

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"



INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS - RIO CLARO

# PROGRAMA DE PÓS- GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS (ÁREA DE ZOOLOGIA)

# Leonardo de Oliveira

# Especializações glandulares, musculares e dentárias dos dipsadíneos "goo-eaters" (Serpentes: Dipsadinae) associadas à ingestão de suas presas

Tese apresentada ao Instituto de Biociências do Campus de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Ciências Biológicas (Zoologia)

> Rio Claro 2013

#### LEONARDO DE OLIVEIRA

# ESPECIALIZAÇÕES GLANDULARES, MUSCULARES E DENTÁRIAS DOS DIPSADÍNEOS "GOO-EATERS" (SERPENTES: DIPSADINAE) ASSOCIADAS À INGESTÃO DE SUAS PRESAS

Tese apresentada ao Instituto de Biociências do Campus de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Ciências Biológicas (Zoologia).

Orientador: Hussam El Dine Zaher

Rio Claro 2013 598.1 O48e

Oliveira, Leonardo de

Especializações glandulares, musculares e dentárias dos dipsadíneos "goo-eaters" (Serpentes: Dipsadinae) associadas à ingestão de suas presas / Leonardo de Oliveira. - Rio Claro, 2013 212 f. : il., figs., tabs.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências de Rio Claro Orientador: Hussam El Dine Zaher

 Réptil. 2. Glândulas orais - Morfologia. 3. Glândulas de Duvernoy.
Glândulas infralabiais. 5. Glândulas de Harder. 6. Desenvolvimento embrionário. 7. Musculatura adutora. I. Título.

Ficha Catalográfica elaborada pela STATI - Biblioteca da UNESP Campus de Rio Claro/SP

# unesp

#### UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA CAMPUS DE RIO CLARO INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS DE RIO CLARO

#### CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: Especializações glandulares, musculares e dentárias dos dipsadineos "goo-eaters" (Serpentes: Dipsadinae) associadas à ingestão de suas presas

#### AUTOR: LEONARDO DE OLIVEIRA ORIENTADOR: Prof. Dr. HUSSAM EL DINE ZAHER

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de DOUTOR EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS (ZOOLOGIA), pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. HUSSAMEL DINE ZAHER Museu de Zoologia/USP

Audenle

Profa. Dra. ANA LÚCIA DA COSTA PRUDENTE Depto de Zoologia/Museu Paraense Emilio Goeld

Prof. Dr. MIGUEL TREFAUT URBANO RODRIGUES Instituto de Biociências/USP

D ure 123

Prof. Dr. PAULO G. HOMEM PASSOS Museu Nacional/Universidade Federal do Rio de Janeiro

Prof. Dr. OTAVIO AUGUSTO VUOLO MARQUES Laboratório de Ecologia e Evoloução / Instituto Butantãn

Data da realização: 29 de maio de 2013.

Dedico este trabalho à Lilian Parpinelli, por todo o companheirismo, incentivos, ajuda e paciência demonstrados ao longo de todos estes anos.

Aos meus pais, Sebastião Luiz de Oliveira e Aparecida Gimenes de Oliveira, pelos exemplo de vida que eles representam, e por todos os ensinamentos, apoio e incentivos demonstrados ao longo de toda a minha vida.

Aos meus irmãos, Leandro de Oliveira e Luciana de Oliveira, por toda a ajuda, incentivos e alegrias que sempre me proporcionaram.

À toda a minha família, em especial aqueles que nos deixaram ao longo deste caminho, vô Antônio, Rafa e tio Edvaldo.

#### Agradecimentos

Agradeço ao meu orientador, prof. Dr. Hussam Zaher, por toda a confiança e ensinamentos, pela orientação e incentivos, bem como por todas as oportunidades e condições concedidas ao longo de todos estes anos;

À profa. Dra. Ana Lúcia da Costa Prudente, do Museu Paraense Emílio Goeldi, por toda a ajuda, incentivos, atenção e hospitalidade oferecidos ao longo deste trabalho, em especial pela ajuda e ensinamentos como os desenhos da musculatura e glândulas dos espécimes analisados;

Ao prof. Dr. Elazar Kochva, pelos valiosos comentários e ajuda com a morfologia das glândulas orais das serpentes;

Aos curadores das coleções científicas, que gentilmente emprestaram os espécimes para que eu pudesse desenvolver este trabalho: Dr. Francisco Luis Franco, do Instituto Butantan, Dr. W. Ronald Heyer, do Smithsonian Institution (USNM), Dra. Linda Trueb e Dr. Bill Duellman, da University of Kansas (KU) e Dr. Jim McGuire e Dra. Carol L. Spencer, da University of California, Berkeley (MVZ);

Ao programa de pós-graduação da Unesp de Rio Claro, em especial ao coordenador do programa, prof. Dr. Denis Otávio Vieira de Andrade e às funcionárias da Seção Técnica de Pós-graduação, Vanessa Garcia Vaz Moruzzi e Rosemary D. Oliveira S. Cardoso, por todas as informações e ajuda prestadas, bem como pela prontidão em resolver às questões relativas à pós-graduação;

Ao Dr. Carlos Jared e Dra. Marta Maria Antoniazzi, do Laboratório de Biologia Celular do Instituto Butantan, pelas facilidades na utilização do laboratório de histologia;

À Carolina Castro Mello, assistente da Coleção Herpetológica do MZUSP, por todo o apoio e ajuda com as serpentes provenientes da coleção do MZUSP;

À Dra. Hana Suzuki, do Museu Biológico do Instituto Butantan, por toda a confiança, ajuda, apoio e incentivos ao longo de todos estes anos, e pela providencial ajuda com o inglês;

Ao Dr. Ricardo Arturo Guerra Fuentes (Gringo), pelas discussões sempre frutíferas acerca da morfologia das serpentes, e por toda a ajuda e sugestões para com os resultados da tese como um todo, em especial ao estudo do desenvolvimento embrionário das glândulas;

À Dra. Giovanna Gondim Montingelli, pelas discussões e incentivos com relação ao estudo da morfologia das serpentes, bem como pelas sugestões e comentários acerca dos resultados da tese;

À Ma. Paola María Sánchez Martínez, pelas discussões valiosas acerca da morfologia e taxonomia das serpentes dipsadíneas, bem como pelas sugestões e comentários acerca dos resultados da tese;

Ao Me. Juan Camilo Arredondo, pelas discussões e sugestões ao longo do desenvolvimento deste trabalho, bem como pela ajuda com a formatação das figuras;

À Ma. Roberta Graboski Mendes, por toda a ajuda e paciência com a formatação final do texto da tese;

Ao Dr. Felipe Gobbi Grazziotin, pela discussões e ajuda com as otimizações dos estados de caracteres;

À Ma. Lilian Parpinelli, pelos incentivos de sempre, bem como pela ajuda com a formatação da tese, referências bibliográficas e elaboração da planilha contendo dados sobre a alimentação dos dipsadíneos;

Ao Antônio Carlos Orlando Ribeiro da Costa, pela confecção dos desenhos referentes aos itens da dieta dos dipsadíneos;

À Dra. Maria da Graça Salomão, pelos incentivos, ajuda de sempre e discussões acerca da morfologia das glândulas orais das serpentes;

À Dra. Selma Maria de Almeida Santos, por todo o apoio e incentivos de sempre, bem como pela fundamental ajuda no início do desenvolvimento deste trabalho;

À Dra. Sylvia Mendes Carneiro, pelas discussões e sugestões acerca dos aspectos ultraestruturais das glândulas orais das serpentes;

Aos alunos e colaboradores do Laboratório de Herpetologia do Museu de Zoologia da USP, Fausto Erritto Barbo, Felipe Gobbi Grazziotin, Giovanna Gondim Montingelli, Juan Camilo Arredondo, Marcelo Esteves, Matheus Godoi Pires, Maurício Forlani, Paola Maria Sánchez Martínez, Pedro Bernardo, Ricardo Arturo Guerra Fuentes, Roberta Graboski Mendes e Vivian Trevine, pela amizade, apoio e incentivos em todas as etapas do desenvolvimento deste trabalho;

A todos os alunos e funcionários do Laboratório de Herpetologia da Unesp de Rio Claro, pela amizade e hospitalidade, em especial ao Francisco Brusquetti e a Tereza Thomé;

A todos os alunos e funcionários do Laboratório de Biologia Celular do Instituto Butantan, em especial à Simone Jared, pela amizade e suporte técnico ao longo do desenvolvimento deste trabalho.

À Lara Maria Guimarães, do Laboratório de Microscopia Eletrônica do Museu de Zoologia da USP, pela ajuda no processamento dos dentes para microscopia eletrônica de varredura.

À Dra. Ilana Fichberg, pelo fornecimento dos embriões de *Sibynomorphus mikanii*, essenciais para a elaboração do item desenvolvimento embrionário das glândulas labiais;

A todos os funcionários do Museu de Zoologia, em especial do Laboratório de Herpetologia, Ambrosina Marciano Tomás (Dna. Zina), Francisco de Assis Brum da Silva, André Luís de Mesquita Braga, bem como a todos os demais alunos e estagiários do Laboratório de Herpetologia que, de uma forma direta ou indireta, contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho;

Ao revisor anônimo da Fapesp, que contribuiu com críticas e sugestões;

A todos os amigos do Instituto Butantan, que sempre me apoiaram e incentivaram ao longo destes anos, bem como a todas as pessoas que eu possa ter esquecido aqui, mas que tenham contribuído de alguma forma para o desenvolvimento deste trabalho;

Este projeto foi financiado pela Fapesp, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, sob o número do processo 2008/57102-1.

