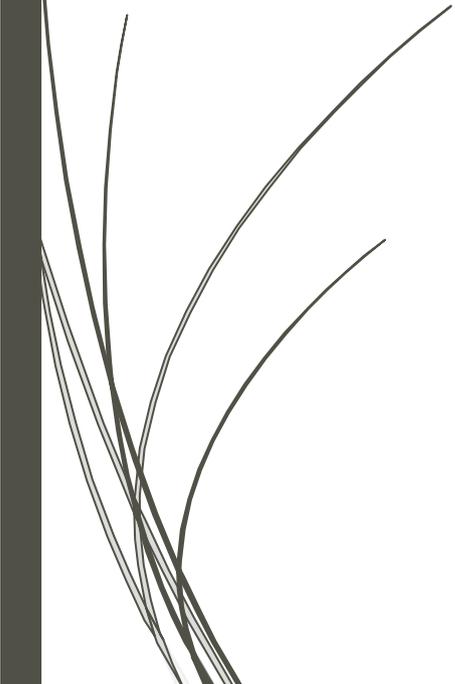


23/11/2022

# Impacto de la altitud en la composición del veneno de *Phoneutria* *boliviensis*



Klinton Ochoa

UNIVERSIDAD REGIONAL AMAZÓNICA  
IKIAM

## Contenido

1.	<b>2</b>	
2.	<b>3</b>	
3.	<b>3</b>	
4.	<b>3</b>	
5.	<b>3</b>	
6.	<b>4</b>	
6.1	General	2
6.2	Específicos	2
7.	<b>4</b>	
8.	<b>5</b>	
9.	<b>5</b>	
10.	<b>5</b>	

---

## **1. Antecedentes (max. 1000 palabras)**

En el mundo existen aproximadamente 1.300.000 especies de artrópodos entre los cuales una gran parte la componen los arácnidos [7]. Las arañas (Araneae) son el orden más diverso de arácnidos, pero debido a su apariencia son comúnmente temidos y poco estudiados. Sin embargo, tienen gran importancia tanto ambiental como médica [8,9]. Hasta la fecha solamente un pequeño grupo de especies han sido estudiadas a profundidad por la incidencia de picaduras con seres humanos y al potencial toxicológico de sus venenos [10].

Las arañas son depredadores altamente eficientes gracias a sus excelentes adaptaciones morfo-fisiológicas que les permite habitar diversos tipos de climas, algunos extremos, como desiertos, páramos y cuevas, lo que demuestra su tolerancia a la variación en factores climáticos y escasez de alimento [4]. Por la parte ambiental los arácnidos son excelentes bioindicadores, ya que su estrecha relación como predadores de poblaciones de insectos hace que desempeñen un papel importante en el funcionamiento de todos los ecosistemas, ocupando una posición clave en las redes alimentarias como depredadores o presas [6]. Sin embargo, varios estudios han demostrado que son sensibles a las perturbaciones y a los cambios en la estructura de la vegetación [1, 2,11]. Gaspar et al. (2010) han sugerido que las arañas son un grupo adecuado para representar la diversidad restante a diferentes escalas espaciales [1].

Una de las claves que permitió la diversificación de los arácnidos, especialmente de las arañas fue la utilización del veneno como medio para matar presas y protección. El veneno en arañas tiene acción neurotóxica y está compuesto por fuertes toxinas que actúan sobre canales iónicos alterando la transmisión nerviosa en diferentes tejidos del ser humano [12]. El funcionamiento del veneno en arañas puede estar relacionados con los factores ambientales (geográficos), como se ha visto en otros organismos que también usan veneno. El estudio realizado por Chunlin Yu, Huahua Yu y Pengcheng Li (2020) demostró una variación en la actividad de un anti veneno en mordeduras de serpientes según la región que habita la especie tratada. La efectividad del anti veneno presentaba diferencias considerables debido a los cambios presentados en la composición toxicológica. En arañas también hay evidencia similar sin embargo en mucha menor cantidad debido a poca importancia que se le da a estos arácnidos a pesar de existir muchas especies con alto potencial farmacológico.

Otro factor importante que también podría influir en el funcionamiento del veneno en arañas es el dimorfismo sexual [14]. El dimorfismo sexual en arañas se observa como una característica ampliamente distribuida y se la puede relacionar con diferencias comportamentales y fisiológicas. Los requerimientos energéticos de machos y hembras son distintos por lo que su veneno debería serlo también. Esto también puede estar relacionado con la dieta de cada sexo, lo que a su vez refleja las condiciones en las que habitan.

