

PATRÓN ELECTROFORÉTICO DE PROTEÍNAS DEL VENENO DE ESCORPIÓN

Hadruidoies charcasus

ELECTROPHORETIC PATTERN OF
SCORPION VENOM PROTEINS
Hadruidoies charcasus

*Orlando Pérez Delgado*¹

Fecha de recepción: 18 marzo 2013

Fecha de aceptación: 28 junio 2013

Resumen

Se realizó el presente trabajo de investigación, con el objetivo de determinar el patrón electroforético de las proteínas totales del veneno de la especie *Hadruidoies charcasus* perteneciente al distrito de Chongoyape, provincia de Chiclayo.

Se recolectaron 21 especímenes, a los que se reconoció el sexo e identificó la especie. Se les extrajo el veneno y se analizó mediante la técnica de electroforesis en gel de poliacrilamida en dodecil sulfato de sodio (PAGE – SDS)

[1] Adscripto en la Facultad de Ciencias de la Salud, licenciado de la Universidad Señor de Sipán, Chiclayo, Perú, operezd@gmail.com

el patrón de bandas y usando como marcadores de pesos moleculares los estándares: (anhidrasa carbónica, ovoalbúmina y albúmina bovina) y el peso molecular de cada banda.

Se determinó la presencia de al menos 7 bandas proteicas con pesos moleculares de 5.2 KDa a 85.6 KDa.

Se concluye que en la especie *Hadruroides charcasus* existe diferente patrón electroforético en ambos sexos y la presencia de un polimorfismo proteico significativo en la población.

Palabras claves: Polimorfismo, veneno de escorpión, electroforesis, proteínas.

Abstract

This research work was realized, with objective of determining the electrophoretic pattern venom from the specie *Hadruroides charcasus* belonging to the district Chongoyape, province of Chiclayo.

21 specimens were collected, which are reconognized sex and indentified the specie. It was also analized using the thechnique of polyacrylamide gel electrophoresis in sodium dodecyl sulfate (SDS – PAGE), the pattern of bands and using as molecular markers: Carbonics anhydrase, ovalbumin and bovine albumin).

It was determined the presence of at least 7 protein bands with molecular weights from 5.2 Kda to 85.6 Kda.

It is concluded that the specie *Hadruroides charcasus* presented different electrophoretic pattern in both sexes and the presence of a significant protein polymorphism in the population.

Keywords: Polymorphism, scorpion venom, electrophoresis, proteins.

1. Introducción

Los escorpiones son arácnidos también denominados “alacranes” en Hispanoamérica cuyo veneno es capaz de ocasionar la muerte del humano picado descrito por Zavaleta (1983). Los escorpiones son más comunes en las regiones tropicales y subtropicales, algunos también aparecen en zonas templa-

das. Generalmente son animales huidizos, se ocultan durante el día en galerías o bajo objetos, y por la noche se alimentan de insectos y arañas que sujetan con los pedipalpos y desgarran con sus quelíceros según Hickman *et al*, (2002).

En el Perú existen representantes de seis familias de escorpiones: Bothriuridae, Buthidae, Euscorpiidae, Ischnurida y Caraboctonidae comunicación personal Ochoa (2006) .

El veneno de los escorpiones descrito por Zavaleta (1983), es elaborado por dos glándulas apocrinas yuxtapuestas, ubicadas en el último segmento del post-abdomen denominado Telsón, que termina en una espina curva a través de la cual discurre un canal único que comunica las glándulas venenosas con el exterior. El veneno es un fluido viscoso elaborado por células epiteliales y mucosas de la pared de la glándula venenosas, cuyo color varía según la especie: transparente, blanco lechoso y amarillo.

La acción del veneno es neurotóxica, produciendo una parálisis local y además insalivación, hipo, fatiga y decaimiento probablemente causado por el dolor. La duración de estos efectos está relacionada directamente con la cantidad de veneno inoculada e inversamente con el peso del animal que la recibe (Cáceres, Aguilar, Meneses 1972).

Los estudios realizados sobre veneno de escorpión en nuestro departamento son escasos, pero por primera vez se trata de un estudio polimórfico de los componentes proteicos del veneno de escorpiones de la misma especie. A pesar de ser un grupo tan pequeño el de los escorpiones, tienen importancia médica y biológica, en este trabajo de investigación realizado abordamos al estudio polimórfico de las proteínas del veneno tanto en machos y hembras, como también la identificación de la especie que se encuentra presente en el Cerro Racarrumi perteneciente al Distrito de Chongoyape.