#### **RESUMO**

A origem e a evolução da função venenosa nas serpentes têm sido objeto de inúmeras discussões. De um modo geral, os estudos se restringem às glândulas de veneno ou de Duvernoy, ambas constituídas por células serosas. Pouca atenção é dispensada às demais glândulas orais e no papel biológico de suas secreções. Nos dipsadíneos goo-eaters, uma linhagem altamente especializada de serpentes comedoras de invertebrados, especialmente moluscos e anelídeos, as glândulas de Duvernoy são reduzidas ou ausentes, enquanto que as glândulas infralabiais são predominantemente seromucosas e associadas à musculatura adjacente. Além disso, uma série de modificações dentárias, particularmente nos dentes maxilares e dentários, são associadas à estas serpentes. Este conjunto de características glandulares, musculares e dentárias são frequentemente relacionados à dieta especializada. O presente trabalho teve o objetivo de realizar um estudo comparativo acerca da anatomia, histologia e histoquímica das principais glândulas cefálicas (infralabiais, supralabiais, Duvernoy e de Harder) e ultraestrutural dos dentes maxilares e dentários dos dipsadíneos gooeaters, utilizando para comparações, serpentes dipsadíneas que comem vertebrados. Além disso, foi realizado um estudo acerca do desenvolvimento embrionário das glândulas labiais (infra e supralabiais) de Sibynomorphus mikanii. Cabeças inteiras de espécies representativas dos diversos gêneros de dipsadíneos goo-eaters, bem como dos gêneros de dipsadíneos que comem vertebrados foram dissecadas e submetidas ao processamento histológico. Embriões de Sibynomorphus mikanii foram estudados através da morfologia externa e séries histológicas das cabeças, enquanto que os dentes maxilares e dentários foram estudados por microscopia eletrônica de varredura. Em Dipsas, Sibynomorphus e Geophis, as glândulas infralabiais são divididas em duas porções (il1) e (il2), enquanto que em todos os demais gêneros de dipsadíneos analisados elas são únicas. A il2 de Dipsas e Sibynomorphus contém células seromucosas e um duto principal, que se estende longitudinalmente por toda a glândula e se abre no assoalho da boca, próximo à extremidade anterior do dentário. Em Atractus, a infralabial é constituída por ácinos mistos, compostos por células mucosas e seromucosas, enquanto que em Ninia e Chersodromus, esta glândula é constituída por células seromucosas. Não foram observadas glândulas de Duvernoy nos gooeaters analisados, entretanto, nos dipsadíneos que comem vertebrados, estas glândulas são bem evidentes. O desenvolvimento das glândulas labiais dos embriões de Sibynomorphus mikanii é condizente com a morfologia dos adultos desta espécie. As duas porções da

glândula infralabial (il1 e il2) originam-se a partir de invaginações do epitélio de revestimento de mesênquima. Enquanto a il1 se forma a partir de uma série de invaginações independentes, a il2 se forma a partir de uma única invaginação hipertrofiada. Os goo-eaters apresentam dentes maxilares indiferenciados, sem diastema ou dente posterior alargado, entretanto, o último dente maxilar é frequentemente menor que os demais. A ausência das glândulas de Duvernoy e a dentição maxilar indiferenciada nos dipsadíneos goo-eaters, sugerem que estas serpentes tenham perdido secundariamente os elementos do seu aparato de veneno. O desenvolvimento das glândulas infralabiais, por outro lado, mostra-se como aquisições secundárias, que se desenvolveram independentemente entre os goo-eaters e, provavelmente, em resposta às especificidades da dieta.

**Palavras Chave:** glândulas de Duvernoy, glândulas infralabiais, glândulas de Harder, gooeaters, desenvolvimento embrionário.

#### ABSTRACT

The origin and evolution of the venomous function in snakes has been subject of recent debates. In a general way, studies on this subject are restricted to the venom and Duvernoy's glands, both constituted by serous cells. Little attention has been given to the others oral glands, such as infralabial and supralabial, and the biological role of their secretions. In the goo-eater dipsadines, a highly specialized lineage of snakes feeding on invertebrates, specially mollusks and annelids, the Duvernoy's glands are very reduced or absent, while the infralabial glands are predominantly constituted by seromucous cells and associated with adjacent muscles. In addition, several dental modifications, particularly in the maxillary and dentary teeth, are associated with these snakes. These muscular, glandular and dental features are frequently associated with highly specialized diet presented by the goo-eaters. This study aimed to perform a comparative study on the anatomy, histology and histochemisty of the major cephalic glands (infralabial, supralabial, Duvernoy and Harder), and the ultrastructure analysis on the maxillary and dentary teeth of the goo-eater dipsadines and the dipsadinae snakes feeding on vertebrates. Furthermore, a study on the embryological development of the labial glands (infralabial and supralabial) in Sibynomorphus mikanii was performed. Whole heads of representative species of several genera of goo-eater and vertebrate feeding dipsadines were dissected and submitted to histological procedures in paraffin. Embryos of Sibynomorphus mikanii in different stages of development were submitted to studies of external morphology and histological sections of the whole heads and the maxillary and dentary teeth were analyzed by scanning microscopy. In *Dipsas*, *Sibynomorphus* and *Geophis*, the infralabial glands are divided into two portions, ill and il2, whereas in all other dipsadine genera analyzed they are single. The il2 of Dipsas and Sibynomorphus contain seromucous cells and a main duct, which extends longitudinally throughout the gland and opens into the floor of the mouth, close to the front edge of the dentary. In Atractus, the infralabial is constituted by mixed acini composed of mucous and seromucous cells, while in Ninia and Chersodromus, this gland is formed by seromucous cells. Duvernoy's glands were not observed in the goo-eaters analyzed; however these glands are quite evident in the dipsadines feeding on vertebrates. The development of the labial glands in the embryos of Sibynomorphus mikanii is consistent with the morphology of the adults. The two portions of the infralabial gland (ill and il2) originate from invaginations of the lining epithelium mesenchyme. While ill is formed from a series of independent invaginations, ill is formed by a single hypertrophied invagination. The goo-eaters have maxillary teeth undifferentiated,

without diastema or enlarged posterior tooth, however the last maxillary tooth is often smaller than the others. The absence of Duvernoy glands and undifferentiated maxillary dentition in the goo-eater dipsadines suggest that these snakes have secondarily lost the elements of their venom apparatus. The development of infralabial glands, on the other hand, shows up as secondary acquisitions, independently developed between the goo-eaters and probably in response to the specific diet.

Keywords: Dipsadidae, goo-eaters, adductor muscles, Duvernoy's glands, infralabial glands.

#### LISTA DE FIGURAS

Figura 01. Morfologia das glândulas labiais de Atractus reticulatus.

Figura 02. Morfologia das glândulas labiais de Atractus pantostictus.

Figura 03. Histologia e histoquímica da glândula infralabial de Atractus zebrinus.

- Figura 04. Morfologia das glândulas orais de Adelphicos quadrivirgatum.
- Figura 05. Morfologia das glândulas orais de Chersodromus liebmanni.
- Figura 06. Morfologia das glândulas orais de Ninia hudsoni.

Figura 07. Morfologia das glândulas orais de Ninia sebae.

- Figura 08. Morfologia das glândulas labiais de Dipsas indica.
- Figura 09. Morfologia das glândulas labiais de Dipsas indica.
- Figura 10. Morfologia das glândulas infralabiais de *Dipsas albifrons*.
- Figura 11. Morfologia das glândulas infralabiais e musculatura associada de Dipsas neivai.
- Figura 12. Histologia e histoquímica da glândula infralabial de *Dipsas neivai*.
- Figura 13. Morfologia das glândulas infralabiais de Sibynomorphus mikanii.
- Figura 14. Morfologia das glândulas supralabiais de Sibynomorphus mikanii.
- Figura 15. Morfologia das glândulas labiais de Sibynomorphus neuwiedi.
- Figura 16. Morfologia das glândulas labiais de Sibon nebulatus.
- Figura 17. Morfologia das glândulas labiais de Tropidodipsas sartorii.
- Figura 18. Morfologia das glândulas orais de Leptodeira annulata.
- Figura 19. Morfologia das glândulas orais de Imantodes cenchoa.
- Figura 20. Morfologia das glândulas orais de Coniophanes fissidens.
- Figura 21. Morfologia das glândulas orais de Urotheca elapoides.
- Figura 22. Morfologia geral das glândulas e músculos cefálicos de *Rhadinaea decorata*, *R. hannsteini* e *R. montecristi*.
- Figura 23. Morfologia geral das glândulas e músculos cefálicos de Hypsiglena torquata, Tretanorhinus variabilis e Trimetopon pliolepis.
- Figura 24. Morfologia das glândulas orais de Tomodon dorsatus.
- Figura 25. Otimizações dos estados do caráter "glândulas infralabiais divididas em duas porções (il1 e il2)".
- Figura 26. Otimizações dos estados do caráter "glândula de Duvernoy".
- Figura 27. Otimizações dos estados do caráter "músculo *levator anguli oris* associado às glândulas infralabiais".
- Figura 28. Otimizações dos estados de caráter "dieta" dos dipsadíneos.

Figura 29. Embrião de Sibynomorphus mikanii (embrião 1, 10 dias após a ovipostura). Figura 30. Embrião de Sibynomorphus mikanii (embrião 2, 25 dias após a ovipostura). Figura 31. Embrião de Sibynomorphus mikanii (embrião 3, 32 dias após a ovipostura). Figura 32. Embrião de Sibynomorphus mikanii (embrião 4, 41 dias após a ovipostura). Figura 33. Embrião de Sibynomorphus mikanii (embrião 4, 41 dias após a ovipostura). Figura 34. Microscopia eletrônica de varredura dos dentes de Atractus pantostictus. Figura 35. Microscopia eletrônica de varredura dos dentes de Atractus pantostictus. Figura 37. Microscopia eletrônica de varredura dos dentes de Adelphicos quadrivirgatum. Figura 37. Microscopia eletrônica de varredura dos dentes de *Geophis nasalis*. Figura 38. Microscopia eletrônica de varredura dos dentes de Ninia atrata. Figura 39. Microscopia eletrônica de varredura dos dentes de Ninia sebae. Figura 40. Microscopia eletrônica de varredura dos dentes de Dipsas albifrons Figura 41. Microscopia eletrônica de varredura dos dentes de Dipsas indica. Figura 42. Microscopia eletrônica de varredura dos dentes de Sibynomorphus mikanii. Figura 43. Microscopia eletrônica de varredura dos dentes de Sibynomorphus neuwiedi. Figura 44. Microscopia eletrônica de varredura dos dentes de Sibon nebulatus. Figura 45. Microscopia eletrônica de varredura dos dentes maxilares de Leptodeira annulata. Figura 46. Microscopia eletrônica de varredura dos dentes de Leptodeira annulata. Figura 47. Microscopia eletrônica de varredura dos dentes maxilares de Imantodes cenchoa. Figura 48. Microscopia eletrônica de varredura dos dentes de Imantodes cenchoa. Figura 49. Microscopia eletrônica de varredura dos dentes de Tomodon dorsatus. Figura 50. Microscopia eletrônica de varredura dos dentes de *Tomodon dorsatus*. Figura 51. Otimizações dos estados de caráter "dentes alargados na região posterior do maxilar".

