

Evaluación de la actividad antibacteriana de la mucosidad de la piel del pulpo común *Octopus bimaculatus* contra bacterias patógenas de animales de granja

Evaluation of the antibacterial activity of the skin mucus of the common octopus *Octopus bimaculatus* against pathogenic bacteria of farm animals

Savin-Amador, M.^{ID}, Hernández-Rubio, J.S.^{ID}, Caballero-Cosío M.A.^{ID},
Rojas-Contreras, M., González-Pérez, N.F.^{ID}

Universidad Autónoma de Baja California
Sur (UABCS) Apartado Postal 19-B,
C.P. 23080, La Paz, Baja California Sur,
México



Please cite this article as/Como citar este artículo:

Savin-Amador, M., Hernández-Rubio, J.S., Caballero-Cosío M.A., Rojas-Contreras, M., González-Pérez, N.F. (2024). Evaluation of the antibacterial activity of the skin mucus of the common octopus *Octopus bimaculatus* against pathogenic bacteria of farm animals. *Revista Bio Ciencias*, 11, e1521. <https://doi.org/10.15741/revbio.11.e1521>

Article Info/Información del artículo

Received/Recibido: May 23th 2023.

Accepted/Aceptado: January 02th 2024.

Available on line/Publicado: January 19th 2024.

RESUMEN

Se realizaron estudios para evaluar el potencial antibacteriano de la mucosidad de la piel recolectada del pulpo común *Octopus bimaculatus* contra ciertas cepas patógenas para crustáceos, moluscos, peces y bovinos; *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio harveyi*, *Vibrio parahaemolyticus* y *Staphylococcus pasteurii*. Las actividades antibacterianas se midieron en términos de halos de inhibición en mm y se compararon con dos antibióticos amikacina y cloranfenicol. También se estimó la cantidad de proteína en la mucosidad del pulpo en mg mL⁻¹. Se observaron halos de inhibición producidos por tres diferentes concentraciones de mucosidad en los patógenos seleccionados, con la excepción de la cepa *V. parahaemolyticus*, que no mostró inhibición en la concentración mínima. Además, en la concentración más alta, la cepa *V. parahaemolyticus* fue la menos inhibida, con un diámetro de 3.9 ± 0.2 mm. Los dos antibióticos inhibieron todas las cepas, siendo la cepa *E. coli* la más inhibida. Por lo tanto, estos resultados han demostrado que la mucosidad extraída de la piel del pulpo exhibe actividad antibacteriana y que contienen proteínas. Estos componentes podrían ser sometidos a procesos de purificación para su potencial utilización como una alternativa a los antibióticos en el control de patógenos tanto en instalaciones acuícolas como terrestres.

PALABRAS CLAVE: Cefalópodos, Proteína, Inhibición, Antibacteriano.

*Corresponding Author:

Macario Savin Amador. Departamento Académico de Ciencia Animal y Conservación del Hábitat. UABCS. Apartado Postal 19-B. C.P. 23080, La Paz, Baja California Sur, México. Teléfono: (612) 1238800 Ext. 5140.

E-mail: msavin@uabcs.mx

ABSTRACT

Studies were conducted to evaluate the antibacterial potential of skin mucus collected from the common octopus *Octopus bimaculatus* against certain pathogenic strains for crustaceans, mollusks, fish, and bovine; *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio harveyi*, *Vibrio parahaemolyticus*, and *Staphylococcus pasteurii*. The antibacterial activities were measured in terms of inhibition halos in mm and compared with two antibiotics amikacin and chloramphenicol. The amount of protein in octopus mucus was also estimated in mg mL⁻¹. Inhibition halos produced by three different mucus concentrations were observed for the selected pathogens, except for the *V. parahaemolyticus* strain, which showed no inhibition at the lowest concentration. Furthermore, at the highest concentration, strain *V. parahaemolyticus* was the least inhibited, with a diameter of 3.9 ± 0.2 mm. The two antibiotics inhibited all strains, with the *E. coli* strain being the most inhibited. Therefore, these results have demonstrated that mucus extracted from octopus skin exhibits antibacterial activity and that they contain proteins. These components could be subjected to purification processes for potential use as an alternative to antibiotics in the control of pathogens in both aquaculture and terrestrial facilities.

KEY WORDS : Cephalopods, Protein, Inhibition, Antibacterials.

Introducción

Los ecosistemas marinos son muy complejos y se conoce que los organismos poseen compuestos bioactivos como defensa y para la protección de huevos y embriones. Algunos tienen mecanismos químicos para sintetizar compuestos *de novo* para protegerse de patógenos (Lauritano & Ianora, 2020).

En la actualidad se han descubierto cerca de 16,000 productos naturales de organismos marinos, por ejemplo, en 1949 se obtuvo el primer producto antibacteriano de origen marino, la Cefalosporina C, a partir de una cepa de hongo marino *Cephalosporium* (Pandey, 2019). Entre los organismos marinos los invertebrados marinos ofrecen una buena fuente de fármacos antibacterianos potenciales (Di Costanzo *et al.*, 2019; Lauritano *et al.*, 2020).

Los cefalópodos se encuentran en todos los hábitats marinos del mundo, como bentónicos-crípticos; epibentónicos y pelágicos en bahías y mar abierto. Sin embargo, los cefalópodos no cuentan con un caparazón para protegerse por lo que usan medio químicos, cambio de coloración, y toxinas (Monolisha *et al.*, 2013). La piel de los cefalópodos consta de dos capas, la epidermis y la dermis. Estas capas cubren la superficie externa del cuerpo mostrando diferentes

especializaciones regionales, como ventosas y brazos. Además, la piel se continúa con las superficies internas del sifón y la cavidad paleal (Anadón, 2019).

Para evaluar el estado de los animales, es imprescindible llevar a cabo diversas pruebas en sus órganos, entre los cuales se incluye la piel. Las características que se deben observar en la piel son la presencia de descamación, hematomas, úlceras e hipersecreción mucosa (FAO, 2011). La piel de la mayoría de los organismos contiene epitelios mucosos con importantes propiedades antiparasitarias, antifúngicas, antibacterianas y antivirales (Fast et al., 2002). En la actualidad las granjas marinas y terrestres presentan problemas derivados de las enfermedades transmitidas por bacterias patógenas (OIE, 2019; Prachumwat et al., 2020; Deng et al., 2020; de Lorgeril et al., 2018; Palomares-Reséndiz et al., 2021; Rivera-Benitez et al., 2014; Burniston et al., 2015; Giraldo-Cardona et al., 2019; Pulido-Villamarín et al., 2021). Por este motivo, esta investigación se centra en la piel de los pulpos principalmente en el estudio de la mucosidad (González-Costa et al., 2020; Villanueva et al., 2021).

