

## VARIACIONES EN EL CONTENIDO DE RIBOFLAFINA Y L-OFI-AMINOACIDO-OXIDASA EN VENENOS DE CROTALIDAE DE LA ARGENTINA

Por AVELINO BARRIO (h.)

Sabido es que las ponzoñas de ofidios presentan aún dentro de una misma especie, variaciones en su aspecto, constitución química, toxicidad, acción farmacodinámica y por ende en la sintomatología del envenenamiento por ellas provocado. Estas variaciones pueden ser individuales (según el estado fisiológico, la temperatura exterior, el ayuno, la cautividad, las extracciones repetidas, etc.) estacionales, (en los países con estaciones de separación franca, la toxicidad es mayor durante los meses de verano), pero indudablemente las más interesantes desde el punto de vista bioquímico y filogenético son las variaciones zoogeográficas, vale decir las que resultan de la comparación de los venenos de una misma especie procedentes de distintas zonas.

Estos caracteres biológicos constituyen datos de apreciable valor sistemático, sobre todo en aquellas especies en las que, en sus representantes no se observan diferencias anatómicas y morfológicas lo suficientemente notables y constantes como para justificar la creación de una nueva subespecie o raza geográfica. Estos cambios en las propiedades de los venenos de una región a otra, obedecen a causas profundas, no bien conocidas, parecen ser ajenos a la influencia de la temperatura, clima y otros factores ecológicos.

Muchos son los investigadores a quienes llamé poderosamente la atención estas modificaciones, especialmente las relativas a la coloración. En Europa, Bocquet P. y colaboradores (7, 9) y Phisalix M. (18), han señalado que el veneno de *Vipera berus*, que comunmente es de color amarillo, pierde esta pigmentación en ejemplares procedentes del departamnto de Gers, al sur de Francia, y agregan que este último es menos coagulante pero más neurotóxico que el veneno amarillo de la *Vipera berus* del resto del continente; plantean el in-

---

\* Este trabajo fué realizado parcialmente en el Instituto de Fisiología de la Facultad de Ciencias Médicas de Buenos Aires y presentado en la reunión de comunicaciones del Instituto Bacteriológico Malbrán el 15 de setiembre de 1949.

terrogante de si el veneno blanco es una adquisición temporaria o un carácter definitivamente hereditario, debido a una mutación en el seno de la especie.

Variaciones similares comprobaron otros autores, Reuss (20, 21, 22), Oito (16, 17) y Schwarz (24), en la víbora balcánica *Vipera berus bosniensis*.

En América varios autores se han ocupado de este tema, Amaral A. (1, 2, 3), en una serie de consideraciones respecto de la posible evolución del veneno dentro del género *Crotalus* atribuye a una sustancia lipóidica, la acción proteolítica y destructiva local, así como la coloración amarillenta de estas ponzoñas. Señala que este veneno evoluciona de Norte a Sur desde el Sur de los Estados Unidos donde es amarillo, intensamente proteolítico y poco neurotóxico, hasta el Sur de Brasil donde es blanco, muy neurotóxico y sin acción proteolítica; Amaral atribuye ésto a la pérdida de dicho factor lipóidico (\*).

C. Picado T. (19) en sus investigaciones con venenos de *Crotalus terrificus* originarios de Costa Rica, destaca las profundas diferencias que ha encontrado comparándolos con los venenos de Brasil en lo que respecta a su toxicidad y propiedades bioquímicas.

Vellard J. (25, 26, 27, 28), señala las variaciones geográficas observadas en los venenos de *Bothrops neuwiedii*, *B. atrox* y *Crotalus terrificus*. Establece cuatro grupos geográficos para la cascabel de Sudamérica (*Crotalus durissis terrificus*, de Klauber) a saber: 1er. grupo) distribuido por Argentina, Paraguay y Gran Chaco, con veneno amarillo, desprovisto de acción proteásica, muy coagulante, hemolítico y capaz de provocar intenso shock; 2º grupo) distribuido en el Sudeste y Centro de Brasil, con veneno blanco, también sin acción proteásica, muy coagulante, menos hemolítico y levemente shockante. 3er. grupo) distribuido en el Nordeste del Brasil con veneno amarillo claro, debilmente proteolítico, fuertemente hemolítico, coagulante y shockante intenso. 4º grupo) distribuido por Venezuela y Colombia, con veneno amarillo de marcada acción proteásica, sumamente hemolítico, coagulante, shockante, hemorragíparo, necrosante y poco neurotóxico.