## LISTA DE ABREVIATURAS

- aem2 músculo adductor mandibulae externus medialis, pars posterior
- aep músculo adductor mandibulae externus profundus
- aes músculo adductor mandibulae externus superficialis
- **an** angular
- ap.aes aponeurose do músculo adductor mandibulae externus superficialis
- **ca** cristas auxiliares
- **cn** cavidade nasal
- **co** cavidade oral
- $\mathbf{cp}-\mathbf{composto}$
- **d** dentário
- dgD duto da glândula de Duvernoy
- dgH duto da glândula de Harder
- dgsl duto da glândula sublingual
- dil1 duto da porção lateral da glândula infralabial
- dil2 duto da porção ventromedial da glândula infralabial
- dJo duto do órgão de Jacobson
- dl duto lacrimal
- dsl duto da glândula supralabial
- **du** duto
- ec espaço conjuntival
- ect ectopterigóide
- eil escama infralabial
- en epitélio nasal
- eo epitélio oral
- er epitélio respiratório
- $\mathbf{f} \mathrm{frontal}$
- **gD** glândula de Duvernoy
- gh glândula de Harder
- gjn glândula juxtanarinal
- gn glândula nasal
- gpm glândula pré-maxilar
- gr glândula rictal
- gsl glândula sublingual
- iaa músculo intermandibular anterior pars anterior
- il glândula infralabial
- il1 porção lateral da glândula infralabial
- il2 porção ventrolateral da glândula infralabial
- ipp músculo intermandibularis posterior, pars posterior
- Jo órgão de Jacobson

l – língua lao – músculo levator anguli oris ld – lâmina dental lqm – ligamento quadrado-maxilar lu – lúmen **m** – células mucosas **mx** – maxilar  $\mathbf{n}$  – nasal  $\mathbf{0} - olho$ pal – palatino pb – parabasisfenóide pfr – pré-frontal pg – pterigoideus pm – processo maxilar **pmx** – pré-maxila po – pós-orbital **pp** – processo palatino pt – pterigóide  $\mathbf{q}$  – quadrado sl – glândula supralabial sm – células seromucosas  $\mathbf{smx} - \mathbf{septomaxila}$ sn – septo nasal

- **sp** esplenial
- st supratemporal
- $\mathbf{t}\mathbf{b} \mathbf{t}\mathbf{u}\mathbf{b}\mathbf{u}\mathbf{l}\mathbf{o}\mathbf{s}$
- tc trabécula
- $\mathbf{v} \mathbf{v}$ ômer

# **SUMÁRIO**

LISTA DE FIGURAS	xiv
LISTA DE ABREVIATURAS	xvi
1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVOS	9
3. MATERIAIS E MÉTODOS	
3.1 Táxons estudados	
3.2 Obtenção e fixação das amostras	
3.3 Morfologia geral	
3.4 Processamento em parafina	12
3.5 Processamento em historresina	
3.6 Métodos de coloração	
3.7 Estudo histoquímico	13
3.8 Fotomicrografias	
3.9 Coloração dos tecidos para observação da musculatura adutora e ossos	
3.10 Estudo por microscopia eletrônica de varredura	14
3.11 Otimização de caracteres	14
3.12 Desenvolvimento embrionário das glândulas labiais de Sibynomorphus mikanii	15
4 - RESULTADOS	
4.1 Descrições das glândulas	
4.2 Descrição da musculatura associada às glândulas infralabiais dos goo-eaters	
4.3 Desenvolvimento embrionário das glândulas labiais de Sibynomorphus mikanii	
4.4 Descrição da dentição	42
5. DISCUSSÃO	
5.1 As glândulas	
5.2 Musculatura associada às glândulas infralabiais dos goo-eaters	62
5.3 Desenvolvimento embrionário das glândulas labiais de Sibynomorphus mikanii	64
5.4 Dentição nos dipsadíneos	
6. CONCLUSÕES	73
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	76
8. FIGURAS	87
Apêndice I	178
Unusual labial glands in snakes of the genus <i>Geophi</i> s Wagler 1830 (Sernentes)	
Dipsadinae)	178
Apêndice II – Lista de material utilizado neste estudo	210
Apêndice III - Listagem com a quantidade de exemplares utilizados	212

## 1. INTRODUÇÃO

As serpentes constituem um clado bem sustentado de lagartos altamente derivados cujas afinidades dentro de Squamata ainda não estão bem esclarecidas (RIEPPEL & ZAHER, 2000; GAUTHIER et al., 2012; WIENS et al., 2012). Atualmente, são reconhecidas entre 24 e 34 famílias de serpentes, com diferenças significativas concentradas na classificação empregada pelos autores para o clado tradicionalmente chamado de Colubroídeos (ZAHER et al., 2009; PYRON et al., 2011; Uetz, 2013). Neste trabalho, a classificação dos colubróideos segue a proposta por Zaher et al. (2009). Nas serpentes são reconhecidas doze glândulas cefálicas, das quais dez são consideradas glândulas orais. As glândulas nasal e de Harder são consideradas não orais, ao passo que as glândulas labiais (infra e supralabiais), as glândulas de veneno e as de Duvernoy figuram entre as glândulas orais mais conhecidas (SMITH & BELLAIRS, 1947; TAUB, 1966). As glândulas de veneno e de Duvernoy sempre foram as que mais despertaram interesses nos pesquisadores, já que são frequentemente relacionadas à produção de toxinas e constituídas por células serosas associadas aos dentes maxilares (TAUB, 1967a, b; KOCHVA, 1987; UNDERWOOD, 1997; VIDAL, 2002; FRY et al., 2003).

A classificação mais usual para as glândulas orais dos répteis está baseada na distinção histoquímica de seus grânulos de secreção, que revelam diferenças em suas propriedades químicas (GABE & SAINT GIRONS, 1969; KOCHVA, 1978; UNDERWOOD, 1997). Por meio das características histoquímicas dos grânulos de secreção, Kochva (1978) reconhece três tipos celulares presentes nestas glândulas: células serosas, com secreção rica em proteínas e PAS negativas; seromucosas, com secreção rica em proteínas e PAS negativas; seromucosas, com secreção rica em proteínas. Embora hajam incertezas com relação aos tipos celulares reconhecidos pelos histologistas e o tipo de secreção produzido por estas células, está claro que as células mucosas secretam mucinas, as quais estão associadas a lubrificação da boca e dos alimentos, enquanto que todas as glândulas de veneno contém células serosas de algum tipo (UNDERWOOD, 1997).

As glândulas de veneno bem como as glândulas de Duvernoy estão presentes somente nas serpentes derivadas (Colubroides *sensu* ZAHER et al., 2009) e, embora sejam consideradas homólogas apresentam inúmeras diferenças morfológicas e funcionais entre si (KARDONG, 2002). Apesar das propostas de sinonimização das glândulas de Duvernoy com as glândulas de veneno (FRY & WÜSTER, 2004), a definição correntemente utilizada aponta

2

que as glândulas de veneno propriamente ditas são encontradas em representantes das famílias Viperidae, Elapidae e Atractaspididae e as glândulas de Duvernoy ocorrem dentre as serpentes Colubroides Endoglyptodonta (*sensu* ZAHER et al., 2009) sem um sistema de liberação de veneno com presas anteriores (rear-fanged) (VIDAL, 2002; KARDONG, 2002; JACKSON, 2003).

As glândulas labiais, por outro lado, parecem ter uma distribuição mais ampla entre as serpentes e já foram localizadas em praticamente todos os grupos ofídicos estudados (HAAS, 1964; TAUB, 1966; UNDERWOOD, 2002; KLEY, 2006). Estas glândulas são geralmente associadas à secreção de muco (portanto, consideradas mucosas), sendo a sua secreção liberada na boca através de pequenos dutos que se abrem ao longo da margem interna dos lábios das serpentes (SMITH & BELLAIRS, 1947; ZAGO, 1971; KOCHVA, 1978; CONTRERA et al., 1983; BACCARI et al., 2002). A glândula de Harder, por sua vez, é uma estrutura encontrada em muitos tetrápodes, incluindo todas as famílias de serpentes (TAUB, 1966; MINUCCI et al., 1992). Na grande maioria das serpentes estudadas, ela é uma glândula seromucosa que se localiza logo atrás dos olhos e, embora sua função não esteja totalmente esclarecida, parece estar associada à lubrificação da órbita e do sistema vomeronasal (SAINT GIRONS, 1982; 1988; REHOREK, 1997; REHOREK et al., 2000).

Dentre o extenso grupo dos répteis, além das serpentes derivadas (Colubroides), somente um pequeno grupo de lagartos dos gêneros *Heloderma*, *Pogona* e *Varanus* são conhecidos por apresentarem um sistema de inoculação de veneno (GABE & GIRONS, 1969; KOCHVA, 1978; FRY et al., 2006). Enquanto nas serpentes, a função venenosa está geralmente associada à região maxilar, nesses lagartos ela é associada à região mandibular, sendo as glândulas mandibulares o local de síntese do veneno (KOCHVA, 1987; UNDERWOOD, 1997; FRY et al., 2006).