2. Materiales y Métodos

Material Biológico:

Lo constituyeron los escorpiones de la misma especie la cantidad de 21 especímenes fueron recolectados en el Cerro Racarrumi perteneciente al distrito de Chongoyape, Provincia de Chiclayo - Departamento de Lambayeque.

Captura de especímenes:

Los especímenes fueron recolectados en el Cerro Racarrumi del Distrito de Chongoyape que pertenece a la provincia de Chiclayo, Dpto. de Lambayeque ubicado en la latitud 6° 38' 27.27" y longitud 79° 22' 58.79".

En la captura de los especímenes se utilizó un frasco de vidrio y pinzas de Bücherl, el cuál sirvió para coger del post abdomen (cola) y luego colocarlo en el frasco de vidrio después taponarlo, el cual se llevó al laboratorio, para ser descritos e identificada la especie.

Identificación de la especie y reconocimiento del sexo:

Con la ayuda de la clave para géneros de escorpiones peruanos (Francke, 1977) y el aporte que brindó el especialista Dr. José Ochoa, se identifica de la especie y el sexo.

Obtención del veneno:

El veneno se obtuvo por estimulación eléctrica a 22 voltios (Zavaleta, 1983) y fue recolectado en tubos eppendorf (1.5ml.), luego se agregó 10 µL beta mercaptoetanol (βME) y se conservó a -20 ° C.

Electroforesis en gel de poliacrilamida con dodecil sulfato de sodio (PAGE – SDS):

Con la finalidad de evaluar la pureza y el peso molecular de las proteínas, se empleó PAGE – SDS de acuerdo al manual de prácticas de Chimoyet *al* (1989). Para la preparación del gel de resolución se mezcló 4.4 ml. de agua destilada 4.2 ml. de solución stock de acrilamida (30 % de acrilamida y 0.8 % de bisacrilamida), 0.1 ml. de SDS, 1.25 ml. de Tris – HCl 3M pH 8.9, 10 µL de TEMED y 100 µL de PERSA 10%. Inmediatamente se mezcló y vertió a la cámara de electroforesis, cubriéndose con una delgada capa de SDS 0.1 % hasta conseguir su gelificación. Luego formado el gel, se retiró el SDS 0.1% con ayuda de papel absorbente y se agregó el gel de stacking, el cual se preparó con 0.025 ml. de solución stock de acrilamida, 3.55 ml. de agua destilada, 0.05 ml. de SDS 10 %, 0.63 ml. de Tris – HCL 1 M pH 6.8, 7.5 µL de TEMED, 75 µL de PERSA al 10 %.

El veneno crudo 10 µL y una mezcla de proteínas estándares fueron tratadas con 10 µL de buffer de muestra y fueron hervidas (baño hirviendo) a 100 ° C por 5 minutos, antes de aplicar al gel. La corrida electroforética se realizó a voltaje constante, (68 voltios) durante 90 minutos. Concluida la corrida el gel

de stacking fue eliminado y el gel de resolución se tiñó con azul brillante de coomassie 0.1 % por 5 minutos. Luego se procedió a la decoloración en una solución decolorante (metanol, ácido acético y agua) hasta visualizar las bandas de proteína. Finalmente fue escaneado para su registro respectivo.

3. Resultados

Identificación de la especie y Reconocimiento de sexo:

En la costa peruana existen varias especies de escorpiones tales como *Hadruidoidea lunatus*, *Hadruidoidea charcasus* y *Brachistosternus ehrenbergii*. Pero la especie que se identificó fue *Hadruidoidea charcasus* por la presencia de granulos en la cara interna de la pinza del pedipalpo (Figura 1), la pinza es mucho más robusta en *H. charcasus*, además es una especie de mayor tamaño.

Foto: Orlando Pérez



Figura N° 1 La flecha indica un pedipalpo robusto propia de la especie *Hadruidoidea charcasus*.