En los últimos años, hay muchas investigaciones sobre las propiedades antibacterianas de la mucosidad de la piel de muchas especies de organismos marinos contra varios microorganismos patógenos para humanos y peces (Wei et al., 2010; Bragadeeswaran & Thangaraj, 2011; Vennila et al., 2011; Fuochi et al., 2017; Reverter et al., 2018), de peces de agua dulce (Nwabueze, 2014; Pethkar & Lokhande, 2017), peces marinos y catádomos (Fuochi et al., 2017; Pethkar & Lokhande, 2017), elasmobranchios (Coelho et al., 2019; Ritchie et al., 2017), anémonas (Subramanian et al., 2011; Stabili et al., 2015), moluscos (Pales Espinosa et al., 2013; Kamiya et al., 2006; Suárez et al., 2021).

Los principales componentes de la mucosidad son glicoproteínas y proteoglicanos, y en menor cantidad, enzimas proteolíticas, lisozimas, inmunoglobulinas, etc. A diferencia de otros moluscos (Smith, 2002), la naturaleza química de la mucosidad en el género *Octopus* es limitada (Smith & Morín, 2002).

Cada especie tiene su propio hábito y hábitat, vive en diferentes tipos de ambientes acuáticos, consume diferentes tipos de alimentos, lo que puede influir en la cantidad de secreción de la mucosidad y sus componentes dentro de la especie o entre especies y puede ser útil para proporcionar una variedad de respuestas inmunológicas. Por lo tanto, el objetivo del presente estudio fue analizar el efecto antibacteriano de la mucosidad de la piel del pulpo común *Octopus bimaculatus*, contra cepas patógenas para animales de granja terrestres y acuáticas de colección.

Material y Métodos

Colecta de organismos

Se capturaron 5 pulpos del género *O. bimaculatus* de un peso aproximado de 500 a 700 gramos en la comunidad de El Sauzoso, B.C.S. México (24°18'44.5"N 110°38'26.0"W) con trampas. Fueron colocados en tanques a bordo de la embarcación con agua limpia y estéril. Antes

de colocarlos en los tanques estos se lavaron con una solución de permanganato de potasio (KMnO₄) al 4% y antes de la recolección de la mucosidad. No se administró a los pulpos ningún producto químico ni anestesia para la recolección de la mucosidad de la piel. Se tomó la mucosidad de cinco pulpos. La mucosidad se raspo cuidadosamente de la superficie del cuerpo moviendo una espátula de plástico estéril en dirección anteroposterior, de la cabeza hacia los tentáculos, y se recogió la mucosidad a intervalos regulares (10 intentos en 3 hrs). Se evitó la acumulación de la mucosidad del área ventral para eliminar la contaminación intestinal y urogenital (Chong *et al.*, 2005). Las muestras de la mucosidad se llevaron en hielo hasta el laboratorio donde se centrifugó a 13,200 r.p.m por 10 min a 4°C. El sobrenadante se colocó en un tubo estéril y se volvió a centrifugar en frío a 11,000 r.p.m por 30 min. Se desechó el precipitado y el extracto de la mucosidad cruda se almacenó a -70 °C antes del análisis.

Preparación de la mucosidad cruda del pulpo

La mucosidad cruda del pulpo se trató con la enzima lisozima SIGMA® a una concentración final de 10 mg mL⁻¹ en un tampón de fosfatos pH 7.0. La mezcla se incubó a pH y temperatura óptima para que la enzima rompiera la capa de peptidoglicano de la pared celular de las bacterias durante 2 hrs. La actividad antibacteriana se realizó por un método de difusión en placas de petri con agar Müller-Hinton mediante pozos (Guerra & Pastrana, 2002).

Reactivación de las cepas patógenas

Las cepas utilizada para la evaluación antibacteriana *in vitro* de la mucosidad del pulpo preparado fueron: *Escherichia coli* (Amador, 2018), *Staphylococcus aureus* (Datos no publicados), *Vibrio harveyi* (Parera-Valadez, 2012), *Staphylococcus pasteurii* (Amador, 2018), *Vibrio parahaemolyticus* (Amador, 2021) (Tabla 1). Todas las cepas bacterianas se obtuvieron de la colección del Laboratorio de Ciencia y Tecnología de Alimentos de la Universidad Autónoma de Baja California Sur.

Las cepas bacterianas se cultivaron según los protocolos y condiciones de seguridad microbiológica de Eder *et al.* (2009). Cada cepa se incubó a 37 °C en caldo nutritivo (0.5% peptona, 0.5% NaCl, 0.3% extracto de carne, agua destilada, pH 6.8 a 28 °C) por 18-24 h Posteriormente, se hizo una cuenta viable de cada cultivo y se calcularon las unidades formadoras de colonias por mL (UFC/mL)(Barbosa *et al.*, 1995).

Estimación de proteína

La cantidad de proteína de la mucosidad de los pulpos se determinó utilizando el método de Bradford Kruger (2009).

Tabla 1. Cepas de la colección del Laboratorio de Ciencia y Tecnología de Alimentos de la Universidad Autónoma de Baja California Sur.

Aislado	Género	Especie	Lugar
Ostión	<i>Escherichia</i>	<i>coli</i>	BCS, México.
Bovino	<i>Estafilococo</i>	<i>aureus</i>	BCS, México.
Camarón	<i>Vibrio</i>	<i>harveyi</i>	BCS, México.
Ostión	<i>Estafilococo</i>	<i>pasteuri</i>	BCS, México.
Camarón	<i>Vibrio</i>	<i>parahaemolyticus</i>	BCS, México.

Ensayo de difusión en placa petri con pozos en el agar

El efecto antibacteriano de los extractos de la mucosidad del pulpo (OM) sobre las cepas bacterianas seleccionadas se analizó mediante el método de difusión en placa con pozos en el agar (Valgas *et al.*, 2007). Las placas de Petri se prepararon con 15 mL de agar Müller-Hinton y después se sembraron las cepas bacterianas (Tabla 1), por extensión en superficie con 1×10^7 UFC mL⁻¹. Posteriormente, se perforaron asépticamente pozos con un diámetro de 6 mm con una punta y se agregaron extractos de la mucosidad del pulpo preparado (10, 50 y 100 μ L mL⁻¹ de extracto de la mucosidad por pozo), como controles positivos se usaron los antibióticos amikacina y cloranfenicol en concentración de 40 μ g mL⁻¹ y 20 μ g mL⁻¹, respectivamente y como control negativo se usó solución salina fisiológica (0.85% NaCl). Las placas de petri ya inoculadas y con los extractos se incubaron a 37 °C durante 24 h. La evaluación del efecto bactericida se realizó midiendo el diámetro del HI formado alrededor del pozo (Jorgensen & Turnidge, 2015). El diámetro del HI se midió en milímetros (mm) con un vernier, la medición se hizo tomando el diámetro total del halo menos los 6 mm del pozo. Los resultados de la actividad antibacteriana se compararon con los controles positivos.