\* En su búsqueda, tratando de encontrar alguna diferenciación morfológica que correspondiera a variaciones en el aspecto del veneno, Amaral describe dos variedades de *Crotalus terrificus* basándose en los dibujos de la piel de la nuca, a saber: *collirhombatus* (ejemplares procedentes del noroeste y centro del Brasil, Paraguay y Argentina, cuyo veneno es amarillo); y *collilineatus* (ejemplares procedentes del Sur del Brasil, cuyo veneno es blanco). Además de estas variedades, este autor divide a la especie *Crotalus terrificus* (Laur) en tres subespecies: *C. terrificus basiliscus*, habitat Méjico; *C. terrificus durissus*, habitat América Central y *C. terrificus terrificus*, habitat América del Sur.

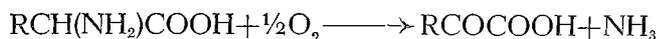
Sostiene este autor que el género *Crotalus* tiene su centro de dispersión en las regiones secas de Méjico y Sur de Estados Unidos y a medida que se aleja de este núcleo su veneno se va modificando, así del veneno amarillo extremadamente proteásico y poco neurotóxico de EE. UU. y Méjico, se pasa por los venenos intermediarios de América Central y Venezuela para llegar al de Argentina y sobre todo del Sur de Brasil, donde es blanco, desprovisto de acción proteolítica y muy neurotóxico. Los venenos decolorados deben ser considerados como variaciones de un tipo primitivo amarillo y de propiedades mixtas. Las formas sudamericanas de *Crotalus* se hallan en vías de segregación en dos ramas distintas y la diferenciación de los caracteres biológicos es mucho más profunda; podríamos decir que se adelanta a la diferenciación de los caracteres morfológicos, los que todavía son insuficientes para caracterizar a las diferentes variedades.

Supone Vellard que la subespecie sudamericana *Crotalus durissus terrificus* al penetrar en esa parte del continente se divide en dos ramas, una occidental a la que pertenecen los ejemplares con veneno amarillo del oeste brasileño, Bolivia, Paraguay y Argentina y otra oriental cuyos representantes habitan el centro y Sur del Brasil y poseen veneno blanco (véase esquema).

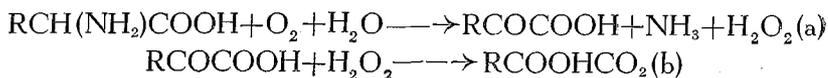
Otros investigadores trataron de individualizar el factor determinante de esa coloración amarilla propia de casi todos los venenos ofídicos. Brooks (8), señala la presencia de una sustancia fluorescente en *Vipera aspis* y *Naia naia*. A. Rodríguez Taborda y L. Comette Taborda (23) identifican el colorante de los venenos como una flavina (riboflavina).

Constituye un apreciable adelanto en relación a estos conocimientos, el descubrimiento de Zeller y colaboradores (29, 30, 31) quienes han puesto en evidencia la existencia en los venenos ofídicos de una enzima capaz de oxidar a los l-amino-ácidos; se trata de una dehidrogenasa del tipo de la estudiada por Krebs y Green (4, 5, 6, 15) en el riñón de mamíferos, pero que tiene características que las distinguen de ésta; por ello la han denominado l-ofiaminoácido oxidasa. Consume mayor o menor cantidad de oxígeno según actúe en presencia o ausencia de catalasa. Al oxidar al aminoácido lo transforma en  $\alpha$ aceto-ácido con liberación de amoníaco y peróxido de hidrógeno.

En presencia de catalasa:



En ausencia de catalasa:



Esta enzima es específica de los l-aminoácidos y requiere para actuar, que el sustrato tenga un grupo carboxilo libre y el grupo amino no sustituido; la presencia de un segundo grupo amino o carboxilo la inhiben en mayor o menor grado. El papel biológico que desempeña sería de interés indiscutible.