El reconocimiento del sexo de la especie *Hadruidoidea charcasus* se centró en los caracteres sexuales secundarios en el caso de los *Hadruidoidea* los machos presentan una lobulación en el dedo fijo bien evidente. En el caso de *Hadruidoidea charcasus* no es tan marcada pero de todas maneras es más evidente que en la hembra. Otra forma de cómo se reconoció el sexo es por el

numero de dientes pectíneos (Figura 2 y 3) en hembras de *H. charcasus* varia de 15 a 19 dientes y machos 19 a 22. Además que los machos tienen los dientes del peine más alargados y juntos, en las hembras es más separado.

Foto: Orlando Pérez



Figura N° 2 Cara ventral del escorpión *Hadruides charcasus* y ubicación de los peines mostrados por las flechas.

Foto: Orlando Pérez



Figura N° 3 Peines del escorpión *Hadruides charcasus* mostradas en ampliación.

Determinación del Peso Molecular de las proteínas en la electroforesis en gel de poliacrilamida con dodecil sulfato de sodio (PAGE – SDS):

La evaluación por PAGE – SDS, de las proteínas del veneno crudo de *Hadruides charcasus*, se obtuvieron diferentes patrones de proteínas para cada espécimen, pero se determinó los pesos moleculares de las proteínas presentes en la corrida electroforética basado en distancia de recorrida (m.m) de las proteínas estándares.

Distancias recorridas de las proteínas estándares del veneno (Grupos N° 1)

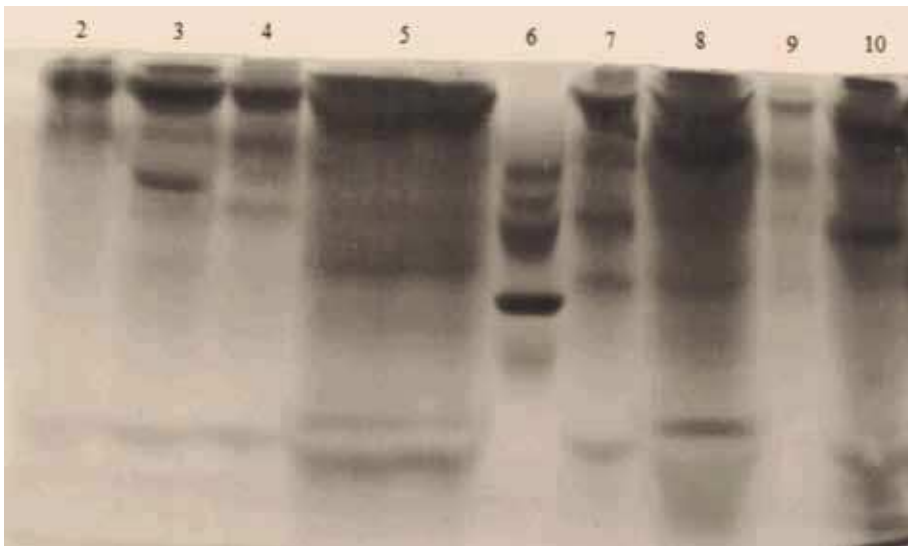


Fig. N° 4 Electroforesis en gel de poliacrilamida con SDS (PAGE – SDS) de las proteínas del veneno del escorpión *Hadruides charcasus*. En el carril (5) están las proteínas estándares: albúmina (66 KDa), ovoalbúmina (45 KDa) y Anhidrasa Carbónica (29 KDa), los demás carriles corresponden al veneno crudo.

Fuente: fotografía del autor.

Tabla 1:
Distancias de recorrido (m.m) de las proteínas estándares y proteínas del veneno del escorpión Hadruoides charcasus.

Proteína	PM (KDa)	Distancia (m.m)	Log PM
Albúmina bovina	66	5	1,81954394
Ovoalbúmina	45	18	1,65321251
A. Carbónica	29	34	1,462398