Análisis estadístico

Los resultados se sometieron a la prueba de homocedasticidad de Barlett y la prueba de normalidad de D'Agostino-Pearson con un $\alpha = 0.05$ y luego se realizó un análisis de varianza (ANOVA) de una vía para comparar la variación significativa de la mucosidad de pulpo y los antibióticos. La determinación de los factores que contribuyen a las diferencias significativas se llevó a cabo utilizando la prueba de comparación múltiple LSD (Sokal & Rohlf, 1980).

Resultados y Discusión

La mucosidad del pulpo puede representar una buena fuente de compuestos biológicamente activos para ser utilizados con diferentes fines biotecnológicos. La interfaz biológica entre el pulpo y su ambiente marino consiste en una capa de la mucosidad compuesta de secreciones bioquímicamente diversas de células epidérmicas y epiteliales (Accogli *et al.*, 2017). Se ha sugerido

que la secreción de mucosidad tiene un propósito antibacteriano, y también ayuda a recolectar bacterias de las aguas circundantes y promueve la acumulación de células microbianas, entre ellas *Vibrio* y otros microorganismos marinos (Troll *et al.*, 2010).

Así mismo se demostraron los efectos de un nuevo péptido antibacteriano (OctoPartenopin), extraído de las ventosas de *O. vulgaris*, contra *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans* (Maselli *et al.*, 2020). En esta investigación se usó la mucosidad del pulpo para inhibir el crecimiento de algunas cepas de bacterias patógenas, donde a mayor concentración tuvo una mayor inhibición.

En otra investigación se llevaron a cabo ensayos *in vitro* e *in vivo* usando octopromicina, un péptido derivado de *Octopus minor* contra *Acinetobacter baumannii* y revelaron que los peces infectados exhibieron un porcentaje relativo de supervivencia significativamente mayor 37.5 % que los peces infectados tratados de forma simulada con PBS 16.6 %, (Rajapaksha *et al.*, 2021).

Proteínas solubles

El contenido de proteína en la mucosidad de los pulpos seleccionados varió muy poco. La tendencia general del contenido de proteína en la mucosidad epidérmica de la especie fue de 3.684 mg mL⁻¹, mientras en otra investigación se encontró un contenido de proteína de 1.0716 mg mL⁻¹ para *O. dofusii* y 1.3620 mg mL⁻¹ para *O. aegina* (Monolisha *et al.*, 2013). Sin embargo, no se encontró más información sobre cuantificación de proteína en la mucosidad del pulpo, pero en peces se mostró que la mucosidad epidérmica cruda y parcialmente purificada de *Tachysurus dussumieri* presentó un contenido de proteína de 0.48 ± 0.02 mg mL⁻¹ y 0.82 ± 0.05 mg mL⁻¹ (Arulvasu *et al.*, 2012). Del mismo modo, se encontró a la proteína como componente principal en diferentes extractos de la mucosidad cutánea de *Channa micropeltes*, *Cytusis striatus*, *Oreochromis niloticus* y *Mystus nemurus*, la cual osciló entre 4.32 ± 0.28 y 5.79 ± 0.32 mg mL⁻¹ (Rao *et al.*, 2015). Posiblemente debido al alto contenido de proteína en el extracto de la mucosidad de *O. bimaculatus* tuvo una mayor HI contra los patógenos seleccionados en esta investigación, ya que también se ha sugerido que la secreción de la mucosidad tiene un propósito antibacteriano (Troll *et al.*, 2010), y además de las lectinas, las glicoproteínas no caracterizadas también se han asociado con la unión a bacterias en la hemolinfa de *Octopus vulgaris* (Rögenger *et al.*, 1987).

Ensayo de antagonismo bacteriano

El extracto de la mucosidad cruda del pulpo y los dos antibacterianos, cloranfenicol y amikacina, exhibieron un fuerte efecto bactericida contra todas las cepas patógenas seleccionadas a excepción del patógeno *V. parahaemolyticus*.

En el bioensayo se evaluó la inhibición de cepas bacterianas utilizando diferentes concentraciones de la mucosidad y antibióticos específicos. Los resultados mostraron halos de inhibición (IH) (Tabla 2), donde se observó que en la concentración de la mucosidad de 10_μL mL⁻¹ hubo un mayor IH para la cepa *E. coli* con 19.168 ± 3 mm, el menor halo para *S. aureus* con

8.0 ± 0.4 mm y no IH para la cepa *V. parahaemolyticus*. En la concentración de 50 µL mL⁻¹ el mayor IH fue para *E. coli* con 20.21 ± 0.4 mm, y el menor fue para *V. parahaemolyticus* 1.56 ± 0.02. En la concentración de 100 µL mL⁻¹ se mostró una inhibición en todas las cepas, el mayor halo lo presentó la cepa *S. aureus* con 14.2 mm ± 0.5 mm y el halo menor fue para *V. parahaemolyticus* con 3.9 ± 0.2 mm. El antibiótico cloranfenicol 20 lg mL⁻¹ mostró el mayor halo de inhibición para *E. coli* 14.6 ± 0.5 mm y el menor para *S. aureus* con 2.12 ± 0.1 mm y el antibiótico amikacina 40 lg mL⁻¹ mostró el mayor IH para la cepa *S. aureus* con 8.4 ± 0.6 mm y el menor para *V. parahaemolyticus* con 4.0 ± 0.2 mm.

Tabla 2. Halos de inhibición mostrados por las bacterias seleccionadas expuestas a las tres diferentes concentraciones de la mucosidad del pulpo y dos antibióticos comerciales.