Parece que su significado biológico estaría vinculado a la activación de las proteasas de los tejidos del animal envenenado. En efecto, debido a su actividad, los productos de reacción del sistema péptido-peptidasa son eliminados por su transformación en  $\alpha$ -ceto-ácidos, rompiéndose como consecuencia el equilibrio, que sólo puede ser restablecido mediante la degradación de nuevas moléculas de péptidos. Esta hipótesis se halla en parte confirmada por la observación conocida de que animales muertos por picadura de víbora, aún tratándose de venenos sin ninguna o con escasa actividad proteolítica, entran mucho más rápidamente en autólisis y putrefacción que los muertos por otras causas. Solamente poseen esa capacidad activadora de proteasas y peptidasas los venenos amarillos.

Parece que esta enzima se encuentra no sólo en el veneno, sino también en otros órganos de los ofidios ya sean venenosos o no.

La l-ofi-aminoácido-oxidasa es más activa en vipéridos que en colúbridos, y dentro de los primeros, dice Zeller, el género *Bothrops* es mucho más activo que el género *Crotalus*.

Finalmente cabe destacar que Zeller y colaboradores han comprobado que la actividad de la l-ofi-aminoácido-oxidasa corre paralelamente con la intensidad del color amarillo, esto vale para distintas especies o aún para variedades dentro de una misma especie (han estudiado variedades geográficas de *Denisonia superba*, *Notechis scutatus* y *Vipera aspis*). De manera que venenos blancos como el de *Bothrops itapetiningae*, desprovistos de riboflavina carecen por completo de l-ofi-aminoácido-oxidasa\*. Señalan que el color amarillo del veneno ofídico, es parcialmente debido a la riboflavina, y que la sustancia activa y la coloreada, se encuentran en la misma fracción.

Ya hace tiempo habíamos notado que el veneno de *Crotalus terrificus* de la Argentina, presentaba diversas gradaciones en su coloración, variando desde el blanco hasta el amarillo intenso, y que esas modificaciones eran constantes según la procedencia, vale decir que respondían a una distribución geográfica determinada.

En el presente trabajo, presentamos el estudio comparativo del contenido en riboflavina, total y combinada, así como de la actividad

---

\* Estaba concluido este estudio cuando Singer y Kearney demostraron que se trata de una flavoproteína cuyo grupo prostético es el flavoadenindinucleótico. (Singer, T. P., Kearney, E. B.: Arch. Bioch., 1950, 27, 548).

de la L-ofi-aminoácido-oxidasa, en muestras de veneno de *Crotalus terrificus* de distinto origen. Además extendimos el estudio a las ponzoñas de las especies del género *Bothrops* que se distribuyen por nuestro país.

## MATERIAL Y METODOS

Los venenos estudiados fueron extraídos de víboras mantenidas en cautividad, remitidas de distintas zonas del país al Instituto Malbrán; se conservaron desecándolos al vacío sulfúrico. Para usarlos se pesaban y disolvían en solución fisiológica o en "buffer" fosfato.

La riboflavina se determinó por el método de Hodson y Norris<sup>(11)</sup> utilizando un fluorofotómetro de Pfaltz y Bauer. La flavina total se determinó hidrolizando el veneno durante 30 minutos a 100 grados centígrados, en ácido sulfúrico 0.1N; la flavina combinada se determinó hidrolizando, en las condiciones citadas, muestras de veneno liberado de la flavina libre por 15-20 horas de diálisis contra agua corriente a 18-20°C. Los valores se expresan en  $\mu\text{g}$  de riboflavina por g. de veneno seco.