---

## 2. Planteamiento del problema a investigar (máx. 350 palabras)

---

El veneno de las arañas del género *Phoneutria* es conocido por su alta toxicidad y su impacto en la salud humana. Sin embargo, su estudio se ha enfocado más en la composición y epidemiología de su picadura y no hay estudios acerca de la variación de composición en función de un gradiente de altitud, estudios anteriores han demostrado que existe diferencia significativa en cantidad y función del veneno producido en relación al sexo dando como resultado que las hembras producen una mayor cantidad, aunque en la composición aún no hay claridad en porque hay variación. La variabilidad intraespecífica del veneno de arañas es un tema poco estudiado que podría ayudar a entender de mejor manera los factores que conducen a aumentar el potencial toxicológico de algunas especies razón por la cual este estudio se centra en dar un acercamiento a comprender el potencial del veneno de especies habitantes en diferentes elevaciones y los factores ecológicos que influyen sobre el mismo. Hay numerosas investigaciones sobre la aplicación en usos médicos el veneno de arañas del género *Phoneutria* dando resultados positivos como alternativa para combatir enfermedades como el cáncer y la disfunción eréctil debido a elementos presentes en el veneno, sin embargo el potencial de la especie *P. boliviensis* aún no ha sido registrado por lo cual este estudio también pretende responder esa interrogante.

---

## 3. Justificación de la investigación (máx. 350 palabras)

---

Las arañas son organismos muy poco estudiados y debido a esto su potencial para el área de la salud aún no ha sido explorado a fondo. Entre las especies más peligrosas del mundo se encuentra el género *Phoneutria* el cual está compuesto de 8 especies sin embargo las especies más estudiadas han sido *P. nigriventer* y *P. reidyi*, para la región amazónica de Ecuador han sido reportadas las especies *P. boliviensis* y *P. fera*, se han reportado un número considerado de accidentes principalmente con la especie *P. boliviensis* dada su presencia en cultivos de plátano y en zonas urbanas. Hasta la fecha no se tienen datos precisos en el país sobre mordeduras de *P. boliviensis*, debido al desconocimiento de la especie y a que no se reporta los accidentes arácnidos en los centros de salud por lo cual el presente estudio pretende aportar información sobre la composición del veneno de *Phoneutria boliviensis* y observar si los distintos sexos o poblaciones observadas presentan variaciones significativas en la toxicidad y relacionarlas con factores ecológicos según la altitud donde habita.

---

### Preguntas de investigación

---

¿Existe variación geográfica e intersexual en el veneno de la araña *Phoneutria boliviensis*?

---

## 4. Hipótesis

---

H0: No existen diferencias entre elevaciones y sexos en el veneno de la araña *Phoneutria boliviensis*

H1: Existen diferencias entre elevaciones y sexos en el veneno de la araña *Phoneutria boliviensis* siendo el veneno más potente a la mayor altitud (1200m), siendo las hembras quienes presenten mayor toxicidad en comparación con los machos.

---

---

## 5. Objetivos de la investigación

### 6.1 General

Establecer si existen diferencias en el veneno entre sexos y poblaciones de la araña *Phoneutria boliviensis* en un gradiente altitudinal.

### 6.2. Específicos

- Analizar toxinas específicas del veneno.
  - Comparar la toxicidad en función del sexo y el lugar de colección.
  - Establecer relaciones entre los resultados y el rango altitudinal de cada población.

---

## 6. Métodos (máx. 1000 palabras)

---

### Recolección

Los puntos de muestreo incluirán tres puntos a lo largo de un gradiente altitudinal en la Amazonía de Ecuador los cuales serán 600m, 900m y 1200m

Los permisos pertinentes para recolección serán proporcionados por el MAATE (Ministerio del ambiente, Agua y Transición ecológica), se seguirá el protocolo planteado por Garb (2014) llamado "Extraction of Venom and Venom Gland Microdissections from Spiders for Proteomic and Transcriptomic Analyses"

Se colectarán 10 especímenes por sitio, 5 machos y 5 hembras. Se anestésarán a las arañas antes de la extracción del veneno, siguiendo el proceso propuesto por Estrada et al., Una vez anestésadas, las arañas se inmovilizarán manualmente. A cada quelícero se le aplicará electroestimulación con estímulos eléctricos de 35 V

aplicado dos veces en intervalos de 5s utilizando un electro estimulador (modelo aún no definido). Los procesos de ordeño se realizarán cada 3 semanas. El veneno de cada individuo se recogerá en capilares. Posteriormente, el veneno será transferido a un vial de 0,5 ml. Después de esto, el veneno se debe liofilizar y se almacenar a  $-20^{\circ}\text{C}$  hasta su uso.