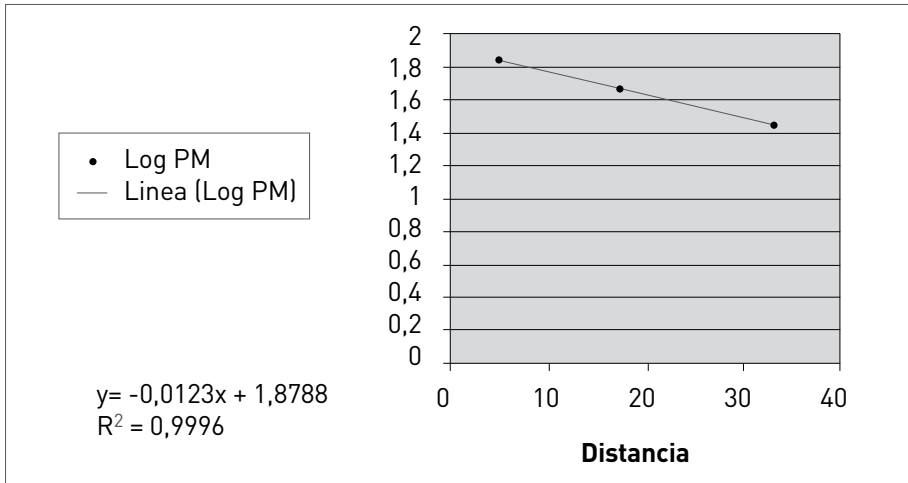
E - 2	E - 3	E - 4	P	E - 6	E - 7	E - 8	E - 9	E - 10
1	1	0.5	5	4.5	0.9	1.1	1.5	0.5
2	3	1	18	9	3	4	2.5	5
6	7	3	34	14	5	7	13	13.5
31	11	7		20	8	13	19	32.5
	13	10		24	13	18		37.5
	18	13			18	30		
	32	31.8			32			

Fuente: elaboración del autor.

Cálculo del peso molecular:

Se obtuvo el logaritmo decimal de cada peso molecular de las proteínas estándares.

Se realizó un gráfico de dispersión entre el logaritmo decimal de los pesos moleculares de las proteínas estándares y las distancias recorridas (Frei-felder, 1981). El cual se obtuvo una fórmula para la obtención de los logaritmos de los pesos moleculares de las proteínas presentes en el veneno del escorpión.



Gráfica N° 1 Distancia de recorrido de las proteínas estándares en la electroforesis de PAGE – SDS (Grupo 1)

Fuente: elaboración propia.

$$y = -0.0123x + 1.8788$$

Empleando la fórmula se obtuvo los logaritmos decimales de los pesos moleculares y luego se realizó otra operación matemática, se sacó el antilogaritmo para calcular los pesos moleculares de las proteínas desconocidas del veneno del escorpión.

Tabla 2:

Pesos Moleculares (KDa) de las proteínas estándares y proteínas del veneno del escorpión *Hadruoides charcasus*. (Grupo N° 1)

E - 2 KDa	E - 3 KDa	E - 4 KDa	P KDa	E - 6 KDa	E - 7 KDa	E - 8 KDa	E - 9 KDa	E - 10 KDa
73.5	73.5	74.6	66	66.6	73.7	73.3	72.5	74.6
71.4	69.5	73.5	45	58.6	69.5	67.5	70.5	66
63.8	62	69.5	29	50.9	66	62	52.3	51.6
30.6	55.3	62		42.9	60.3	52.3	44.2	30.1
	52.3	56.9		38.3	52.3	45.4		26.2
	45.4	52.3			45.4	32.3		
	30.6	31.8			30.6			

Fuente: elaboración propia.

Distancias recorridas de las proteínas estándares y del veneno (Grupos N° 2)