La actividad de la L-ofi-aminoácido-oxidasa se determinó con el método manométrico, utilizando un aparato de Warburg. Las determinaciones se hicieron en aire a 38°C; en cada vaso se ponía el veneno (de 0.25 a 1 mg) disuelto en "buffer" fosfato M/15, pH 7.2, y L-leucina a una concentración 7 milimolar. En el vaso central se colocaron 0.2 ml de NaOH 2.5 N. El volumen total del líquido era de 5.2 ml. Las determinaciones duraban de 30 a 60 minutos, sin contar el período de equilibración, de 5 minutos. Los resultados, como es habitual, se expresan en  $\text{QO}_2$  (microlitros de  $\text{O}_2$  por hora y miligramo de veneno seco). Solamente obtuvimos resultados regulares y constantes cuando la equilibración térmica se efectuó con el veneno y la leucina ya en contacto.

## RESULTADOS

Como se puede apreciar en la tabla adjunta, existe un paralelismo entre la cantidad de riboflavina y la actividad de la L-ofi-aminoácido-oxidasa de los venenos estudiados. Los venenos de las especies del género *Bothrops* contienen concentraciones desde 140 a 420  $\mu\text{g}$  de riboflavina total por g de veneno seco, correspondiéndole un  $\text{QO}_2$  de 500 a 1550. La especie *B. ammodytoides*, exclusiva de la Argentina, resulta poseedora del veneno más rico en riboflavina y L-ofi-aminoácido-oxidasa.

En cuanto a la ponzoña de *Crotalus terrificus*, varía desde 10 a 225  $\mu\text{g}$  de riboflavina total por g de veneno, con un  $\text{QO}_2$  desde 0 a 880. Zeller señala para esta especie únicamente un  $\text{QO}_2$  de 10, hecho que nos hace suponer que sólo estudió una muestra de veneno blanco. A pesar de esta variabilidad, la relación  $\text{QO}_2$ /riboflavina es bastante constante, hecho que indica que la actividad enzimática está ligada a esta substancia.

TABLA COMPARATIVA DEL CONTENIDO EN RIBOFLAVINA TOTAL Y COMBINADA Y L-OFI-AMINOACIDO-OXIDASA EN LOS DISTINTOS VENENOS

GENERO Y ESPECIE	Riboflavina total		Riboflavina combinada		L-Ofi-amino ácido oxidasa $\text{QO}_2$
	$\mu\text{g}$ ven.	Rib/g	$\mu\text{g}$ ven.	Rib/g	
B. ammodytoides (amarillo)	420		370		1550
B. neuwiedii (amarillo)	225		180		800
B. jararaca (amarillo)	175		160		700
B. alternata (amarillo)	165		155		600
B. jararacussu (amarillo)	140		130		500
C. terrificus, Tucumán (amarillo)	225		190		800
" " Salta (amarillo)	210		165		850
" " Sgo. Estero (amarillo)	180		170		825
" " Chaco (amarillo)	170		160		600
" " Sta. Fé (amarillo)	195		150		560
" " Córdoba (amarillo)	140		120		540
" " Formosa (amarillo)	170		120		580
" " Corrientes (amarillo)	160		150		520
" " Misiones (amarillo)	140		120		545
" " Misiones (blanco)	10		10		0
" " jóvenes (blanco)	20		20		35

Para Singer y Kearney la riboflavina se encuentra combinada en su totalidad. Nuestros resultados diferentes pueden deberse a una liberación parcial de la misma por descomposición debida a la diálisis prolongada y a temperatura ambiente. (Singer, T. P., Kearney, E. B.: Arch. Bioch., 1950, 27, 548).

Como se puede observar, existen en nuestro país dos núcleos para cada uno de los tipos de veneno de *Crotalus terrificus*: para el veneno blanco, Misiones, y para el amarillo, Salta, Tucumán y Santiago del Estero; desde estos dos focos, los venenos se esparcen por todo el territorio, predominando no obstante los de color amarillo, pues aun en Misiones se encuentran aproximadamente un 25 %