Estudos recentes demonstraram que o aparato de veneno das serpentes, constituído pela glândula de veneno ou Duvernoy, sua musculatura e dentição associadas, surgiu no clado Colubroides como uma novidade morfo-funcional responsável pelo sucesso adaptativo que levou à grande irradiação desse grupo, atualmente composto por cerca de 2.500 espécies (VIDAL, 2002; JACKSON, 2003; FRY et al., 2003). A hipótese tradicional que sustentava um cenário evolutivo de aperfeiçoamento linear do sistema venenoso das serpentes a partir dos colubrídeos áglifos, passando pelo estágio opistóglifo para desembocar, sequencialmente ou independentemente, nas condições venenosas proteróglifas e solenóglifas dos elapídeos e viperídeos (BOULENGER, 1896; ANTHONY, 1955; KARDONG, 1980; 1982), foi substituída por uma hipótese mais complexa na qual o aparato de veneno, com exceção do

músculo compressor glandular, constitui uma sinapomorfia do clado Colubroides, sendo a sua redução ou ausência em alguns colubrídeos atuais o resultado de perdas secundárias (SAVITZKY, 1979; UNDERWOOD & KOCHVA, 1993; VIDAL, 2002; JACKSON, 2007). Dentre as discussões acerca da evolução das glândulas orais e do aparelho inoculador de veneno nas serpentes, parece haver um consenso de que a produção de toxinas relaciona-se, de uma maneira geral, à presença de glândulas na maxila, constituídas por células serosas (UNDERWOOD, 1997). Por essa razão, são poucos os estudos que contemplam outras glândulas orais como, por exemplo, as glândulas infralabiais e supralabiais (SALOMÃO & LAPORTA-FERREIRA, 1994; FRY et al., 2006).

Diversas especializações morfológicas e comportamentais são associadas ao hábito alimentar das serpentes (GANS, 1952; POUGH, 1983; POUGH & GROVES, 1983; VORIS & VORIS, 1983). McCarthy (1987) e Gopalakrishnakone & Kochva (1990), por exemplo, demonstraram alterações morfológicas na musculatura do pescoço, escamas labiais, glândulas de veneno e presas em *Aipysurus eydouxii*, uma serpente marinha da família Elapidae. Esses autores associaram estas características ao fato desta serpente alimentar-se de ovos de peixes. Da mesma forma, Li et al. (2005), relataram uma deleção do gene que expressa a *three finger toxin* responsável pela atividade neurotóxica do veneno de *Aipysurus eydouxii*, denotando uma redução na sua toxicidade quando comparada com outras espécies de serpentes do mesmo gênero, e sugerem que tal deleção também esteja associada ao hábito peculiar da serpente de ingerir ovos de peixes. Fry et al. (2008), apontaram para uma tendência à redução na complexidade do sistema de veneno em espécies cujo método de captura do alimento por constrição evoluiu secundariamente, ou cuja dieta tenha sido trocada para ovos, lesmas ou caracóis.

De acordo com Savitzky (1983), o hábito de ingerir caracóis extraindo-os de suas conchas deve se constituir em uma das mudanças mais radicais nas estratégias alimentares das serpentes. A habilidade de retirar moluscos do interior de suas conchas sem quebrá-las pode ser observada em duas linhagens independentes de serpentes, representadas pelos dipsadíneos Neotropicais dos gêneros *Dipsas, Sibon* e *Sibynomorphus* e pelos pareatídeos asiáticos dos gêneros *Aplopeltura* e *Pareas* (SAVITZKY, 1983).

Atualmente, três grandes linhagens de Colubroides são reconhecidas para a região Neotropical. A primeira é representada pelos Colubridae (antiga subfamília Colubrinae), um grupo com distribuição cosmopolita, enquanto que as duas linhagens seguintes são representadas pelos clados Xenodontinae e Dipsadinae pertencentes à família Dipsadidae de serpentes sul e centro-americanas (CADLE, 1984a, 1984b, 1984c; CADLE & GREENE, 1993; ZAHER, 1999; ZAHER et al., 2009). Zaher et al. (2009), baseados em evidências morfológicas e moleculares, reconheceram o monofiletismo da subfamília Dipsadinae, sendo composta por 24 gêneros e mais de 200 espécies de ocorrência restrita ao Novo Mundo, tendo sua maior diversidade na América Central.

Dentro da irradiação dos Dipsadinae (*sensu* ZAHER et al., 2009), destaca-se uma linhagem altamente especializada de serpentes comedoras de invertebrados, especialmente moluscos e anelídeos. Este grupo engloba os gêneros criptozóicos *Atractus*, *Geophis* e *Adelphicos* e os terrestres ou arborícolas, *Ninia*, *Dipsas*, *Sibynomorphus*, *Sibon* e *Tropidodipsas*. Os últimos quatro formam um clado tradicionalmente reconhecido como formando a tribo Dipsadini (PETERS, 1960), sendo todas serpentes comedoras de lesmas e caracóis (CADLE & GREENE, 1993). De acordo com Peters (1960), os dipsadínios se caracterizam pela especialização na alimentação e pelas mudanças corpóreas relacionadas aos hábitos arborícolas. Entretanto, Cadle & Greene (1993) registraram a presença do grupo em um conjunto mais diversificado de hábitats, podendo ter espécies fossórias, terrestres, arborícolas, criptozóicas e aquáticas.

Inúmeros autores apontaram para especializações morfológicas e comportamentais relacionadas ao hábito alimentar dos Dipsadini (BRONGERSMA, 1956; TAUB, 1966; GANS, 1972; LAPORTA-FERREIRA et al., 1988; SAZIMA, 1989; SALOMÃO & LAPORTA-FERREIRA, 1994; ZAHER, 1996; OLIVEIRA et al., 2008). Entretanto, o fato de Geophis, Atractus, Adelphicos e Ninia serem serpentes conhecidas também por se alimentar de invertebrados moles e viscosos (geralmente anelídeos), o grupo como um todo (incluindo a tribo Dipsadini) foi genericamente denominado por Cadle & Greene (1993) como a linhagem dos "goo-eaters". No final do século passado, o monofiletismo dos goo-eaters ainda não estava claramente demonstrado, mas considerava-se que estes formavam dois clados: Geophis, Atractus, Adelphicos e Ninia de um lado, e Sibynomorphus, Sibon e Dipsas de outro (FERRAREZZI, 1994; FERNANDES, 1995; ZAHER, 1999). A esse grupo formado inicialmente por sete gêneros, somaram-se outros posteriormente, como Tropidodipsas, um gênero revalidado por Wallach (1995) para alocar espécies antes reconhecidas dentro do gênero Sibon, Chersodromus, que parece mais proximamente relacionado a Ninia e talvez pertencente ao clado dos goo-eaters (CAMPBELL & SMITH, 1998), Chapinophis (CAMPBELL & SMITH, 1998) e Omoadiphas (KÖHLER et al., 2001), ambos possivelmente relacionados ao clado formado por Geophis, Atractus e Adelphicos (MCCRANIE & CASTAÑEDA, 2004), e ainda Plesiodipsas perijanensis, uma espécie anteriormente reconhecida como pertencente ao gênero Dipsas (HARVEY et al., 2008).

Entretanto, estudos moleculares recentes, ainda deixam dúvidas quanto ao relacionamento filogenético dos dipsadíneos goo-eaters. De acordo com Pyron et al. (2011), o gênero *Adelphicos* seria mais relacionado aos gêneros *Hydromorphus* e *Tretanorhinus*, ambos sendo dipsadíneos piscívoros. Além disso, Pyron et al. (2011) e Grazziotin et al. (2012) sugerem que o gênero *Ninia* esteja mais relacionado aos Dipsadini (gêneros *Dipsas*, *Sibynomorphus, Tropidodipsas* e *Sibon*) do que com os gêneros *Geophis, Atractus* e *Adelphicos*.

As glândulas infralabiais dos dipsadíneos goo-eaters são bem desenvolvidas ao passo que as glândulas de Duvernoy são reduzidas ou ausentes em muitos casos. Já os dentes maxilares são sempre indiferenciados, sem diastema ou dentes posteriores alargados/sulcados (dentição áglifa) (LAPORTA-FERREIRA, 1985; FERNANDES, 1995; OLIVEIRA, 2006; MULCAHY et al., 2011). Por outro lado, nos demais dipsadíneos que se alimentam de vertebrados e, portanto não goo-eaters, a situação pode ser vista como inversamente proporcional, ou seja, as glândulas de Duvernoy são bem desenvolvidas e os dentes maxilares posteriores são muitas vezes diferenciados (dentição opistóglifa), enquanto que as glândulas infralabiais não apresentam alteração de tamanho (FERNANDES, 1995). Os dipsadíneos gooeaters ostentam ainda expressiva variação morfológica nas glândulas de Harder. Em S. mikanii, por exemplo, esta glândula encontra-se bem desenvolvida e tem o formato de ferradura, se estendendo da região pós-orbital até a porção final da glândula infralabial, enquanto que, em algumas espécies de Dipsas, ela é bastante reduzida (FERNANDES, 1995). Muito pouco se conhece sobre a histologia dessas glândulas, o local de abertura dos dutos de secreção e, consequentemente, sua função bem como o significado da ampla variação morfológica encontrada.

De acordo com Gans (1972), o gênero *Dipsas*, é caracterizado pela redução do osso supratemporal, alargamento do osso quadrado, redução do pterigóide e da junção do pterigóide-quadrado, além de outras modificações na mandíbula e no músculo *levator anguli oris*, que se estende anteriormente ao longo de toda a mandíbula. Especializações semelhantes também são relatadas entre os Pareatidae do continente asiático, que têm hábitos alimentares similares aos dos Dipsadini. Brongersma (1956) descreveu características morfológicas relacionadas aos dentes e à arquitetura palato-maxilar em serpentes do gênero *Pareas*, enquanto que Zweifel (1954) comentou sobre o aumento dos dentes do dentário de *Contia tenuis*, uma serpente que se alimenta de lesmas, quando comparados aos dentes de espécies que se alimentam de outros itens alimentares. Haas (1930; 1931; 1938) também descreveu

algumas peculiaridades da musculatura adutora da mandíbula e do *levator anguli oris* em *Dipsas* e *Sibynomorphus*, relacionando-as ao hábito alimentar especializado do grupo.