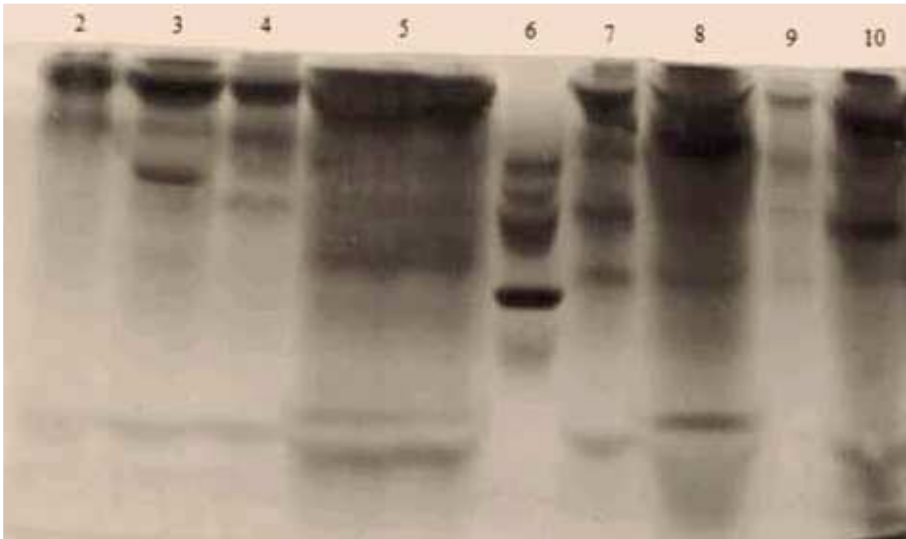


Fig. N° 5 Electroforesis en gel de poliacrilamida con SDS (PAGE - SDS) de las proteínas del veneno del escorpión *Hadruroides charcasus*. En el carril (6) están las proteínas estándares: albúmina (66 KDa), ovoalbúmina (45 KDa) y Anidrasa Carbónica (29 KDa), los demás carriles corresponden al veneno crudo.

Fuente: elaboración propia.

Tabla 3:

Distancias de recorrido (m.m) de las proteínas estándares y proteínas del veneno del escorpión *Hadruroides charcasus*. (Grupos N° 2)

E - 2	E - 3	E - 4	E - 5	P	E - 6	E - 7	E - 8	E - 9	E - 10
50	5	29	46	11	29	24	53	53	16
	6.5	46	49	14	46	53			24
	12	49	52	24	48				28
	26	52			51				45
									46
									49

Cálculo del peso molecular:

Se obtuvo el logaritmo decimal de cada peso molecular de las proteínas estándares.

Proteína	PM (KDa)	Distancia (m.m)	Log PM
Albúmina bovina	66	11	1,81954394
Ovoalbúmina	45	14	1,65321251
A. Carbónica	29	24	1,462398

Fuente: elaboración propia.

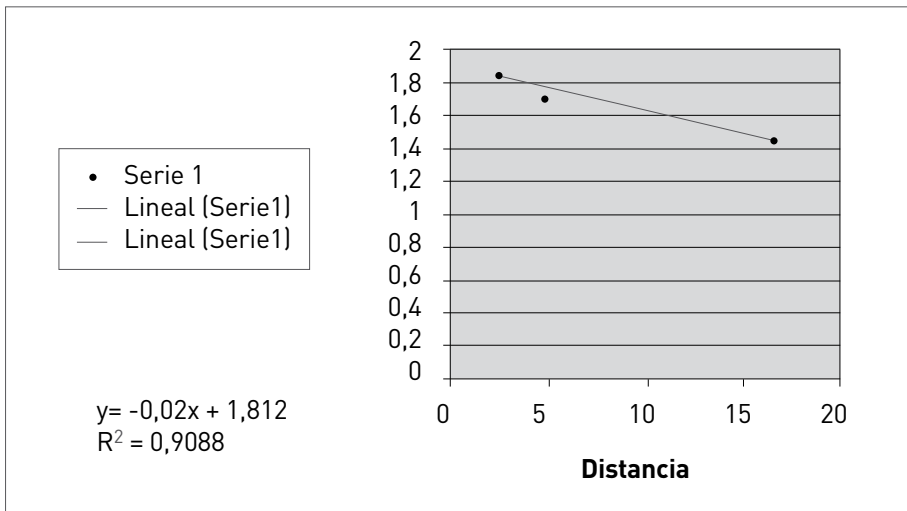


Gráfico N° 2 Distancia de recorrido de las proteínas estándares en la electroforesis de PAGE - SDS (Grupo 2).

Fuente: elaboración propia.

$$y = -0.02x + 1.812$$

Empleando la fórmula se obtuvo los logaritmos decimales de los pesos moleculares y luego se realizó otra operación matemática, se sacó el antilogaritmo para calcular los pesos moleculares de las proteínas desconocidas del veneno del escorpión.