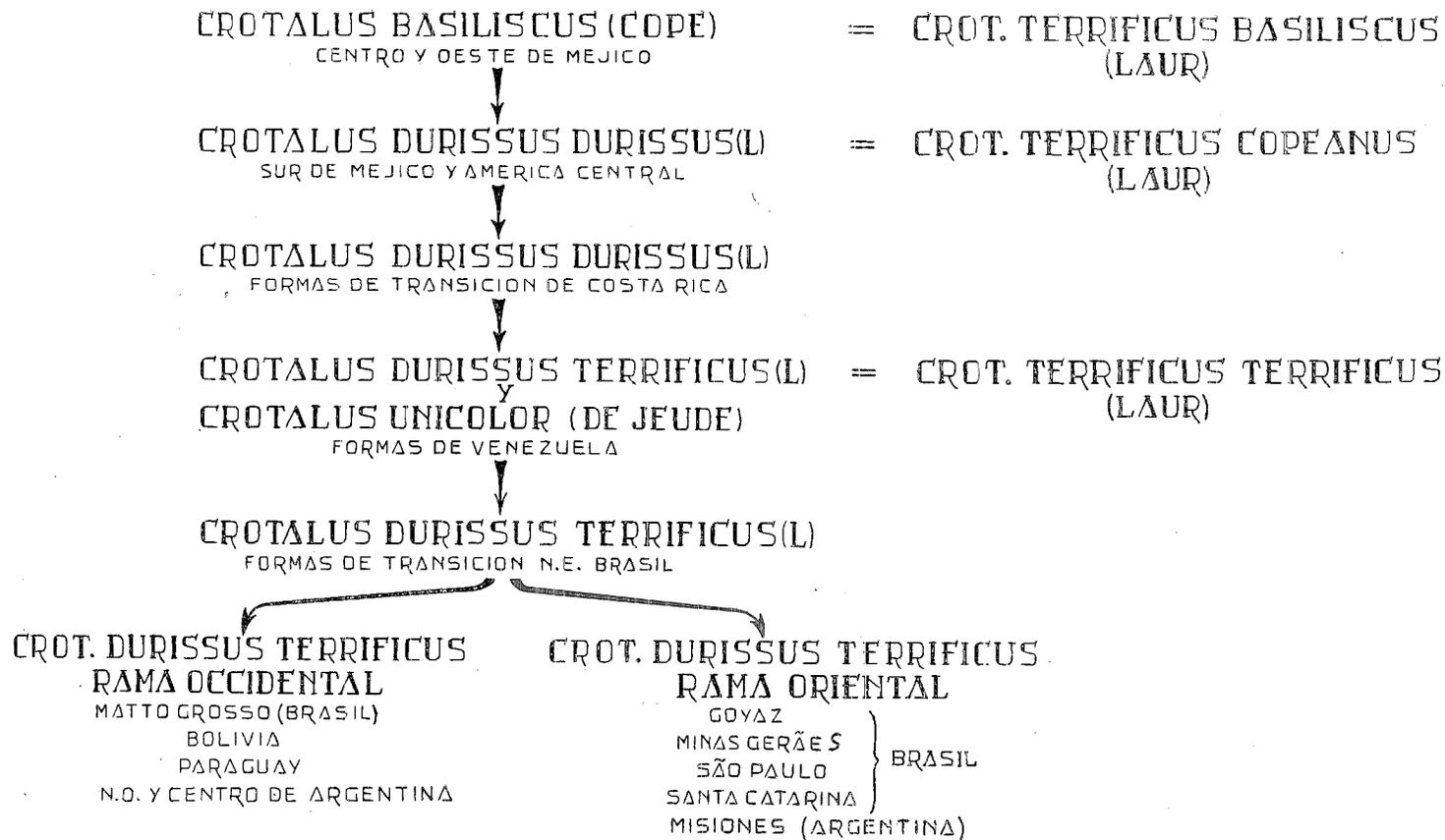
de *Crotalus* poseedores de veneno amarillo. Estas apreciaciones concuerdan con lo sostenido por Vellard <sup>(28)</sup> pues la rama occidental se prolonga por las provincias del N. O. argentino, y la oriental, continuación del grupo originario del Brasil central y meridional, hace su irrupción en la Gob. de Misiones, según hemos comprobado nosotros. Ambas ramas se ensamblan en la Argentina por medio de una serie de tipos de venenos con predominancia amarillos.