A tendência dos dipsadíneos goo-eaters à alimentação baseada em presas invertebradas, além de estar refletida em uma série de adaptações morfológicas e comportamentais, é também associada à composição da secreção produzida pelas glândulas infralabiais (DUNN, 1951; LAPORTA-FERREIRA et al., 1988; SALOMÃO & LAPORTA-FERREIRA, 1994; OLIVEIRA et al., 2006). Laporta-Ferreira & Salomão (1991), por exemplo, estudando a morfologia, fisiologia e toxicologia das glândulas orais de *Sibynomorphus neuwiedi*, observaram um possível mecanismo de secreção de veneno associado à mandíbula e relacionado às glândulas infralabiais. Essas autoras notaram que as glândulas de Duvernoy são reduzidas ao passo que as infralabiais, com canais secretores direcionados para a região rostral, são aumentadas, tanto em tamanho quanto em teor proteico. Zaher (1996), por sua vez, relatou, em *Dipsas neivai* (= *Dipsas variegata*), a presença de dutos (canais) excretores hipertrofiados que se ligam à metade anterior das glândulas infralabiais, conduzindo a secreção "venenosa" à mandíbula. Além disso, ele relatou a existência de fibras musculares associadas a essas glândulas que poderiam desempenhar a função de compressão das glândulas no momento da liberação da secreção.

Oliveira (2006) observou que em *Dipsas indica* e *Sibynomorphus mikanii*, as glândulas infralabiais são divididas em duas porções, sendo que a porção mais desenvolvida está localizada ao longo dos ossos dentário e composto, enquanto que a porção mais delgada, quase que imperceptível em dissecações, estende-se ao longo do lábio da serpente, logo abaixo das escamas infralabiais. Em *D. indica*, a glândula infralabial é composta predominantemente por células mucosas arranjadas em túbulos, enquanto que os ácinos, constituídos por células seromucosas, estão restritos à região posterior, na periferia da glândula. Em *S. mikanii*, a porção mais desenvolvida da glândula infralabial é constituída por epitélio simples, com células seromucosas organizadas em ácinos, enquanto que as células mucosas estão restritas ao epitélio de revestimento dos dutos (OLIVEIRA et al., 2008). Tais características foram relacionadas ao tipo de alimentação dessas serpentes, que ingerem presas invertebradas (principalmente moluscos e anelídeos).

A hipertrofia das glândulas infralabiais, a presença das células seromucosas e dutos voltados para a região anterior da boca, bem como a associação dessas glândulas com a musculatura adjacente, sugerem funções adicionais para a secreção dessas glândulas, além da simples lubrificação dos alimentos, e apontam para a aquisição de um "novo sistema de liberação da secreção" associado às glândulas infralabiais, como previamente relatado por

Zaher (1996).

Nesse sentido, o presente estudo teve como objetivo realizar um estudo comparativo acerca da morfologia geral, histologia e histoquímica das principais glândulas cefálicas (infralabiais, supralabiais, Duvernoy e de Harder), bem como da musculatura associada às glândulas infralabiais em diversas espécies de serpentes representativas dos dipsadíneos gooeaters. Para efeito das comparações foram estudadas espécies de serpentes representativas dos dipsadíneos não goo-eaters (que se alimentam de vertebrados). Além disso, através da microscopia eletrônica de varredura, estudou-se a morfologia dos dentes maxilares e do dentário em espécies representativas dos dipsadíneos. Este estudo teve como objetivo elucidar detalhes da superfície dos dentes, uma vez que nas serpentes a morfologia dentária é frequentemente associada à especializações da dieta (SAVITZKY, 1981; VAETH et al., 1985; JACKSON & FRITTS, 2004). O critério de seleção das espécies seguiu o critério taxonômico, bem como a disponibilidade dos diferentes gêneros nas coleções científicas, procurando abranger o maior número possível de gêneros disponíveis de serpentes dipsadíneas. Estudou-se também para efeito de comparações Tomodon dorsatus, uma espécie de serpente malacófaga pertencente à subfamília Xenodontinae, e cuja dieta parece restrita ao mesmo tipo de lesmas consumidas pelos dipsadíneos malacófagos (BIZERRA, 1998; BIZERRA et al., 2005; Zaher et al., 2009). Embora o foco deste estudo tenha sido as especializações morfológicas das serpentes dipsadíneas associadas à ingestão de suas presas, a inclusão de Tomodon dorsatus neste estudo teve por objetivo verificar algum tipo de convergência entre os dois grupos de serpentes que pudesse estar relacionada com a ingestão do mesmo tipo de presa.

Durante o desenvolvimento do projeto de doutorado tive acesso a uma postura de quatro ovos de *Sibynomorphus mikanii*, os quais permitiram a realização de um estudo acerca do desenvolvimento embrionário das glândulas labiais desta espécie. Este estudo teve como principal objetivo elucidar os processos de desenvolvimento que originam o padrão morfológico distinto verificado nas glândulas infralabiais dos indivíduos adultos pertencentes aos gêneros *Dipsas* e *Sibynomorphus*.

A morfologia das glândulas labiais (particularmente da infralabial) verificada nas serpentes do gênero *Geophis* se mostrou tão distinta dos demais gêneros de dipsadíneos, que foi necessária a elaboração de um manuscrito à parte, visando descrever principalmente a divisão da glândula infralabial em duas partes, a presença de um lúmen alargado no interior de uma dessas partes, assim como a associação da glândula com a musculatura adjacente. Este manuscrito (Apêndice I) foi submetido para o periódico Journal of Morphology, como parte

dos requisitos para o exame geral de qualificação e se encontra atualmente na fase final de correções após as críticas e sugestões dos revisores do periódico.

Deste modo, os resultados da tese estão estruturados da seguinte maneira: descrição das glândulas orais, onde são abordados separadamente a morfologia geral e, na sequência, histologia e histoquímica de cada uma das glândulas estudadas (glândulas infralabiais, supralabiais, Duvernoy e de Harder). Neste tópico, deu-se ênfase ao estudo das glândulas labiais e de Duvernoy, uma vez que, por se tratarem de glândulas orais esperou-se uma fonte maior de variação morfológica e com estreita associação com a dieta das serpentes; descrição da musculatura associada às glândulas infralabiais; desenvolvimento embrionário das glândulas labiais em *Sibynomorphus mikanii*; e por último, descrição da dentição, onde a morfologia dos dentes maxilares e do dentário é revelada através da microscopia eletrônica de varredura.

A morfologia e a histoquímica das glândulas foram relacionadas aos diferentes hábitos alimentares e se procurou identificar os estados ancestrais de alguns dos caracteres relacionados às glândulas orais e dentição maxilar das serpentes dipsadíneas. O estudo morfológico das glândulas aprofunda o nosso conhecimento acerca de um novo sistema de liberação da secreção presente nas glândulas infralabiais das serpentes goo-eaters e descrito de forma preliminar por Zaher (1996), e deve contribuir para elucidar alguns aspectos importantes da evolução do aparato glandular nas serpentes. O estudo histoquímico da secreção das glândulas pode também indicar novos horizontes para as pesquisas com secreção das glândulas orais e, futuramente, fornecer informações acerca das substâncias utilizadas pelas serpentes goo-eaters na contenção e/ou manipulação de suas presas. A seguir são descritos os objetivos específicos de cada um dos tópicos abordados na tese. A listagem completa das serpentes utilizadas bem como os diferentes métodos aplicados em cada uma delas encontram-se no Apêndice II e III.

### 2. OBJETIVOS

- Realizar um estudo comparativo acerca da anatomia e histologia das principais glândulas cefálicas (infralabiais, supralabiais, Duvernoy, Harder), anatômico da musculatura associada às glândulas infralabiais e ultraestrutural da superfície dos dentes maxilares e dentários dos dipsadíneos goo-eaters, utilizando para efeitos de comparação serpentes dipsadíneas que se alimentam de vertebrados;
- Descrever a morfologia do "novo sistema de liberação da secreção" encontrado nas glândulas infralabiais dos dipsadíneos goo-eaters;
- Relacionar a morfologia dessas estruturas e a histoquímica da secreção das glândulas com a especialização ao hábito alimentar;
- Descrever o desenvolvimento embrionário das glândulas labiais em *Sibynomorphus* mikanii;
- Reconstruir os estados ancestrais de caracteres relativos às glândulas cefálicas e musculatura associada às glândulas infralabiais;

## **3. MATERIAIS E MÉTODOS**

#### 3.1 Táxons estudados

Neste trabalho foram estudadas as seguintes espécies de serpentes representativas dos dipsadíneos goo-eaters: Adelphicos quadrivirgatum, Atractus reticulatus, A. pantostictus, A. zebrinus, Chersodromus liebmanni, Dipsas albifrons, D. bucephala, D. indica, D. neivai (= Dipsas variegata), Geophis brachycephalus, G. nasalis, G. semidoliatus, Ninia atrata, N. hudsoni, N. sebae, Sibon nebulatus, Sibynomorphus mikanii, S. neuwiedi e Tropidodipsas sartorii. Além destas, foram examinadas as seguintes espécies de dipsadíneos que se alimentam de vertebrados: Coniophanes fissidens, Hypsiglena torquata, Imantodes cenchoa, Leptodeira annulata, Rhadinaea decorata, R. hannsteini, R. montecristi, Tretanorhinus variabilis, Trimetopon plioleps e Urotheca elapoides. Estudou-se também para efeito de comparações Tomodon dorsatus, uma espécie de serpente malacófaga pertencente à subfamília Xenodontinae, e cuja dieta parece restrita ao mesmo tipo de lesmas consumidas pelos dipsadíneos malacófagos (BIZERRA, 1998; BIZERRA et al., 2005; Zaher et al., 2009).

Foram utilizadas serpentes preservadas provenientes de coleções científicas bem como exemplares frescos obtidos através de coletas em campo e da Recepção de Serpentes do Laboratório de Herpetologia do Instituto Butantan. Os espécimes preservados foram provenientes das seguintes instituições:

Instituto Butantan, São Paulo (IBSP);

Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo, São Paulo (MZUSP);

Smithsonian Institution, National Museum of Natural History, Washington (USNM);

Museum of Vertebrate Zoology, University of California, Berkeley (MVZ);

Natural History Museum, The University of Kansas, Lawrence (KU).

A lista completa com as descrições dos espécimes analisados e as diferentes técnicas aplicadas em cada um deles consta no Apêndice II e III.