Cepas	Concentraciones de mucosidad de pulpo HI (mm)			Antibióticos HI (mm)	
	10 µl ml ⁻¹	50 µl ml ⁻¹	100 µl ml ⁻¹	Cloranfenicol 20 lg ml ⁻¹	Amikacina 40 lg ml ⁻¹
<i>E. coli</i>	19.168 ± 0.3	20.21 ± 0.4	5.52 ± 0.4	14.6 ± 0.5	5.52 ± 0.4
<i>V. parahaemolyticus</i>	0	0	3.9 ± 0.2	2.4 ± 0.2	4.0 ± 0.2
<i>S. pasteurii</i>	10.32 ± 0.9	10.5 ± 0.45	12.7 ± 0.7	4.4 ± 0.43	5.52 ± 0.4
<i>V. harveyi</i>	8.82 ± 0.3	10.2 ± 0.5	12 ± 0.9	4.4 ± 0.3	6.04 ± 0.5
<i>S. aureus</i>	8.0 ± 0.4	10 ± 0.5	14.2 ± 0.5	2.12 ± 0.1	8.4 ± 0.6

HI= halos de inhibición. Halo= Diámetro del halo de inhibición menos el diámetro del pozo con antibacteriano.

Las cinco cepas patógenas presentaron IH en presencia de los dos antibióticos. Con cloranfenicol 20 µg mL⁻¹, el mayor IH fue de las cepas: *E. coli* con 14.6 ± 0.5 mm, *V. harveyi* con 4.4 ± 0.4 mm, *S. pasteurii* con 4.4 ± 0.43 mm y el menor de *S. aureus* con 2.12 ± 0.1 mm. Con amikacina 40 lg mL⁻¹ el mayor IH lo presentó la cepa *S. aureus* con 8.4 ± 0.6 mm, seguido de *V. harveyi* con 6.04 ± 0.5 mm, *E. coli* y *S. pasteurii* con 5.5 ± 0.4 mm y el menor fue de *V. parahaemolyticus* con 4 ± 0.2 mm.

Los resultados de los halos de inhibición de las cepas bacterianas seleccionadas debido a la mucosidad a una concentración de 10 µL mL⁻¹ mostraron diferencias significativas ($p > 0.05$) entre todas las cepas, sin embargo, *E. coli* fue la mayor inhibida. En la concentración de 50 µL mL⁻¹ no hubo diferencias entre las cepas *S. pasteurii*, *V. harveyi*, *S. aureus*, pero sí hubo diferencias contra *V. parahaemolyticus* y *E. coli* ($p > 0.05$) siendo esta última la que presentó el mayor IH de 20.28 mm. Con la mucosidad de 100 µL mL⁻¹ se mostraron diferencias significativas ($p > 0.05$) entre casi todas las cepas: *S. aureus* y *V. harveyi* y la cepa *E. coli* tuvo el IH mayor con 21.44 mm, a excepción de *S. pasteurii*. El antibiótico cloranfenicol 20 lg mL⁻¹ no provocó diferencias significativas entre los IH de las cepas *S. pasteurii* y *V. harveyi*, entre *V. parahaemolyticus* y *S. aureus*, pero sí entre estos grupos y contra *E. coli* presentando esta última el mayor IH de 14.8 mm. El antibiótico amikacina 40 lg mL⁻¹ no provocó diferencias significativas entre los IH de *E.*

coli y *V. harveyi* entre *S. pasteurii* y *S. aureus*, pero si estos dos grupos contra *V. parahaemolyticus* ($p > 0.05$), aquí la cepa con el mayor IH fue *S. aureus* con 8.4 mm. Un dato importante fue que la cepa *V. parahaemolyticus* fue la menos inhibida en las tres concentraciones y los antibióticos.

Otros reportes han mostrado la actividad antimicrobiana de extractos acuosos y etanólicos de la mucosidad de diferentes organismos marinos. Ensayos de actividad antimicrobiana llevada a cabo con extractos etanólicos de tejidos de organismos de *Octopus dofusii* y de *Octopus aegina* contra *V. parahaemolyticus* mostraron IH de 34 y 28 mm en promedio respectivamente (Monolisha *et al.*, 2013).

Así mismo, en extractos metanólicos de tejido de *O. dofusii* se observó el mayor IH de 17 mm contra *E. coli*, otro extracto de *O. aegina* mostró un IH de 15 mm contra *V. parahaemolyticus* y otro de *O. aerolatus* contra *S. aureus* presentó un IH de 13 y 14 mm y el menor IH de 8 mm se observó contra *Streptococcus* sp. con extractos de *O. dofusii*, *O. aegina* y *O. aerolatus* (Pasiyappazham *et al.*, 2011). En esta investigación, la mucosidad superficial de *O. bimaculatus* contra diferentes patógenos, mostró el mayor IH contra *E. coli* de 21.44 mm, contra *S. aureus* de 14.2 mm, contra *S. pasteurii* de 12.75 mm y contra *V. harveyi* de 12.36 mm. El IH más bajo fue de 4.6 mm en *V. parahaemolyticus*, de igual manera, Monolisha *et al.* (2013) usando extractos etanólicos de tejido de *O. dofusii* contra *V. anguillarum*, *V. alginolyticus*, *V. sclintis* y *V. harveyi* reportó IH de aproximadamente 27, 22, 21 y 15 mm respectivamente, también usó extractos de *O. aegina* contra los mismos patógenos reportando IH de 25, 21, 21 y 18 mm respectivamente, lo anterior sugiere que el género *Octopus* presenta actividad antibacteriana en la mucosidad superficial y también podría estar en todas las mucosas internas de estos organismos. Similar investigación con extractos de la mucosidad de la carpa mostró que el efecto inhibitor máximo de la mucosidad de la carpa *Hypophthalmichthys nobilis* contra *E. coli*, alcanzó un IH de 31.00 ± 0.47 mm, el de *Ctenopharyngodon idella* contra *P. aeruginosa* fue de 34.33 ± 0.13 m, significativamente mayor que amikacina 33.33 ± 0.13 mm y el de *O. bimaculatus* contra *S. aureus* oscilaron de 10.32 a 12.75 mm (Kumari *et al.*, 2019). También se reportó que *S. aureus* fue más susceptible que otras bacterias Gram negativas a la inhibición del crecimiento por extractos de gasterópodos (Benkendorff *et al.*, 2001), sin embargo, en la hemolinfa de *Mytilus galloprovincialis* no se detectó actividad antibacteriana contra *E. coli*. (Hubert *et al.*, 1999). Se ha sugerido que la resistencia de *E. coli* a antibacterianos se ha debido a la estructura compleja de la pared celular de Gram negativas particularmente a los lipopolisacáridos de la membrana externa, que excluye la mayoría de los compuestos activos (Im & Khalid, 2020).