Vellard, afirma que las condiciones ecológicas no modifican las propiedades de los venenos, citando como ejemplo lo que acontece con venenos venezolanos, cuyas muestras, procedentes tanto del litoral arenoso como de las regiones andinas o preandinas, húmedas y boscosas, no se diferencian. En nuestro país, no podemos asegurar si debido a una simple coincidencia de distribución o por influencia del ambiente, los venenos de *Crotalus terrificus* son tanto más ricos en riboflavina y l-*of*i-aminoácido oxidasa, cuanto más seco y arenoso es el lugar de donde proceden. Además, se observa una cierta correspondencia con los distritos zoogeográficos propuestos por Cabrera y Yepes <sup>(10)</sup>, encontrándose los venenos más ricos en las sustancias estudiadas, en el distrito subandino, los intermediarios en el pampásico y los más pobres o carentes en absoluto, en el subtropical. Pero esta distribución no es rigurosa; así, hemos recibido, en varias oportunidades, procedentes de distintas localidades de Misiones, ejemplares ya con veneno blanco, ya con veneno amarillo, pero siempre estos últimos fueron menos frecuentes (en el curso de 1948 se recibieron en el Instituto Malbrán, 28 víboras de cascabel de Misiones, 21 con veneno blanco y 7 con veneno amarillo). Además, el contenido en riboflavina y l-*of*i-aminoácido oxidasa de estos últimos, es pequeño, según puede comprobarse en la tabla adjunta. Estos hechos nos hacen suponer que en realidad el foco o centro de dispersión de *Crotalus terrificus* poseedor de veneno blanco, se encuentra ubicado más al norte, en pleno territorio brasileño; de ahí que no sea total y absoluta la presencia del veneno blanco en las cascabeles misioneras, pues aún en dicha Gobernación se encuentran aunque en menor número, ejemplares con veneno amarillo que es tan

---

(1) Con el fin de precisar más la procedencia de los ejemplares cuyos venenos fueron estudiados, indicamos a continuación las zonas dentro de cada provincia o gobernación de donde eran originarias las serpientes de cascabel utilizadas en nuestro estudio. Anotamos estos datos, debido a las variaciones fisiográficas observables en algunas provincias, sobre todo en aquellas de gran superficie, que abarcan distintas regiones zoo y fitogeográficas, a saber: Salta y Tucumán, zonas orientales, Santiago del Estero, zonas occidentales, Córdoba Norte y Centro, Santa Fe Norte, Formosa y Chaco todo el territorio.

Sería interesante poseer muestras de algunas zonas intermediarias, como por ejemplo de la zona paraguaya, comprendida entre los ríos Paraguay y Paraná, que se introduce como cuña en el territorio argentino.



Esquema de la evolución del veneno *Crotalus durissus* (L.) 1758 o *Crotalus terrificus* (Laur.) 1768 según J. Vellard y modificado por nosotros. La columna de la derecha corresponde a la nomenclatura propuesta por Amaral y la de la izquierda a la nomenclatura de Klauber aceptada por Vellard.

frecuente en todo el territorio de la República. De Formosa hemos recibido solamente un ejemplar con veneno blanco.

A pesar del estudio taxonómico prolijo, no hemos encontrado ninguna diferencia morfológica entre los ejemplares poseedores de veneno blanco o veneno amarillo, originarios de distintas zonas del país; por consiguiente, no comprobamos las variedades de dibujo señaladas por Amaral para las víboras de cascabel brasileñas; nuestros *Crotalus* pertenecen en todo caso al tipo *colillineatus*.

Otro hecho que merece destacarse, es el siguiente: todos los crótalos, cualquiera sea su procedencia, poseen veneno blanco a poco de nacer y mantienen este carácter hasta que alcanzan los 30 ó 40 cm. de longitud, es decir, hasta el año de edad aproximadamente. Luego, si se trata de la variedad de veneno amarillo, a medida que se desarrollan, paulatinamente su ponzoña vá adquiriendo ese color, con mayor intensidad.

Esta curiosa comprobación nos llevó a investigar su contenido en riboflavina y L-aminoácido oxidasa, resultando, como era lógico suponer, que estos venenos practicamente carecen de dichas sustancias.