#### 3.2 Obtenção e fixação das amostras

Espécimes provenientes das coleções científicas tiveram a pele da região cefálica cuidadosamente dissecada sob um esteromicroscópio. As cabeças previamente dissecadas foram então removidas dos espécimes no nível da primeira vértebra cervical e os espécimes

juntamente com a pele da região cefálica foram retornados para os jarros nas respectivas coleções. Este procedimento visou à máxima preservação das escamas cefálicas para estudos taxonômicos futuros. O método e as condições utilizadas na fixação destes espécimes foram na maioria das vezes desconhecido, não sendo possível precisar por quanto tempo eles foram mantidos em solução de fixação, ou se foram fixados em formalina ou diretamente no álcool. Todas as serpentes provenientes das coleções científicas, entretanto, foram pós-fixadas com Bouin, um procedimento que além de tornar o material mais rígido e facilitar a manipulação nas etapas seguintes do processamento, resultou em uma melhor coloração com tricrômio, conforme previamente observado por Underwood (2002).

As serpentes provenientes de coletas em campo e da Recepção de Serpentes do Laboratório de Herpetologia do Instituto Butantan foram fixadas com Bouin por um período não superior a 24 horas e as cabeças foram removidas sem a prévia dissecção da pele da região cefálica. Após a coleta das cabeças estas serpentes foram tombadas nas coleções científicas.

Após terem sido coletadas e fixadas, as cabeças destas serpentes foram mantidas em solução aquosa de EDTA a 4,13%, pH 7.2 em agitação constante durante um período de 2 meses, para a total descalcificação dos ossos. Após esse período procedeu-se o processamento histológico em parafina ou historresina de acordo com o que se segue:

### 3.3 Morfologia geral

Após a remoção da pele da região cefálica, os espécimes foram analisados e fotografados sob um estereomicroscópio Leica M205A equipado com uma câmara digital Leica DFC 425, utilizando o software Leica LAS Core versão 3.8 do Laboratório de Herpetologia do Museu de Zoologia da USP. Desenhos esquemáticos das glândulas orais e musculatura superficial também foram realizados em um estereomicroscópio Nikon modelo SMZ1500 equipado com câmara clara. A terminologia utilizada para as glândulas seguiu Taub (1966), Kochva (1978) e Underwood (2002). A terminologia para os músculos *adductores externi* ainda permanece em disputa entre os autores (ver RIEPPEL, 1980; MCDOWELL, 1986; ZAHER 1994a, b). Neste trabalho foi seguida a proposta de Zaher (1994b, 1997). Para as descrições da morfologia geral das glândulas e musculatura associada foram utilizados tanto observações macroscópicas, quanto cortes histológicos gerais das cabeças, os quais serviram de base para as interpretações da morfologia geral.

#### 3.4 Processamento em parafina

As cabeças inteiras fixadas ou pós-fixadas (quando se tratava de material proveniente de coleções científicas) foram processadas e incluídas em parafina de acordo com o seguinte protocolo:

- 1. Desidratação em série alcoólica (70%, 95% e 100%);
- 2. Diafanização em xilol, em três trocas de 1 hora cada;
- 3. Impregnação em parafina, "overnight", em estufa a 60°C;
- 4. Inclusão em parafina, previamente colocada em moldes de papel, e deixada à temperatura ambiente para solidificação.

Antes da inclusão em parafina, entretano, as cabeças dos espécimes mais raros foram divididas em duas metades, sendo que uma das metades foi orientada para cortes sagitais e a outra para cortes transversais. Esta medida foi necessária devido à excassez do material disponível para o estudo histológico. Para as espécies com um maior número de indivíduos disponíveis, entretanto, procurou-se utilizar cabeças inteiras para os cortes transversais, enquanto que os cortes sagitais puderam ser feitos em mais de uma orientação, o que poderá ser observado ao longo dos resultados.

Seguiu-se com a trimagem dos blocos e a obtenção de cortes de 6-7 µm de espessura, para a análise morfológica. Os cortes foram obtidos em micrótomo Microm HM 340-E utilizando-se navalhas de aço descartáveis e coletados em lâminas de vidro previamente untadas com albumina de Mayer.

#### 3.5 Processamento em historresina

As glândulas inteiras foram processadas e incluídas em historresina Leica, de acordo com o seguinte protocolo:

- 1. Desidratação gradual em etanol: 70%, 95% e 100%;
- 2. Inclusão orientada em historresina (Technovit ou Reichert-Jung).

O material foi incluído para cortes sagitais ou transversais e cortado na espessura de 3 µm em um micrótomo Microm HM 340-E utilizando-se navalhas de vidro de 8 ou 10 mm. Estes cortes foram coletados em lâminas de vidro e utilizados para a realização do estudo geral dos tecidos e das reações histoquímicas.

#### 3.6 Métodos de coloração

As amostras incluídas em historresina foram submetidas ao método de coloração azul de toluidina-fucsina (T/F) (JUNQUEIRA, 1995), para estudo geral dos tecidos. As amostras incluídas em parafina foram submetidas aos métodos de coloração hematoxilina-eosina (H/E), para estudo geral dos tecidos e Tricrômio de Mallory (JUNQUEIRA et al., 1979) para identificação de fibras colágenas e fibras musculares ou de origem epitelial.

#### 3.7 Estudo histoquímico

Este estudo teve por finalidade um primeiro reconhecimento da natureza química das secreções contidas nas glândulas a serem estudadas. Foram realizadas as seguintes reações (ou colorações) histoquímicas (segundo BANCROFT & STEVENS, 1996):

1. Ácido periódico-Schiff (PAS) – para a identificação de carboidratos de uma maneira geral;

2. Alcian blue, pH 2.5 – para a identificação de glicosaminoglicanos ácidos;

3. Azul de bromofenol – para indicar a presença de proteínas de uma maneira geral;

4. Reação conjugada do alcian blue, pH 2.5 e PAS – para a identificação simultânea de carboidratos neutros e glicosaminoglicanos ácidos.

#### 3.8 Fotomicrografias

As fotomicrografias foram obtidas a partir de um microscópio modelo Leica DM 2500 e um estereomicroscópio Leica M205A, ambos equipados com câmeras digitais modelo Leica DFC 425 utilizando o software Leica LAS Core versão 3.8 do Laboratório de Herpetologia do Museu de Zoologia da USP para a captura e processamento das imagens.

#### 3.9 Coloração dos tecidos para observação da musculatura adutora e ossos

Para o estudo das relações entre as glândulas orais e a musculatura adjacente, bem como para as observações macroscópicas dos ossos, cabeças inteiras de serpentes foram submetidas a uma solução saturada de alcian blue (em 08 partes de álcool para 02 partes de ácido acético). As cabeças foram mantidas nesta solução por um período de 24 (vinte e quatro) horas. Logo após foram neutralizadas em álcool absoluto por 01 (um) dia e

submetidas à ação do vermelho de alizarina diluído em álcool 75% até a completa coloração dos tecidos.

#### 3.10 Estudo por microscopia eletrônica de varredura

Cabeças das seguintes espécies de serpentes (*Atractus pantostictus*, *Adelphicos quadrivirgatum*, *Geophis nasalis*, *Ninia atrata*, *N. sebae*, *Dipsas albifrons*, *D. indica*, *Sibynomorphus mikanii*, *S. neuwiedi*, *Sibon nebulatus*, *Leptodeira annulata*, *Imantodes cenchoa* e *Tomodon dorsatus*) tiveram a pele da região cefálica removida com o auxílio de um microscópio estereoscópico. Posteriormente, os ossos dentário e maxilar foram removidos juntamente com os seus respectivos dentes. Somente *Atractus pantostictus* e *Leptodeira annulata* tiveram os ossos pterigoide e palatino, além do maxilar e dentário analisados. Tecidos moles aderidos a esses ossos foram removidos manualmente com o auxílio de um pinça e seguiu-se o processamento para microscopia eletrônica de varredura de acordo com o protocolo que se segue:

1. Desidratar em série alcoólica até o etanol 100%;

2. Desidratar o material em Acetona;

3. Montar o material sobre suporte de latão, utilizando fita adesiva dupla face e cola de prata;

4. Recobrir o material com carbono por evaporação em alto vácuo;

5. Recobrir o material com ouro no aparelho de "sputtering";

6. Exame do material em microscópio eletrônico de varredura (modelo LEO 440) do Laboratório de microscopia eletrônica do Museu de Zoologia da USP.

A terminologia utilizada para a dentição seguiu Wright et al. (1979) e Vaeth et al. (1985).

#### 3.11 Otimização de caracteres

Para a reconstrução dos estados ancestrais de determinados caracteres foi utilizado o pacote do software "Mesquite" (v. 2.75 build 564) (MADDISON & MADDISON, 2011). Para tanto, utilizou-se a proposta filogenética de Zaher et al. (manuscrito em preparação) resumida para representar apenas os táxons que foram estudados no presente trabalho. Apesar de representar uma estratégia reducionista que pode ser vista como problemática no sentido de não corresponder à diversidade conhecida do grupo, esta abordagem permitiu dar ênfase

aos resultados apresentados aqui. A expansão para os demais gêneros e espécies de dipsadíneos não contemplados aqui deverá se fazer paulatinamente através de estudos comparativos mais amplos no grupo, representando também um teste direto das hipóteses evolutivas avançadas aqui. Desta forma, os gêneros e espécies presentes na árvore de Zaher et al. (manuscrito em preparação) foram reduzidos aos táxons analisados no presente estudo. Foi utilizada a reconstrução por meio da parcimônia.

#### 3.12 Desenvolvimento embrionário das glândulas labiais de Sibynomorphus mikanii

A postura de uma ninhada de quatro ovos de *S. mikanii* ocorreu no dia 05 de dezembro de 2010. Logo após a postura, os ovos foram acondicionados em um recipiente plástico contendo vermiculita. A temperatura e umidade de incubação não foram controladas, variando de acordo com o ambiente, e a ninhada foi observada diariamente para o controle da umidade. Em intervalos de 10, 25, 32 e 41 dias após a ovipostura foi aberto um ovo e sacrificado o seu embrião. Cada embrião foi fixado com uma solução de formalina 5% durante dois dias e posteriormente transferido para uma solução de álcool 70%.