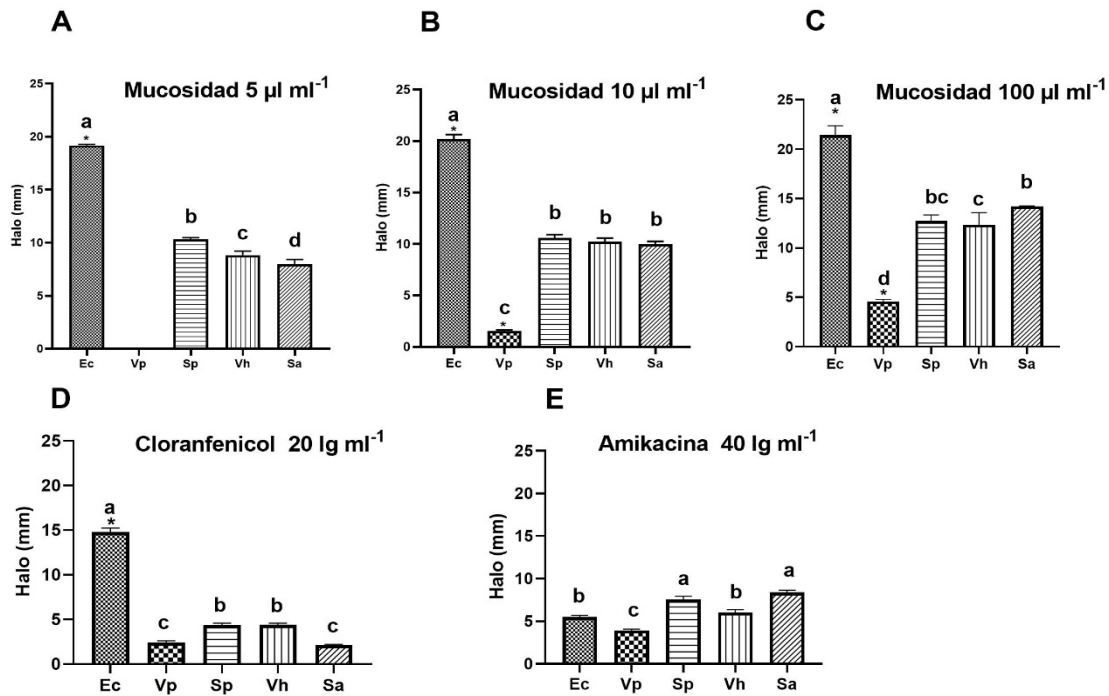


Figura 1. Halos de inhibición (IH) provocados por el extracto de la mucosidad del pulpo y dos antibióticos en el crecimiento de diferentes cepas microbianas patógenas seleccionadas. Ec (*E. coli*), Sa (*S. aureus*), Vh (*V. harveyi*), Sp (*S. pasteurii*), Vp (*V. parahaemolyticus*).

Letras idénticas denotan ausencia de diferencias significativas ($p > 0.05$). En la figura A, hay diferencias significativas entre todas las cepas (a) Ec, (b) Sp, (c) Vh, (d) Sa. Figura B, letra (b) Sp, Vh, Sa no hay diferencias entre ellos, (a) Ec y (c) Vp significan diferencias significativas contra a. Figura C, Sp (bc), Sa (b) y Vh (c) no hay diferencias entre ellos y diferencias significativas (a) Ec y (d) Vp. Figura D, no hay diferencias entre (b) Sp y Vh, (c) Vp y Sa, y diferencias significativas en comparación con (a) Ec. Figura E, no hay diferencias entre (a) Sp y Sa, y diferencias significativas en comparación con (c) Vp ($p > 0.05$) (Tukey HSD).

Conclusiones

En el presente estudio se ha demostrado que el extracto de la mucosidad cutánea del cefalópodo *O. bimaculatus* tiene actividad antimicrobiana contra bacterias patógenas para peces, crustáceos, moluscos y bovinos y se ha determinado que dicho extracto es rico en proteínas. Lo anterior sugiere que el extracto de la mucosidad o los compuestos antimicrobianos purificados posteriormente se pueden utilizar como una alternativa a los antibióticos y quizás podrían emplearse en las granjas acuícolas y terrestres de pollos, bovinos etc. Por ser dicho extracto un producto natural ayudaría a reducir los problemas de resistencia a los antibióticos que tenemos en la actualidad.

Contribución de los autores

Conceptualización del trabajo (MSA, JSHR, MACC). Desarrollo de la metodología (MSA, NFPG, MACC). Manejo de software (MSA, JSHR). Validación experimental (MSA, MRC). Análisis de resultados (MSA, JSHR, MACC, MRC, NFPG). Manejo de datos (MSA, JSHR). Escritura y preparación del manuscrito (MSA, MRC). Redacción, revisión y edición (MSA, JSHR, MRC). Administrador de proyectos (MSA). Adquisición de fondos (MSA).

Agradecimientos

Esta investigación fue apoyada por el Grupo de Investigación Interna: Soluciones Basadas en la Naturaleza (SbN), el Departamento Académico de Ciencia Animal y Conservación del Hábitat y el Laboratorio de Ciencia y Tecnología de Alimentos de la Universidad Autónoma de Baja California Sur.

Conflictos de interés

Los autores declaran no tener conflicto de interés

Declaración de principios para el uso ético de animales.

Los autores declaran haber cumplido las regulaciones vigentes nacionales e internacionales, que exigen un manejo ético de los animales.

Referencias

- Accogli, G., Scillitani, G., Mentino, D., & Desantis, S. (2017). Characterization of the skin mucus in the common octopus *Octopus vulgaris* (Cuvier) reared paralarvae. *European Journal of Histochemistry: EJH*, 61(3). <https://doi.org/10.4081/ejh.2017.2815>
- Amador, M. S. (2018). Estudio de la interacción de larvas véliger de ostión *Crassostrea gigas* con una bacteria probiótica y otra patógena a través de ensayos *in vivo*. (Tesis de maestría, Universidad Autónoma de Baja California Sur). <http://rep.uabcs.mx/handle/23080/83>
- Amador, M. S. (2021). Análisis transcriptómico de larvas de ostión japonés *Crassostrea gigas* alimentadas con microalgas locales administradas con un probiótico y retadas con un patógeno regional. (Tesis de doctorado, Universidad Autónoma de Baja California Sur). <http://rep.uabcs.mx/handle/23080/385>
- Anadón, R. (2019). Functional histology: The tissues of common coleoid cephalopods. In: C. Gestal, S. Pascual, A. Guerra, G. Fiorito, & J. M. Vieites (Eds). (2019). Handbook of pathogens and diseases in European cephalopods (pp. 39–86). Cham, Switzerland: *Springer* (Open access). https://doi.org/10.1007/978-3-030-23080-0_3