## RESUMEN Y CONCLUSIONES

Se exponen las teorías que admiten que las serpientes del género *Crotalus*, se originan en Méjico donde el veneno es amarillo, este color palidece hasta hacerse blanco, en el Sur del Brasil. Este carácter del veneno tiene un significado taxonómico y filogenético de importancia.

Se señalan las variaciones geográficas relativas a la coloración del veneno de *Crotalus terrificus* de la Argentina, que oscila entre el blanco y el amarillo intenso.

Se estudia el contenido en riboflavina libre y combinada de ponzoñas de *Crotalus terrificus* de diversas procedencias, así como de las especies *Bothrops alternata*, *B. neuwiedii*, *B. ammodytoides*, *B. jararaca*, *B. jararacussu*.

Se comprueba que el colorido es debido a la presencia de riboflavina, que existe en concentraciones variables entre 140 y 420 microgramos por gramo de veneno seco. Los venenos blancos de *Crotalus terrificus* carecen prácticamente de dicha substancia.

Se determina la actividad de la L-ofi-aminoácido-oxidasa y se encuentra que es paralela a la concentración de riboflavina. También los venenos blancos carecen de esta enzima.

El veneno de todos los ejemplarse jóvenes de *Crotalus terrificus*, cualquiera sea su procedencia, es blanco y por lo tanto desprovisto de riboflavina y de L-ofi-aminoácido-oxidasa.

## SUMMARY AND CONCLUSIONS

The theories which recognize that the *Crotalus* serpents are of Mexican origin, whose venom are of yellow color, turning white in the South of Brazil, are referred.

The venom characteristic have a taxonomic and philogenetic signification of importance.

The geographic variations in relation to the color of Argentina's *Crotalus terrificus* venom, which changes from white to yellow, are indicated.

The riboflavin content of *Crotalus terrificus* poison of different origin, as also of *Bothrops alternata*, *B. neuwiedii*, *B. ammodytoides*, *B. jararaca*, *B. jararacussu* was studied.

It was found that the yellow color is due to the presence of riboflavin, which exists in variable concentrations between 140 and 420  $\mu\text{g}$  per gram of dried poison; 85 % of the riboflavin is combined. The *Crotalus terrificus* white venom lacks this substance practically.

The activity of l-ophi-aminoacid-oxidase was determined and it was found to be parallel to the riboflavin concentration. The white venoms also lacked this matter.

All the young *Crotalus terrificus* venom specimens, of whatsoever origin are white and therefore lack riboflavin and l-ophi-aminoacid-oxidase.

## BIBLIOGRAFÍA

- 1) AMARAL A.: "Studies of Nearctic Ophidia — IV Phylogeny of the rattlesnakes". Bull. Antivenin Inst. Amer., 3, 6 (1929).
- 2) AMARAL, A.: "Contribuição ao conhecimento dos ophidios do Brasil". "Lista remissiva dos ophidios do Brasil". Mem. Inst. Butatan, 10, 161 (1936).
- 3) AMARAL, A.: "Notas sobre ophiología neotrópica e brasilica. Sobre a invalidez específica de *Crotalus unicolor*". Pap. av. Dep. Zool. Sec. Agric. S. Paulo, 5, 29 (1944).
- 4) BLANCHARD, M.; GREEN, D. E.; NOCITO, V.; & RATNER, S.: "l-amino acid oxidase of animal tissue". J. biol. Chem., 155, 421 (1944).
- 5) BLANCHARD, M.; GREEN, D. E.; NOCITO, V.; & RATNER, S.: "Isolation of l-amino acid oxidase". I. biol. Chem., 161, 583 (1945).
- 6) BLANCHARD, M.; GREEN, D. E.; NOCITO, V.; & RATNER, S.: "l-hydroxy acid oxidase". J. biol. Chem., 163, 137, (1946).
- 7) BOQUET, P.: "Venins de serpents et antivenins". Collection de l'Institut Pasteur. Editions Médicales Flammarion, pág. 103 (1948).
- 8) BROOKS, G.: "Estude chimique et spectrographique de la fluorescence des venins des Serpents". C. R. Acad. Sci. Paris, 209, 2489 (1939).
- 9) CESARI, E.; BAUCHE, JET BOQUET, P.: "Sur une race de vipère aspic (*Vipera aspic*) à venin blanc". C. R. Acad. Sci. Paris, 201, 683 (1935).
- 10) CABRERA, A. y YEPES, J.: "Mamíferos sudamericanos". Compañía Argentina de editores, S. R. L., Bs. Aires, pág. 11 (1940).
- 11) HODSON, A. Z., & NORRIS, I. C.: "A fluorometric method for determining the riboflavin content of foodstuffs". J. biol. Chem., 131, 621 (1939).