Para análisis de péptidos la técnica más usada es RP-HPLC (cromatografía líquida de alta eficiencia en fase reversa). Haciendo uso de un equipo HPLC marca Waters, primero se hará la preparación de la muestra agregando 1 mg de veneno crudo en 200 uL de solución A (0,1 % TFA en agua), usando una columna C18 como fase estacionaria y una fase móvil compuesta por metanol: acetonitrilo: agua en proporción 30:10:60. Se agregarán las muestras al equipo de HPLC en gradientes a distintas concentración y tiempos. Se obtendrán fragmentos recuperables que fueron separados por peso e hidrofobicidad para posteriormente pasarlos a un espectrómetro de masa (MS/MS en tándem)

---

## **7. Cronograma de actividades (basado en el marco lógico)**

---

## **8. Presupuesto referencial**

## **9. Referencias bibliográficas (Formato PLOS One).**

---

<https://paperpile.com/s/plos-one-citation-style/>

[1] Barriga JC, Lassaletta L, Moreno AG. 2010. Ground-living spider assemblages from Mediterranean habitats under different management conditions. *Journal of Arachnology*, 38: 258–269

[2] Dielh E, Mader VL, Wolters V, Birkhofer K. 2013. Management intensity and vegetation complexity affect web-building spiders and their prey. *Oecologia*, 173: 579- 589.

[3] Gaspar C, Gaston KJ y Borges PAV. 2010. Arthropods as surrogates of diversity at different scales. *Biological Conservation*, 143: 1287-1294.

- [4] Lyons A, Ashton PA, Powell I y Oxbrough A. 2017. Habitat associations of epigeal spiders in upland calcareous grassland landscapes: the importance for conservation. *Biodiversity and Conservation*, 1-19.
- [5] Marc P, Canard A y Ysnel F. 1999. Spiders (Araneae) useful for pest limitation and bioindication. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 74: 229-273.
- [6] Uetz GW. 1991. Habitat structure and spider foraging. *Habitat structure*. Springer, New York, pp 325–348.
- [7] IUCN Red List Table 1: Numbers of threatened species by major groups of organisms (1996–2014)
- [8] Moyano R. D. 2008. Aracnoidismo. Arañas y escorpiones de importancia médica en Argentina. 1ª ed. Buenos Aires. Literature of Latin America. Edición: 1a. ed. 86 pp.
- [9] Suárez Benítez, C. E. 2019. Aspectos metabólicos del comportamiento depredador de hembras y machos de la araña *Phoneutria boliviensis* (Bachelor's thesis, Universidad de Ibagué).
- [10] Levi, H.W. 1957a. The spider genera *Crustulina* and *Steatoda* in North America, Central America and the West Indies (Araneae:Theridiidae). *Bulletin of the Museum of Comparative Zoology* 117:367-424
- [11] Branco, V. V., & Cardoso, P. 2020. An expert-based assessment of global threats and conservation measures for spiders. *Global Ecology and Conservation*, 24, e01290.
- [12] Cortés Barrios, J. N. 2019. Aspectos toxicológicos y toxinológicos de hembras y machos de la araña *Phoneutria boliviensis* (FO Pickard-Cambridge, 1897) (Bachelor's thesis, Universidad de Ibagué.).
- [13] Chunlin Yu, Huahua Yu, Pengcheng Li (2020) Highlights of animal venom research on the geographical variations of toxin components, toxicities and envenomation therapy, *International Journal of Biological Macromolecules*, Volume 165, Part B, Pages 2994-3006, ISSN 0141-8130, <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.10.190>.
- [14] Volker Herzig, Richard John Ward, Wagner Ferreira dos Santos, Intersexual variations in the venom of the Brazilian ‘armed’ spider *Phoneutria nigriventer* (Keyserling, 1891), *Toxicon*, Volume 40, Issue 10, 2002, Pages 1399-1406, ISSN 0041-0101, [https://doi.org/10.1016/S0041-0101\(02\)00136-8](https://doi.org/10.1016/S0041-0101(02)00136-8).