Tabla 4:
Pesos Moleculares (KDa) de las proteínas estándares y proteínas del veneno del escorpión Hadruoides charcasus. (Grupo N° 2)

E - 2 KDa	E - 3 KDa	E - 4 KDa	E - 5 KDa	P KDa	E - 6 KDa	E - 7 KDa	E - 8 KDa	E - 9 KDa	E - 10 KDa
6.2	85.6	21	7.8	66	21	28.2	5.2	5.2	45
	78.4	7.8	6.5	45	7.8	5.2			28.2
	56.8	6.5	5.5	29	6.9				22.3
	25.1	5.5			5.8				8.2
									7.8
									6.5

Fuente: elaboración propia.

4. Discusión

En nuestro medio no existen trabajos similares y no hay bibliografía pertinente, por el mismo hecho no se han reportado trabajos de investigación sobre venenos de escorpiones en la Universidad.

Del estudio efectuado sobre el veneno del escorpión *Hadruoides charcasus*, se observan características importantes, como el aspecto del veneno: un fluido viscoso de color blanco lechoso, este hallazgo coincidió con lo observado en el veneno del escorpión de la especie *Brachistosternus ehrenbergii* (Calderón y Aguilar, 1987), Sin embargo el aspecto del veneno del escorpión puede variar dependiendo de la especie, cuyo color puede ser de transparente, blanco lechoso y amarillo (Zavaleta, 1983).

El estudio electroforético realizado en el veneno del escorpión *Hadruoides charcasus* mostró al menos 7 bandas proteicas en un rango de 5 KDa a 93 KDa, esto permite ser propia de la especie y característica que coincidiendo con el trabajo sobre el veneno del escorpión de Lambayeque que mostró la misma cantidad de bandas proteicas, pero sin la confirmación exacta de la especie (Arboleda *et al* 1973), cabe mencionar también que el número de bandas proteicas puede variar dependiendo de la especie, como se muestra en el veneno del escorpión *Brachistosternus ehrenbergii*, al menos 11 bandas proteicas (Escobar *et al* 2002), mientras que en el escorpión rojo *Mesobuthus tamulus* la presencia de 10 bandas proteicas (Badheet *al* 2006).

En el análisis por PAGE – SDS se mostró bandas proteicas de bajo peso molecular entre 5 KDa a 16 KDa, esto puede asociarse con las toxinas del veneno escorpiónico reportadas por otros autores correspondientes a neurotoxinas, en estos trabajos realizados por otros autores sobre la toxicidad del veneno, por ejemplo el efecto del veneno del escorpión *Hadruidoles lunatus* sobre ratones, en el cual se apreció tener acción neurotóxica porque manifestó con parálisis del miembro donde fue inoculado (Cáceres *et al*, 1972), asimismo mismo realizaron una purificación parcial de la toxinas del veneno del escorpión *Hadruidoles lunatus*, determinaron que eran de bajo peso molecular y específicas para insectos, crustáceos y mamíferos (Escobar *et al*, 2002). Además que las toxinas aisladas de otros venenos de escorpiones con acción en insectos, crustáceos y roedores han mostrado ser proteínas que bloquean principalmente canales iónicos de sodio y potasio (Lebrunet *al* 1997).

En cuanto a la estructura de las neurotoxinas, son polipéptidos básicos conformados por 64 a 78 aminoácidos y de bajo de peso molecular y se encuentran constituidas por 4 o 5 puentes de disulfuro por molécula de toxina (Zavaleta, 1983).

En el análisis de PAGE – SDS también se mostró bandas proteicas con pesos moleculares de 16 KDa a 93 KDa, sin embargo por no haber reportes de proteínas con los pesos moleculares anteriormente mencionadas, es de suma importancia realizar un estudio Bioquímico y Farmacológico de estas. Por otro lado en el veneno del escorpión rojo *Mesobuthus tamulus* reportaron la existencia de 10 bandas proteicas con un rango de 26 KDa a 170 KDa, sin embargo fueron reportadas por tener probable acción farmacológica como neurotransmisores. Fosfolipasa A2, Hemorrágicas y Hialuronidasa (Badheet *al* 2006), por lo tanto se podría asumir que tenga similar acción.

En este estudio del veneno del escorpión *Hadruidoles charcasus*, mediante la técnica de electroforesis, se determinó un polimorfismo en base a las proteínas totales del veneno del escorpión entre machos y hembras. Esto permitió inferir que los venenos de los escorpiones, varían en componentes proteicos, así sea de la misma especie. Asimismo, los estudios polimorfismos genéticos a nivel de polipéptidos son cifrados en genes estructurales. La técnica de electroforesis en gel sin duda permite el estudio de loci que no están segregando, porque la presencia de un polipéptido es prueba de la existencia de un gen, es decir de una secuencia de ADN que determine una proteína. (Griffiths *et al*, 2000).