- 12) KLAUBER, L. M.: "Differential characteristics of southwestern rattlesnakes allied to *Crotalus atrox*". *Bull. zool Soc. S. Diego*, 6, 12 (1950).
- 13) KLAUBER, L. M.: "A key to the rattlesnakes with summary of characteristics". *Trans. San Diego, Soc. nat. Hist.*, 8, 185 (1956).
- 14) KLAUBER, L. M.: "The rattlesnakes listed by Linnaeus in 1758". *Trans. San Diego, Soc. nat. Hist.*, 17, 81 (1941).
- 15) KREBS, H. A.: "Metabolism of aminoacids — III Deamination of amino-acids". *Biochem. J.*, 29, 1620 (1955).
- 16) OTTO, R.: "Untersuchungen über die Toxine europäischer Viperinen". *Z. Hyg. InfektKr.*, 110, 515 (1929).
- 17) OTTO, R.: "Zur Kenntnis der Mesocoronis Toxine". *Z. Hyg. InfektKr.*, 114, 531 (1935).
- 18) PHISALIX, M.: "Le venin blanc des vipères du département du Gers est dépourvu du pouvoir vaccinant". *C. R. Acad. Sci. Paris*, 208, 1252 (1959).
- 19) PICADO, C. T.: "Serpientes venenosas de Costa Rica". *Imprenta Alsina, San José de Costa Rica* (1951).
- 20) REUSS, T.: "Über eine neurotoxische Otterngruppe Europas, Mesocoronis, und über ihre Stellung unter den Solenoglyphenden Welt". *Glasn. zem. Mus. Bosn. Herc.*, 42, 57 (1950).
- 21) REUSS, T.: "Beschreibung neuer Vipera aus Jugoslawien". *Zool. Anz.*, 71, 215 (1927).
- 22) REUSS, T.: "Sechs europäische Giftschlangengattungen". *Zool. Anz.*, 73, 124 (1927).
- 23) RODRIGUES TABORDA, A. Y COMETTE TABORDA, L.S. "Da relação entre o corante dos 9 venenos de cobra e sua fluorescência". *I-Flavina no veneno de B. Jararaca*. *Mem. Inst. Butantan.*, 15, 47 (1941).
- 24) SCHWARZ, E.: "Untersuchungen über Systematik und Verbreitung der europäischer und mediterranen Ottern". *Behringw. Mitt.*, 7, 159 (1956).
- 25) VELLARD, J.: "Variations géographiques du venin de Bothrops atrox". *C. R. Acad. Sci. Paris*, 204, 1569 (1957).
- 26) VELLARD, J.: "Variations géographiques du venin de serpent a sonnettes sudamericain *Crotalus terrificus*". *C. R. Acad. Sci Paris*, 204, 1679 (1957).
- 27) VELLARD, J.: "Variaciones geográficas del veneno de *Crotalus terrificus*". *Rev. Soc. argent. biol.*, 14, 409 (1958).
- 28) VELLARD, J.: "Diferenciación biológica de la cascabel sudamericana". *Acta Zool. Lilloana*, 1, 55 (1945).
- 29) ZELLER, E. A. UND MARIT, A.: "Über eine neue I-Aminosäureoxydase". *Helv. chim. Acta*, 27, 1888 (1944).
- 30) ZELLER, E. A. UND MARIT, A.: "Über eine neue I-Aminosäureoxydase". *Helv. chim. Acta*, 28, 565 (1945).
- 31) ZELLER, E. A.: "Enzymes of snake venoms and their biological significance". *Advances in Enzymology*, 8, 459 (1948).