- [org/10.1007/978-3-030-11330-8_4](https://doi.org/10.1007/978-3-030-11330-8_4).
- Arulvasu, C., Selvamathi S., Babu G., & Dhanasekaran, G. (2012). Effect of crude and partially purified epidermal mucus proteins of marine catfish *Tachysurus dussumieri* on human cancer cell line. *Journal of Academia and Industrial Research* 1(4), 164–169. <http://www.jairjp.com/SEPTEMBER%202012/04%20ARULVASU.pdf>
- Barbosa H.R., Rodrigues M.F.A., Campos C.C., Chaves M.E., Nunes I., Juliano & Novo, N.F. (1995). Counting of viable cluster-forming and non cluster-forming bacteria: a comparison between the drop and the spread methods. *Journal Microbiological Methods*, 22, 39–50. [https://doi.org/10.1016/0167-7012\(94\)00062-C](https://doi.org/10.1016/0167-7012(94)00062-C)
- Benkendorff, K., Davis, A. R. & Bremner, J. B. (2001). Chemical defense in the egg masses of benthic invertebrates: an assessment of antibacterial activity in 39 mollusks and 4 polychaetes. *Journal Invertebrate Pathology*, 78(2), 109-118. <https://doi.org/10.1006/jipa.2001.5047>
- Bragadeeswaran, S., & Thangaraj, S. (2011). Hemolytic and antibacterial studies on skin mucus of eel fish, *Anguilla anguilla* Linnaeus, 1758. *Asian Journal of Biological Sciences*, 4(3), 272-276. <https://doi.org/10.3923/ajbs.2011.272.276>
- Burniston S., Okello A.L., Khamlome B., Inthavong P., Gilbert J., Blacksell S.D., Allen J., & Welburn, S.C. (2015). Cultural drivers and health-seeking behaviours that impact on the transmission of pig-associated zoonoses in Lao People's Democratic Republic. *Infectious Diseases of Poverty*, 4, 1-12. <https://doi.org/10.1186/2049-9957-4-11>
- Chong K., Ying T.S., Foo J., Jin L.T., & Chong, A. (2005). Characterization of proteins in epidermal mucus of Discus fish (*Symphosodon* spp.) during parental phase. *Aquaculture*, 249(1-4), 469–476. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2005.02.045>
- Coelho, G. R., Neto, P. P., Barbosa, F. C., Dos Santos, R. S., Brigatte, P., Spencer, P. J., Coccuzzo Sampaio, S., D'Amelio, F., Carvalho Pimenta, D., & Mozer Sciani, J. (2019). Biochemical and biological characterization of the *Hypanus americanus* mucus: a perspective on stingray immunity and toxins. *Fish Shellfish Immunology*, 93, 832–840. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.08.049>
- de Lorgeril, J., Lucasson, A., Petton, B., Toulza, E., Montagnani, C., Clerissi, C., VidalDupiol, J., Chaparro, C., Galinier, R., Escoubas, J.-M., Haffner, P., Dégremont, L., Charrière, G.M., Lafont, M., Delort, A., Vergnes, A., Chiarello, M., Faury, N., Rubio, T., Leroy, M.A., Pérignon, A., Régler, D., Morga, B., Alunno-Bruscia, M., Boudry, P., Le Roux, F., Destoumieux-Garzón, D., Gueguen, & Mitta, G. (2018). Immune-suppression by OshV-1 viral infection causes fatal bacteraemia in Pacific oysters. *Nature Communications*, 9, 4215. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-06659-3>
- Deng, Y., Xu, L., Chen, H., Liu, S., Guo, Z., Cheng, C., Ma, H., & Feng, J. (2020). Prevalence, virulence genes, and antimicrobial resistance of *Vibrio* species isolated from diseased marine fish in South China. *Scientific Reports*, 10, 14329. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-71288-0>
- Di Costanzo, F., Di Dato, V., Ianora, A., & Romano, G. (2019). Prostaglandins in marine organisms: A review. *Marine Drugs*, 17(7), 428. <https://doi.org/10.3390/md17070428>
- Eder F.A., Kennedy J.M., Beth A.D., Notari P.E., Seate R, Bachousin L., Mair D.G., Swebb J.S, Wagner J.S., Doddy R., & Benjamin, R.J. (2009). Limiting and detecting bacterial contamination of apheresis platelets: inlet line diversion and increased culture volume improve component safety. *Transfusion*, 49(8), 1554–1563. <https://doi.org/10.1111/j.1537-2995.2009.02192.x>
- FAO (2011). Manual básico de Sanidad Piscícola. Paraguay: FAO. <http://www.fao.org/3/a-as830s.pdf>
- Fast, M. D., Sims, D. E., Burka, J. F., Mustafa, A., & Ross, N. W. (2002). Skin morphology and humoral non-specific defence parameters of mucus and plasma in rainbow trout, coho and Atlantic salmon.

- Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 132(3), 645–657. [https://doi.org/10.1016/S1095-6433\(02\)00109-5](https://doi.org/10.1016/S1095-6433(02)00109-5)
- Fuochi, V., Li Volti, G., Camiolo, G., Tiralongo, F., Giallongo, C., Distefano, A., Petronio, G.P., Barbagallo, I., Viola, M., Furneri, P.M., Di rosa, M., Avaloa, R., & Tibullo, D. (2017). Antimicrobial and anti-proliferative effects of skin mucus derived from *Dasyatis pastinaca* (Linnaeus, 1758). *Marine Drugs*, 15 (11), 342. <https://doi.org/10.3390/md15110342>
- Giraldo-Cardona J.P., Gualdrón-Ramírez D., Chamorro-Tobar I., Pulido-Villamarín A., Santamaría-Durán N., Castañeda-Salazar R., Zambrano Moreno C., & Carrascal-Camacho, A.K. (2019). *Salmonella* spp. prevalence, antimicrobial resistance and risk factor determination in colombian swine farms. *Pesquisa Veterinaria Brasileira*, 39 (10), 816- 822. <https://doi.org/10.1590/1678-5150-PVB-6156>
- González-Costa, A., Fernández-Gago, R., Carid, S., & Molist, P. (2020). Mucus characterisation in the *Octopus vulgaris* skin throughout its life cycle. *Anatomia, Histologia, Embryologia*, 49(4), 502-510. <https://doi.org/10.1111/ahe.12554>
- Guerra, N. P., & Pastrana, L. (2002). Modelling the influence of pH on the kinetics of both nisin and pediocin production and characterization of their functional properties. *Process Biochemistry*, 37(9), 1005-1015. [https://doi.org/10.1016/S0032-9592\(01\)00312-0](https://doi.org/10.1016/S0032-9592(01)00312-0)
- Hubert, F., van der Knaap, W., Noël, T., & Roch, P. (1996). Cytotoxic and antibacterial properties of *Mytilus galloprovincialis*, *Ostrea edulis* and *Crassostrea gigas* (bivalve molluscs) hemolymph. *Aquat Living Resour*, 9(2), 115-124. <https://doi.org/10.1051/alr:1996015>
- Lauritano, C., & Lanora, A. (2020). Chemical defense in marine organisms. *Marine drugs*, 18(10), 518. <https://doi.org/10.3390/md18100518>
- Lauritano, C., Martínez, K. A., Battaglia, P., Granata, A., de la Cruz, M., Cautain, B., Martin, J., Reyes, F., Lanora, A., & Guglielmo, L. (2020). First evidence of anticancer and antimicrobial activity in Mediterranean mesopelagic species. *Scientific Reports*, 10(1), 4929. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-61515-z>
- Im., W. & Khalid, S. (2020). Molecular simulations of Gramnegative bacterial membranes come of age. *Annual Reviews Physical Chemistry*, 71, 171-188. <https://doi.org/10.1146/annurev-physchem-103019-033434>
- Jorgensen J., & Turnidge J (2015). Susceptibility Test Methods: Dilution and Disk Diffusion Methods. In: Jorgensen J, Pfaller M, Carroll K, Funke G, Landry M, Richter S, Warnock D (eds) *Manual of clinical microbiology*, 11th edn. ASM Press, Washington, DC, pp 1253–1273. <https://doi.org/10.1128/9781555817381.ch7.1>
- Kamiya H., Sakai R., & Jimbo M. (2006) Bioactive molecules from sea hares. In *Molluscs: Progress in Molecular and Subcellular Biology*; Cimino, G., Gavagnin, M., Eds. Springer, Berlin/Heidelberg, Germany, 2006; Volume 43, (pp. 215–239). https://doi.org/10.1007/978-3-540-30880-5_10
- Kruger, N. J. (2009). The Bradford method for protein quantitation. The protein protocols handbook; Springer: Berlin/Heidelberg, Germany, pp. 17–24. https://doi.org/10.1007/978-1-59745-198-7_4
- Kumari, S., Tyor, A. K., & Bhatnagar, A. (2019). Evaluation of the antibacterial activity of skin mucus of three carp species. *International Aquatic Research*, 11(3), 225-239. <https://doi.org/10.1007/s40071-019-0231-z>
- Maselli, V., Galdiero, E., Salzano, A. M., Scaloni, A., Maione, A., Falanga, A., Naviglio, D., Guida, M., Di Cosmo, A., & Galdiero, S. (2020). OctoPartenopin: Identification and preliminary

- characterization of a novel antimicrobial peptide from the suckers of *Octopus vulgaris*. *Marine drugs*, 18(8), 380. <https://doi.org/10.3390/md18080380>
- Monolisha, S., Mani, A. E., Patterson, J., Edward, J. P. (2013). Molecular characterization and antimicrobial activity of *Octopus aegina* and *Octopus dofusii* in gulf of Mannar coast. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 4(9), 3582. [http://dx.doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.4\(9\).3582-87](http://dx.doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.4(9).3582-87)
- Nwabueze, A. A. (2014). Antimicrobial action of epidermal mucus extract of *clarias gariepinus* (Burchell, 1822) Juveniles-Fed ginger inclusion in diet. *International Journal of Biology*, 6(2) 42–48. <https://doi.org/10.5539/ijb.v6n2p42>
- OIE (Office International des Epizooties), (2019). Acute Hepatopancreatic Necrosis Disease. Manual of Diagnostic Tests for Aquatic Animals, chapter 2.2.1. Retrieved from https://www.oie.int/index.php?id=2439&L=0&htmlfile=chapitre_ahpnd.htm Date of access: 11 jul. 2023.
- Pales Espinosa, E., Winnicki, S.M., Allam, B. (2013). Early host-pathogen interactions in marine bivalves: Pallial mucus of *Crassostrea virginica* modulates the growth and virulence of its pathogen *Perkinsus marinus*. *Diseases of Aquatic Organisms*, 104(3), 237–247, <https://doi.org/10.3354/dao02599>
- Palomares Reséndiz, G., Aguilar Romero, F., Flores Pérez, C., Gómez Núñez, L., Gutiérrez Hernández, J., Herrera López, E., Limón González, M., Morales Álvarez, F., Pastor López c, F., & Díaz Aparicio, E. (2021). Enfermedades infecciosas de relevancia en la producción caprina, historia, retos y perspectivas. *Revista mexicana de ciencias pecuarias*, 12 (3), 205-223. <https://doi.org/10.22319/rmcp.v12s3.5801>
- Pandey A. (2019). Pharmacological Potential of Marine Microbes. In: Arora D, Sharma C, Jaglan S, Lichtfouse E, editors. *Pharmaceuticals from Microbes. Environmental Chemistry for a Sustainable World*. Vol 28. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-030-04675-0_1
- Parera-Valadez, Y. (2012). identificación y actividad antibacteriana de bacterias (doctoral dissertation, Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma de Baja California Sur, México). <https://biblio.uabcs.mx/tesis/tesis/te2826.pdf>
- Pasiyappazham, R., Namasivayam, S., Alagiri, S., Vairamani, S., Jayalakshmi, K., & Annaian, S. (2011). *In vitro* evaluation of antimicrobial activity of methanolic extract from selected species of Cephalopods on clinical isolates. *African Journal of Microbiology Research*, 5(23), 3884-3889. <https://doi.org/10.5897/AJMR11.564>
- Pethkar, M. R., and Lokhande, M. V. (2017). Antifungal activity of skin mucus of three cultivable fish species (*Catla-catla*, *cirrhinus mrigala* and *anguilla anguilla*). *International Journal of Zoology Studies*, 2, 01–03. ISSN: 2455-7269.
- Prachumwat, A., Wechprasit, P., Srisala, J., Kriangsaksri, R., Flegel, T. W., Thitamadee, S., & Sritunyalucksana, K. (2020). *Shewanella khirikhana* sp. nov.—a shrimp pathogen isolated from a cultivation pond exhibiting early mortality syndrome. *Microbial biotechnology*, 13(3), 781-795. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.13538>
- Pulido-Villamarín AP, Santamaría-Durán AN, Castañeda-Salazar R, Chamorro-Tobar I, Carrascal Camacho AK, Aranda-Silva M, & Zambrano-Moreno, C. (2021). Evaluación de anticuerpos frente a tres bacterias zoonóticas y factores de riesgo asociados en explotaciones porcinas de Colombia. *Revue Scientifique Technique*, OIE 39(3). <https://doi.org/10.20506/rst.39.3.3188>
- Rajapaksha, D. C., Jayathilaka, E. T., Edirisinghe, S. L., Nikapitiya, C., Lee, J., Whang, I., & De Zoysa, M. (2021). Octopromycin: Antibacterial and antibiofilm functions of a novel peptide