Este hallazgo de polimorfismo de venenos de escorpión ha permitido conocer la variabilidad de sus componentes, tanto entre machos como en hembras. Por lo tanto se podría preguntar a los trabajos reportados por otros

autores (Escobar *et al*, 2002; Velásquez, 2003; Ramos y Escobar, 2007), el aislamiento de las toxinas del veneno escorpiónico, si correspondía a machos o hembras.

El análisis proteómico (electroforesis bidimensional) del veneno de escorpión es importante, ya que permitiría conocer exactamente la cantidad de proteínas presentes en el veneno, ya que la electroforesis unidimensional y la coloración con coomassie blue, solo permite resolver un número relativamente limitado de proteínas (Alberts *et al*, 2002), no obstante se ha podido detectar el polimorfismo.

Sin embargo, hay nuevas técnicas de análisis en genómica y proteómica, como el análisis transcriptómico de la glándula del veneno, que han enriquecido genes que codifican el contenido del veneno del escorpión *Hadruroides gertschi* (Schwartz *et al*, 2007)

5. Conclusiones

1. No existe un único patrón electroforético del veneno del escorpión *Hadruroides charcasus* en ambos sexos.
2. Existe polimorfismo proteico en el veneno del escorpión *Hadruroides charcasus* entre machos y hembras
3. Los caracteres sexuales secundarios: peines del escorpión *Hadruroides charcasus*, son importantes para reconocer el sexo del espécimen.
4. La especie de escorpión que esta presente en Distrito de Chongoyape, es *Hadruroides charcasus*, perteneciente a la familia Caraboctonidae.

6. Agradecimientos

Al Dr. Pedro Jorge Chimoy Effio, por su apoyo con el Laboratorio de Bioquímica – UNPRG y al desarrollo de la investigación.

Al Dr. José A. Ochoa Cámara. Investigador Asociado. Responsable de la Colección de Arachnida. Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional San Antonio de Abad del Cuzco-Perú, por la identificación del escorpión *Hadruroides charcasus*.

7. Referencias Bibliográficas

- Alberts, B. et al.(2002). *Biología Molecular de la Célula* (primera edición). Barcelona: Ediciones Omega.
- Alvitres, V. (1997). *Método Científico. Planificación de la investigación* (primera edición). Chiclayo: Editorial Ciencia.
- Arboleda, E.; Meneses, O. y Aguilar, P. (1973). *Escorpiones y escorpionismo en el Perú. III, el veneno del "escorpión de Lambayeque"*, Revista Peruana de Entomología 16 (1): 78-82.
- Badhe, V. et al. (2006). *Intraspecific Variation in Protein Pattern of Red Scorpion (Mesobuthustamulus, Coconsis, Pocock) Venoms from Western and Southern India*. J. Venom. Anim. Toxins incl. Trop. Dis. (12) 4 612-619.
- Barnes, R. y Ruppert, E. (1995). *Zoología de los Invertebrados* (6ta ed.). Buenos Aires Editores: Mc Graw-Hill interamericana.
- Barona, J. et al.(2001). *Aspectos toxicológicos e inmunológicos del veneno del escorpión Tityuspachyurus Grupo de Ofidismo / Escorpionismo*, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia. IATREIA 14(4) 278.
- Becerril, B. et al. (1996). *Toxic and genes encoding toxin gamma of the brazilian scorpions Tityusbahiensis and Tityusstigmurus* Biochem. J. 313:753 – 760.
- Cáceres, I.; Aguilar, P. y Meneses, O. (1972). *Escorpiones y escorpionismo en el Perú II Efectos del veneno del escorpión de los pedregales en la costa central*, Revista Peruana de Entomología 15(1): 38-43.
- Cáceres I. (1965). *Acción del veneno del escorpión Hadruroides lunatus en animales de laboratorio*, Tesis (Bach.) FCCBB, Universidad Nacional Mayor de San Marcos Lima-Perú 34.
- Calderón S. y Aguilar P. (1988). *Escorpiones y escorpionismo en el Perú X, efecto del veneno de Brachistosternusehrenbergi sobre ratones albinos*, Revista Peruana de Entomología 30(1): 91-93
- Chimoy, P.; López, C., y Monteghirfo, M. (1989). *Manual de prácticas de Bioquímica y Biología Molecular*, Facultad de Ciencias Biológicas Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo. Lambayeque.

