



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

Facultad de Ciencias Biológicas

Escuela Profesional de Ciencias Biológicas

Caracterización bioquímica y acción biológica del

veneno de la anémona de mar

Phymactis papillosa var. rubra-viridis

TESIS

Para optar el Título Profesional de Biólogo con mención en
Hidrobiología y Pesquería

AUTOR

Antony Francisco CUYA OLIVARES

ASESOR

Enrique ESCOBAR GUZMÁN

Lima, Perú

2017

RESUMEN

Las anémonas de mar son cnidarios sésiles que poseen tentáculos con numerosas células venenosas denominadas cnidocitos. El veneno de estas células posee diversos componentes bioactivos, principalmente de naturaleza peptídica.

El orden actiniaria incluye a 1200 especies de anémonas de mar, de las cuales, cuatro especies se han reportado para el intermareal rocoso de nuestro país: *Anthothoe chilensis*, *Oulactis concinnata*, *Phymactis papillosa* y *Phymantea pluvia* (Paredes et al. 1999). Los venenos de *Anthothoe chilensis* y *Oulactis concinnata* han sido estudiados de manera preliminar (Retuerto et al. 2007, Retuerto et al. 2008), pero no se tiene ninguna información sobre los venenos de las otras dos especies.

En este trabajo se ha estudiado bioquímicamente el veneno de *Phymactis papillosa* var. *rubra-viridis*, una de las 8 variedades de esta especie. Las anémonas fueron colectadas en la bahía de Ancón y luego trasladadas al laboratorio, donde el veneno fue obtenido mediante shock hipotónico, colocando 7 ejemplares en un beaker con 30 ml de agua destilada, durante 60 minutos. Luego, el material fue filtrado en papel Whatman y centrifugado a 12000 rpm por 30 minutos. El sobrenadante fue liofilizado.

El análisis electroforético del veneno soluble de *Phymactis papillosa* var. *rubra-viridis* mostró la presencia de 5 bandas proteicas con pesos moleculares entre 5 y 25.1 kDa.

El veneno soluble fue fraccionado por cromatografía de filtración en una columna de Sephadex G-50, obteniéndose cuatro picos de proteína (I, II, III y IV). Tanto en el veneno soluble como en las fracciones colectadas se midió actividad proteolítica, hialuronidasa, fosfolipasa, fosfatasa ácida y fosfatasa alcalina; así como, actividad hemolítica y neurotóxica. Se encontró actividad proteolítica sobre caseína, en el veneno soluble y en los picos I y III. No se detectó actividad de hialuronidasa, fosfolipasa, fosfatasa ácida y fosfatasa alcalina. La actividad hemolítica, ensayada sobre eritrocitos humanos, se encontró en el veneno soluble y en el pico II. Finalmente, tanto el veneno soluble como el pico III mostraron ser neurotóxicos al ser inyectados intraperitonealmente en ratones albinos. Se concluye que el veneno soluble de *P. papillosa* var. *rubra-viridis* tiene actividad proteolítica, hemolítica y neurotóxica.

Palabras clave: Anémona de mar, veneno, proteasa, hemolisina, neurotoxina.

ABSTRACT

Sea anemones are sessile organism with many tentacles that have poisonous cells named cnidocytes. Its venom has many bioactive compounds, where the peptides are the most abundant.

The order Actiniaria have 1200 species of sea anemones. In the rocky intertidal of our country there are 4 species: *Anthothoe chilensis*, *Oulactis concinnata*, *Phymactis papillosa* and *Phymanthea pluvia* (Paredes et al. 1999). The venoms of *Anthothoe chilensis* and *Oulactis concinnata* were studied preliminarily (Retuerto et al. 2007, Retuerto et al. 2008), but there isn't information about the other venoms.

In this work was studied *Phymactis papillosa*'s venom. The sea anemones were collected in Ancón and then transferred to the laboratory, where the venom was obtained through shock hypotonic, placing 7 sea anemones in a beaker with 30 mL of destillated water for 60 minutes. Later, the material was filtered on Whatman paper and centrifuged at 12,000 rpm for 30 minutes. The supernatant was lyophilized.

The electrophoretic analysis of the soluble venom of *Phymactis papillosa* var. *rubra-viridis* showed the presence of 5 protein bands with molecular weights between 5 and 25.1 kDa.

The soluble venom was fractionated by filtration chromatography on a Sephadex G-50 column, yielding four protein peaks (I, II, III and IV). Both proteolytic activity, hyaluronidase, phospholipase, acid phosphatase and alkaline phosphatase were measured, in both the soluble venom and the collected fractions; as well as hemolytic and neurotoxic activity. Proteolytic activity on casein was found in soluble venom and in peaks I and III. Hyaluronidase, phospholipase, acid phosphatase and alkaline phosphatase activity weren't detected. Hemolytic activity, tested on human erythrocytes, was found in soluble venom and peak II. Finally, both soluble venom and peak III were shown to be neurotoxic when injected intraperitoneally into albino mice. It is concluded that the soluble venom of *P. papillosa* var. *rubra-viridis* has proteolytic, hemolytic and neurotoxic activity.

Keywords: Sea anemone, venom, protease, hemolysin, neurotoxin.