *Interciencia* 27(1): 21-27.
- Muramoto K, DH Jin, Y Niino, K Fujiwara, S Kabuto, T Ogawa, M Toda & H Kamiya. 2001.** Comparison of the amino acid sequences of acorn barnacle lectins showing different inhibitory activities toward the crystal growth of calcium carbonate. *Fisheries Science* 67(4): 703-709.
- Noga EJ, TA Arroll & ZQ Fan. 1996.** Specificity and some physicochemical characteristics of the antibacterial activity from blue crab *Callinectes sapidus*. *Fish & Shellfish Immunology* 6(6): 403-412.
- Nottage AS & TH Birkbeck. 1990.** Interactions between different strains of *Vibrio alginolyticus* and hemolymph fractions from adult *Mytilus edulis*. *Journal of Invertebrate*

- Pathology 56(1): 15-19.
- Peterson L & C Shanholtzer.** 1992. Tests for bactericidal effects of antimicrobial agents: technical performance and clinical relevance. Clinical Microbiology Reviews 5(4): 420-432.
- Roch P.** 1999. Defense mechanisms and disease prevention in farmed marine invertebrates. Aquaculture 172(1-2): 125-145.
- SERNAPESCA.** 2012. Anuario estadístico de pesca, 300 pp. Servicio Nacional de Pesca. Subsecretaría de Pesca, Ministerio de Economía, Fomento y Turismo, Valparaíso. <www.sernapesca.cl>
- Shah SQA, FC Cabello, TM L'Abee-Lund, A Tomova, HP Godfrey, AH Buschmann & H Sorum.** 2014. Antimicrobial resistance and antimicrobial resistance genes in marine bacteria from salmon aquaculture and non-aquaculture sites. Environmental Microbiology 16(5): 1310-1320.
- Sharma S, A Chatterji & P Das.** 2009. Effect of different extraction procedures on antimicrobial activity of marine bivalves: a comparison. Pertanika Journal of Tropical Agricultural Science 32(1):77-83.
- Tadesse M, B Gulliksen, MB Strom, OB Styrvold & T Haug.** 2008. Screening for antibacterial and antifungal activities in marine benthic invertebrates from northern Norway. Journal of Invertebrate Pathology 99(3): 286-293.
- Tan SP, L O'Sullivan, ML Prieto, GE Gardiner, PG Lawlor, F Leonard, P Duggan, P McLoughlin & H Hughes.** 2012. Extraction and bioautographic-guided separation of antibacterial compounds from *Ulva lactuca*. Journal of Applied Phycology 24(3): 513-523.
- Tincu A & S Taylor.** 2004. Antimicrobial peptides from marine invertebrates. Antimicrobial Agents and Chemotherapy 48(10): 3645-3654.
- Touati I, K Chatieb, A Bakhrouf & K Gaddour.** 2007. Screening of antimicrobial activity of marine sponge extracts collected from Tunisian coast. Journal de Mycologie Médicale 17(3): 183-187.
- Vázquez L, J Alpuche, G Maldonado, C Agundis, A Pereyra-Morales & E Zenteno.** 2009. Immunity mechanisms in crustaceans. Innate Immunity 15(3): 179-188.
- Vega M.** 2013. Determinación de la actividad antimicrobiana de la melanina purificada, a partir de la tinta de *Octopus mimus* Gould, 1852 (Cephalopoda: Octopodidae). Latin American Journal of Aquatic Research 41(3): 584-587.

Recibido el 14 de octubre de 2013 y aceptado el 7 de julio de 2014

Editor: Claudia Bustos D.