- Corzo, G. et al. (2001) *Characterization of unique amphipathic antimicrobial peptides from venom of the scorpion Pandinus imperator Biochemical Society Great Britain*. 359, 35 – 45.
- Escobar, E.; Rivera, C., Tincopa, L. y Rivera, R. (2002). *Purificación Parcial de las Toxinas Hl 1, Hl 2 y Hl 3 del veneno del escorpión Hadruroides lunatus*, Revista Peruana de Biología 9 (1): 3 – 10.
- Escobar, E. ; Rivera, C. y Velásquez, L. (2003). *Separación e Identificación de algunas toxinas del veneno Centruroides margaritatus*, Revista Peruana de Biología 10 (2): 217 – 220.
- Florez, E. (2001). *Escorpiones de la familia Buthidae (Chelicerata: Scorpiones) de Colombia*, Biota Colombiana 2(1): 25 – 30.
- Francke, O. (1977). *Escorpiones y escorpionismo en el Perú VI, Lista de especies y claves para identificar las familias y los géneros*, Revista Peruana de Entomología 20(1): 73-76.
- Freifelder, D. (1981). *Técnicas de bioquímica y biología molecular* (primera edición). Barcelona: Editorial Reverté S.A.
- Gantenbein, B., Fet, V. and Gromov, A. (2006). *The First DNS Phylogeny of For-Species of Mesobuthus (Scorpions, buthidae) from Eurasia*, The Journal of Arachnology 31: 412 – 420.
- García, H. (2000). *Electroforesis en geles de poliacrilamida: fundamentos, actualidad e importancia* Laboratorios Beterá UnivDiag; 1(2):31-41
- Good, W. y Hatt, P. (1986). *Métodos de la Investigación Social* (14ª ed.). Mexico: Editorial Trillas S. A.
- Griffiths, A. ; Gelbart, W. ; Miller, J. y Lewontin, R. (2000). *Genética Moderna* (primera edición). España: Ediciones McGraw-Hill Interamericana.
- Hickman, C., Roberts, L. y Larson, A. (2002). *Principios Integrales de Zoología* (11ª ed.). España: Editorial Mc Graw Hill Interamericana.
- Jouirou, B. et al. (2004). *Cobatoxin 1 from Centruroides noxius scorpion venom: chemical synthesis, three-dimensional structure in solution, pharmacology and docking on K⁺ Channels* Biochemical Society Great Britain 377, 37-49.

- Lebrun, B. et al. (1997). *A four-disulphide-bridged toxin, with high affinity towards voltage-gated K⁺ channels, isolated from Heterometruspinnifer (Scorpionidae)*. *Venom Biochemical Society Great Britain*. 328, 321-327
- Marshall, J. and Willians, W. (1985). *Zoología Invertebrados*(7^a ed.). España: Editorial Reverté S. A.
- Ramos, C. y Escobar, E. (2007). *Aislamiento y algunas propiedades de la toxina Be1 del veneno de Brachistosternusehrenbergii Avances de las ciencias biológicas en el Perú*. Facultad de Ciencias Biológicas UNMSM Rev. Peru. Biol. Número especial 13(3): 243 – 247.
- Schwartz, E. ; García, E. ; Rodríguez, R. and Possani, L. (2007). Transcriptome analysis of the venom gland of the Mexican scorpion *Hadrurusgertschi* (Arachnida: Scorpiones) *BMC Genomics*, 8:119.
- Suarez, L. (2003). *El terror de los alacranes*. Recuperado de: www.venenone-mia.org/publicaciones.html.
- Velásquez, L. (2003). *Aislamiento y Caracterización parcial de una miotoxina (HM3) del veneno del escorpión Hadruoidesmauryi Francke y Soledad FC-CBB*, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú.
- Zavaleta, A. (1983). *El veneno del escorpión: Bioquímica y Farmacología*, Boletín de Lima N° 30: 75-88.