As características morfológicas externas do embrião foram observadas com auxílio do estereomicróscopio Nikon (modelo SMZ1500) e cada estágio de desenvolvimento foi categorizado de acordo com a tabela de desenvolvimento previamente estabelecida para *Thamnophis sirtalis sirtalis* (ZEHR, 1962). Os embriões foram então fotografados e o comprimento total do corpo e da cabeça foi aferido sob um estereomicroscópio Leica M205A, equipado com uma câmara digital Leica DFC 425 e um software Leica LAS Core versão 3.8 do Laboratório de Herpetologia do Museu de Zoologia da USP para a captura das imagens e morfometria.

Após as observações e registros da morfologia externa, as cabeças dos embriões foram removidas na altura das primeiras vértebras, desidratadas e incluídas em parafina para o estudo histológico e histoquímico. Antes da inclusão em parafina, todas as cabeças, com exceção do embrião do primeiro estágio (10 dias após a ovipostura), foram divididas sagitalmente em duas metades. Cortes histológicos seriados de 10 µm foram obtidos em um micrótomo Microm HM 340-E usando navalhas de aço descartáveis e foram preparados em secções sagitais a partir de uma metade da cabeça e transversais a partir da outra metade, o embrião do primeiro estágio foi preparado somente com cortes histológicos seriados transversais da cabeça. Para o estudo geral dos tecidos, os cortes foram corados com hematoxilina-eosina e procedeu-se com as seguintes reações histoquímicas, de acordo com

Bancroft e Stevens (1996): ácido periódico de (PAS), alcian blue, pH 2.5 e método conjugado do PAS e alcian blue pH 2.5 (PEARSE, 1985; KIERNAN, 2001), para a identificação de muco substâncias neutras (PAS) e ácidas (alcian blue).

O desenvolvimento embrionário das glândulas labiais (supra e infralabiais) foi categorizado dentro dos quatro estágios de desenvolvimento estabelecidos de acordo com a sua morfogênese. Um embrião foi usado para cada estágio. Os critérios examinados através dos quatro estágios de desenvolvimento foram morfologia e positividade às reações histoquímicas do alcian blue pH 2.5 e PAS.

Todos os embriões, bem como suas respectivas séries de lâminas histológicas das cabeças foram depositados na Coleção do Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo (MZUSP).

#### 4 - RESULTADOS

#### 4.1 Descrições das glândulas

#### 4.1.1 Glândulas infralabiais

<u>Morfologia geral</u>. As glândulas infralabiais localizam-se na porção lateral da cabeça, sob as escamas infralabiais estendendo-se ao longo da mandíbula, desde a porção anterior do dentário até a porção anterior do osso composto. Nas espécies analisadas dos gêneros *Dipsas* e *Sibynomorphus*, bem como em *Geophis* (ver Apêndice I), estas glândulas são divididas em duas porções, ao passo que em todos os demais gêneros de dipsadíneos estudados elas são constituídas por um único corpo glandular. Em todas as espécies estudadas, entretanto, as glândulas infralabiais são bem desenvolvidas, apresentando características particulares descritas em maiores detalhes a seguir:

Nos espécimes analisados de Atractus reticulatus, as glândulas infralabiais são esbranquiçadas, não havendo alterações na coloração ao longo de toda a sua extensão. As glândulas medem cerca de 6 mm de comprimento por 2 mm de largura e apresentam dois afilamentos, um na região anterior e outro na posterior (Fig. 1A). A maioria das fibras do músculo levator anguli oris estão direcionadas para a glândula e se associam à cápsula de tecido conjuntivo na sua superfície póstero-dorsal (Figs. 1B, C, D). Em A. pantostictus, por outro lado, a glândula infralabial apresenta diferenças na sua coloração, sendo esbranquiçada ao longo de praticamente toda a sua extensão, e opaca na sua porção posterior. Esta diferença na coloração reflete provavelmente diferenças histoquímicas observadas nos grânulos de secreção no interior das células, que serão descritas em maiores detalhes no tópico histologia e histoquímica (ver adiante). Fibras do músculo levator anguli oris se estendem desde a região posterior do osso pós-ocular, contornando a região do ângulo da boca e se inserindo na cápsula de tecido conjuntivo ao longo da superfície póstero-dorsal da glândula (Fig. 2D). Fibras de outros dois conjuntos musculares também foram observadas em contato com a cápsula de tecido conjuntivo ao redor da glândula infralabial. As fibras musculares do adductor mandibulae externus medialis se direcionam para a superfície pósterodorsal da glândula, enquanto que as fibras do *intermandibularis posterior, pars posterior* se direcionam para a superfície póstero-ventral (Figs. 2B, C, respectivamente).

Em *Adelphicos quadrivirgatum*, a glândula infralabial mostrou ser esbranquiçada e levemente afilada, tanto na sua extremidade anterior quanto na posterior (Figs. 4A, B). Fibras do músculo *levator anguli oris* estão associadas à cápsula de tecido conjuntivo na superfície póstero-dorsal da glândula (Figs. 4B, C, D). Em *Chersodromus liebmanni*, a glândula infralabial é amarelada, da mesma forma que a glândula supralabial (Fig. 5A). Fibras do músculo *levator anguli oris* passam medialmente à glândula infralabial se inserindo diretamente no osso composto, não sendo observada a sua inserção na cápsula de tecido conjuntivo ao redor da glândula infralabial (Figs. 5C, E).

Em *Ninia hudsoni*, a glândula infralabial não apresenta diferenças marcantes na coloração ao longo de toda a sua extensão. Fibras do músculo *levator anguli oris* se associam à cápsula de tecido conjuntivo na superfície póstero-dorsal da glândula (Figs. 6B inserto, 6D, E). Em *N. sebae*, a glândula infralabial é esbranquiçada, mas assim como relatado para *N. hudsoni*, também não apresenta diferenças marcantes na coloração ao longo de toda a sua extensão. Nesta espécie, entretanto, não foram observadas fibras do músculo *levator anguli oris* associadas à cápsula de tecido conjuntivo da glândula. Na região posterior da glândula infralabial, as fibras musculares do *levator anguli oris* passam medialmente à glândula, se inserindo diretamente no osso composto (Figs. 7G, H).

Nas espécies dos gêneros *Dipsas* e *Sibynomorphus*, as glândulas infralabiais apresentam uma nítida subdivisão em duas porções: a porção lateral e mais afilada – aqui chamada de il1, que se estende ao longo do lábio logo abaixo das escamas infralabiais, desde a região anterior da boca, próxima à extremidade anterior do dentário até o nível do canto da boca; e a porção ventromedial – aqui chamada de il2, uma porção mais alargada que se estende ao longo da superfície lateral da mandíbula (Figs. 9A, B, C; 10C; 13A, D, E). Estas duas porções se conectam na região anterior da boca, sendo difícil estabelecer macroscopicamente uma distinção entre ambas (Fig. 13A). Nas espécies dos gêneros *Dipsas* e *Sibynomorphus* analisadas neste estudo, o epitélio do assoalho da boca se mostrou modificado e aparentemente único em ter um par de aberturas próximas ao nível da extremidade anterior do dentário (Figs. 14B, D). Estas aberturas estão conectadas ao duto longitudinal da il2, como revelado pelos
cortes histológicos seriados das cabeças, e descritas em maiores detalhes ao longo das descrições histológicas (ver adiante).

Em Dipsas indica, a il2 mostrou ser esbranquiçada, fina e alongada, medindo 16 mm de comprimento por 1,7 mm de largura e ocupando cerca de 70% do comprimento total da cabeça. Esta porção da glândula dispõe-se ao longo da face externa dos ossos dentário e composto, se arranjando logo abaixo do músculo levator anguli oris, o qual se apresenta bem desenvolvido em todas as espécies de Dipsas analisadas neste estudo (Figs. 9B, C; 10C; 11B). A il1 é bastante delgada, com coloração opaca e quase que imperceptível em dissecações. Ela se estende ao longo de todo o lábio da serpente, logo abaixo das escamas infralabiais (Figs. 9A, B, C). Em D. albifrons, a glândula infralabial apresenta as mesmas características descritas para D. indica, entretanto, a il2 apresenta diferenças na sua coloração entre a região anterior e posterior. A porção anterior da glândula é opaca, enquanto que a região posterior mostrou ser esbranquiçada. Esta variação na coloração deve refletir as diferenças histológicas e histoquímicas encontradas nos tipos celulares ao longo da glândula, conforme descrito no item histologia e histoquímica (ver adiante). Em D. neivai, a glândula infralabial se encontra envolta tanto pelas fibras do músculo intermandibularis posterior, pars posterior, quanto pelas fibras do levator anguli oris. Fibras do músculo intermandibularis posterior, pars posterior estão associadas à cápsula de tecido conjuntivo na superfície póstero-ventral da il2 (Figs. 11A, B, C), enquanto que as fibras do levator anguli oris estão associadas à superfície póstero-dorsal da glândula (Figs. 11B, D). Fibras do levator anguli oris passam lateralmente à cápsula de tecido conjuntivo ao redor da il1 (Fig. 11B).

Em Sibynomorphus mikanii, a il2 é esbranquiçada, medindo 7 mm de comprimento, por 1,5 mm de largura, ocupando cerca de 70% do comprimento total da cabeça (Figs. 13A, B). A il1 é levemente opaca e se apresenta como um ramo fino e alongado que se estende ao longo de toda a borda do lábio, sob a face interna das escamas infralabiais (Figs. 13B, E). Ambas as porções glandulares estão conectadas na região anterior da boca, próximo à extremidade anterior do osso dentário (Fig. 13A). Fibras do músculo *levator anguli oris* se estendem ao longo de toda a mandíbula e ocupam a região entre as duas porções glandulares, embora não tenha sido observada nenhuma associação entre as fibras musculares e a cápsula de tecido conjuntivo em nenhuma das duas porções glandulares (Fig. 13E). Em *S. neuwiedi*, a glândula infralabial apresenta características semelhantes às descritas para *S. mikanii*. As duas espécies do gênero *Sibynomorphus* estudadas, no entanto, apresentam a il1 mais

desenvolvida do que aquelas observadas em espécies do gênero *Dipsas* (Figs. 9C; 10C; 13D, E; 15B).