- derived from *Octopus minor* against multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Fish & Shellfish Immunology*, 117, 82-94. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2021.07.019>
- Rao, V., Marimuthu, K., Kupusamy, T., Rathinam, X., Arasu, M.V., Al-Dhabi, N.A., & Arockiaraj, j.(2015). Defense properties in the epidermal mucus of different freshwater fish species. *Aquaculture, Aquarium, Conservation & Legislation - International Journal of the Bioflux Society*, 8(2),184–194.
- Reverter, M., Tapissier-Bontemps, N., Lecchini, D., Banaigs, B., & Sasal, P. (2018). Biological and ecological roles of external fish mucus: a review. *Fishes*, 3(4), 41. <https://doi.org/10.3390/fishes3040041>
- Ritchie, K. B., Schwarz, M., Mueller, J., Lapacek, V. A., Merselis, D., Walsh, C. J., & Luer, C.A. (2017). Survey of antibiotic-producing bacteria associated with the epidermal mucus layers of rays and skates. *Frontiers Microbiology*, 8, 1050. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01050>
- Monolisha, S., Mani, A. E., Patterson, J., & Edward, J. P. (2013). Molecular characterization and antimicrobial activity of *Octopus aegina* and *Octopus dofusii* in gulf of Mannar coast. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 4, 3582-3587.
- Rivera-Benitez J.F, Rosas-Estrada K, Pulido-Camarillo E, De la Peña Moctezuma A, Castillo-Juárez H, Ramírez-Mendoza, H. (2014). Serological survey of veterinarians to assess the zoonotic potential of three emerging swine diseases in Mexico. *Zoonoses and Public Health*, 61 (2), 131-137. <https://doi.org/10.1111/zph.12055>
- Rögener, W., Renwrantz, L., & Uhlenbruck, G. (1987). Analysis of *Octopus vulgaris* hemolymph containing a glycoprotein with blood group A-like properties. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry*, 86(2), 347-351. [https://doi.org/10.1016/0305-0491\(87\)90304-X](https://doi.org/10.1016/0305-0491(87)90304-X)
- Smith, A. M. (2002). The structure and function of adhesive gels from invertebrates. *Integrative and Comparative Biology*, 42(6), 1164–1171. <https://doi.org/10.1093/icb/42.6.1164>
- Smith, A. M., & Morin, M. C. (2002). Biochemical differences between trail mucus and adhesive mucus from marsh periwinkle snails. *The Biological Bulletin*, 203(3), 338-346. <https://doi.org/10.2307/1543576>
- Sokal, R. & Rohlf, J. 1980. Introducción a la bioestadística. De Reverte S.A., Barcelon.
- Stabili L., Schirosi R., Parisi MG., Piraino S., & Cammarata, M. (2015) The mucus of *Actinia equina* (Anthozoa, Cnidaria): an unexplored resource for potential applicative purposes. *Marine Drugs*, 13(8), 5276–5296. <https://doi.org/10.3390/md13085276>
- Suárez, L., Pereira, A., Hidalgo, W., & Uribe, N. (2021). Antibacterial, Antibiofilm and Anti-Virulence Activity of Biactive Fractions from Mucus Secretion of Giant African Snail *Achatina fulica* against *Staphylococcus aureus* Strains. *Antibiotics*, 10(12), 1548. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10121548>
- Subramanian B., Sangappellai T., Rajak R.C., & Diraviam, B. (2011). Pharmacological and biomedical properties of sea anemones *Paracondactylis indicus*, *Paracondactylis sinensis*, *Heteractis magnifica* and *Stichodactyla haddoni* from East coast of India. *Asian Pacific Journal of Tropical Medecine*, 4(9),722–726. [https://doi.org/10.1016/S1995-7645\(11\)60181-8](https://doi.org/10.1016/S1995-7645(11)60181-8)
- Troll, J. V., Bent, E. H., Pacquette, N., Wier, A. M., Goldman, W. E., Silverman, N., & McFall-Ngai, M. J. (2010). Taming the symbiont for coexistence: a host PGRP neutralizes a bacterial symbiont toxin. *Environmental microbiology*, 12(8), 2190-2203. <https://doi.org/10.1111/>

[j.1462-2920.2009.02121.x](#)

- Valgas C., De-Souza S.M., Smania E.F.A., Smania, Jr.A. (2007). Screening methods to determine antibacterial activity of natural products. *Brazilian Journal of Microbiology*, 38(2), 369–380. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822007000200034>
- Vennila R., Kumar K.R., Kanchana S., Arumugam M., Vijayalakshmi S., Balasubramaniam, T. (2011). Preliminary investigation on antimicrobial and proteolytic property of the epidermal mucus secretion of marine stingrays. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 1(2), S239-S243. [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(11\)60162-7](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(11)60162-7)
- Villanueva, R., Coll-Lladó, M., Bonnaud-Ponticelli, L., Carrasco, S. A., Escolar, O., Fernández-Álvarez, F. Á., Gleadall, I.G., Nabhitabhata, J., Ortiz, N., Rosas, C., Sánchez, P., Voight, J.R., & Swoger, J. (2021). Born With Bristles: New Insights on the Kölliker's Organs of Octopus Skin. *Frontiers in Marine Science*, 8, 645738. <https://doi.org/10.3389/fmars.2021.645738>
- Wei, O. Y., Xavier, R., & Marimuthu, K. (2010). Screening of antibacterial activity of mucus extract of snakehead fish, *Channa striatus* (Bloch). *European review for medical and pharmacological sciences*, 14(10), 675-681. PMID: 20707287.