Em Sibon nebulatus, a glândula infralabial é levemente esbranquiçada e não mostrou ser dividida em duas porções, como observado nas espécies dos gêneros *Dipsas* e Sibynomorphus. Nesta espécie, a glândula infralabial se estende ao longo da face externa dos ossos dentário e composto e recebe fibras do músculo *levator anguli* oris que se associam à cápsula de tecido conjuntivo na superfície póstero-dorsal da glândula (Figs. 16A, H). Em *Tropidodipsas sartorii*, a glândula infralabial apresenta diferenças na sua coloração, sendo esbranquiçada na região anterior e posterior e opaca na região mediana (Fig. 17B). A glândula é alargada e se estende ao longo de toda a região mandibular (Figs. 17A, B). Fibras do músculo *levator anguli oris* estão associadas à cápsula de tecido conjuntivo na superfície dorsal da glândula, embora a região de contato do músculo com a glândula tenha sido mais anterior do que aquela observada em *Sibon nebulatus*.

Em Leptodeira annulata e Imantodes cenchoa, as glândulas infralabiais se estendem sob as escamas infralabiais ao longo da superfície lateral dos ossos dentário e composto, desde a região anterior da boca, na extremidade anterior do dentário, até o nível do canto da boca, e não se observa nenhuma associação entre essas glândulas e a musculatura adjacente (Figs. 18A, D; 19A, B). Em *Coniophanes fissidens* e *Urotheca elapoides*, bem como nas demais espécies de dipsadíneos que se alimentam de vertebrados, as glândulas infralabiais apresentam características semelhantes às observadas em *Leptoderia annulata* e *Imantodes cenchoa*. Estas glândulas exibem uma coloração opaca e parecida com a verificada nas glândulas supralabiais, conforme demonstrado em *C. fissidens* (Fig. 20A).

Em *Tomodon dorsatus*, a glândula infralabial também apresenta características semelhantes às descritas para *L. annulata* e *I. cenchoa*. Não foram observadas fibras musculares associadas à cápsula de tecido conjuntivo ao redor da glândula. Quando coradas pelo vermelho de alizarina e pelo alcian blue, as glândulas infralabiais de *T. dorsatus* apresentam uma maior predominância de lóbulos alcian blue positivos na região dorsal da glândula, próximos ao epitélio oral (Fig. 24A).

<u>Histologia e histoquímica</u>. As glândulas infralabiais são compostas basicamente pela porção secretora e pelos dutos que se ramificam pelo seu interior. Estas glândulas são envoltas por uma fina camada de tecido conjuntivo que emite septos para o seu interior,

subdividindo o corpo glandular em lóbulos e envolvendo os ácinos e os dutos. As principais diferenças histológicas observadas nestas glândulas relacionam-se ao sistema de dutos e aos tipos celulares que as compõem, o que reflete diretamente a composição histoquímica das células. Abaixo são descritas as principais características histológicas e histoquímicas verificadas nessas glândulas.

Em Atractus reticulatus, os ácinos no interior das glândulas infralabiais são constituídos por epitélio simples, compostos por células mucosas e seromucosas. As células mucosas são mais abundantes e apresentam núcleo achatado, localizado na região basal e citoplasma repleto de grânulos de secreção (Figs. 1E, F). Foram observados dois tipos de células mucosas, os quais podem ser distinguidos pelas características dos seus grânulos de secreção. O primeiro tipo apresenta grânulos fortemente corados pela reação conjugada do alcian blue, pH 2.5 e PAS, enquanto que o segundo mostra grânulos medianamente corados por esta reação (Fig. 1F). As células seromucosas são encontradas com maior frequência na periferia da glândula (Fig. 1G). Estas células apresentam núcleo arredondado, localizado na região basal e citoplasma denso, conforme descrito por Oliveira et al. (2008). Os dutos no interior da glândula se mostram revestidos por células mucosas altas, com núcleo basal e achatado, enquanto que os grânulos de secreção se apresentam pouco corados pelo azul de toluidinafucsina (Fig. 1E). Em Atractus pantostictus, assim como em A. zebrinus, o epitélio da glândula infralabial mostrou ser parecido com o descrito para A. reticulatus. Estas glândulas apresentam ácinos compostos por diferentes tipos celulares, sendo que em um mesmo ácino podem ser observados dois tipos de células mucosas, os quais são distinguidos pelas características dos grânulos de secreção, além das células seromucosas (Figs. 2F; 3A, B). O primeiro tipo de célula mucosa é fortemente corado pela reação conjugada do alcian blue, pH 2.5 e PAS, enquanto que o segundo tipo se cora somente pelo alcian blue, pH 2.5 (Figs. 2F; 3D). As células seromucosas se concentram na periferia dos ácinos e o citoplasma destas células está repleto de grânulos de secreção pequenos e arredondados (Figs. 3C, D). Diferente do observado em Atractus reticulatus e A. zebrinus, a glândula infralabial de A. pantostictus apresenta uma zona distinta na sua região posterior. Nesta região verifica-se uma concentração de ácinos compostos por células mucosas, com grânulos de secreção positivos quase que exclusivamente ao alcian blue, pH 2.5 (Fig. 2E).

Em Adelphicos quadrivirgatum, a glândula infralabial é constituída basicamente por células mucosas, com núcleo basal e citoplasma fracamente corado pela hematoxilina-eosina (Figs. 4B, C, D). Em um mesmo ácino são observados pelo menos dois tipos de células mucosas, os quais podem ser distinguidos pelas características dos grânulos de secreção. O primeiro tipo apresenta grânulos fortemente corados pela reação histoquímica conjugada do alcian blue, pH 2.5 e PAS, enquanto que o segundo apresenta uma reação menos intensa ao método, sendo corado principalmente pelo alcian blue, pH 2.5 (Fig. 4E). Diferentemente do observado nas espécies do gênero *Atractus*, nas glândulas infralabiais de *Adelphicos quadrivirgatum* não são observadas células seromucosas. Diversos dutos curtos se distribuem ao longo de toda a glândula (Fig. 4C). Estes dutos liberam a secreção diretamente na cavidade oral. Entretanto, na região posterior da boca, são observados dutos que contornam o músculo *levator anguli oris* antes de se abrirem na cavidade oral (Fig. 4F).

Em Chersodromus liebmanni, glândula infralabial constituída а é predominantemente por células seromucosas, as quais se arranjam em ácinos com luz de tamanho moderado (Figs. 5C, D). Os ácinos constituem-se basicamente por um mesmo tipo celular. Enquanto os ácinos compostos por células seromucosas ocupam toda a região central e posterior da glândula, os ácinos compostos por células mucosas ocupam principalmente a região anterior da glândula, ficando dispostos principalmente ao longo da mucosa oral (Figs. 5C, D). As células mucosas reagem positivamente ao alcian blue, pH 2.5 e fortemente ao PAS, enquanto que as células seromucosas reagem negativamente ao alcian blue, pH 2.5 e moderadamente ao PAS (Fig. 5D). Verifica-se a presença de um duto mucoso e disposto longitudinalmente ao longo da região central da glândula (Fig. 5C). Embora não tenha sido observado o local da abertura deste duto no interior da boca, é provável que a abertura ocorra na região anterior da boca, visto que tanto os ácinos quanto os dutos se mostram orientados nesta direção (Figs. 5C, D).

Em *Ninia hudsoni*, a glândula infralabial é constituída basicamente por células seromucosas, arranjadas em ácinos com luz estreita (Fig. 6B). Estas células coram intensamente pela hematoxilina-eosina e se apresentam positivas ao azul de bromofenol (Figs. 6B, C). Diversos dutos estão distribuídos ao longo da glândula, embora tenham sido observados principalmente na região anterior (Fig. 6B). Estes dutos mostraram ser revestidos por células mucosas, com núcleo basal e achatado, que exibem fraca positividade à hematoxilina-eosina e se apresentam positivas ao alcian blue pH 2.5 (Figs. 6B, E, G). Foi observada a presença de um duto alargado que se estende longitudinalmente por quase todo o comprimento da glândula e, aparentemente, se abre na região anterior da boca (Figs. 6A, B, F, G). Este duto, assim

com descrito para os dutos curtos e distribuídos ao longo da glândula, é composto por células mucosas, negativas ao azul de bromofenol (Fig. 6C). Diferente do observado em serpentes dos gêneros *Dipsas* e *Sibynomorphus* (ver adiante), onde o duto principal alargado da glândula infralabial se estende ao longo da região dorsal da glândula, em *N. hudsoni*, o duto alargado está localizado em uma região mais central da glândula (Figs. 6A, F). Em *Ninia sebae*, o epitélio secretor da glândula infralabial se mostra constituído por células seromucosas, arranjadas em ácinos com luz relativamente estreita e negativas ao alcian blue, pH 2.5 (Figs. 7C, D). Um duto alargado, similar ao verificado em *N. hudsoni* (Fig. 6A), está disposto longitudinalmente no interior da glândula e se direciona para a região anterior da boca (Figs. 7B, C). Células mucosas, positivas ao alcian blue, pH 2.5, com núcleo basal e achatado revestem a parede interna deste duto (Figs. 7C, D, E, F). Além do duto disposto longitudinalmente no interior da glândula, foram observados dutos pequenos que se abrem na cavidade oral, sob as escamas infralabiais e ao longo de toda a boca da serpente (Fig. 7F).

Em Dipsas indica, a glândula infralabial é constituída por ácinos e túbulos que, em sua maioria, são compostos por apenas um tipo celular, sendo células mucosas ou seromucosas. Entretanto, há regiões de transição no interior da glândula, onde os dois tipos celulares podem ser observados juntos, em um mesmo ácino ou túbulo. As células mucosas, que nesta glândula são encontradas em maior número, ocupam principalmente a região anterior da glândula, enquanto que as células seromucosas são encontradas com maior frequência na região posterior (Fig. 8C). Conforme descrito por Oliveira et al. (2008), as células mucosas apresentam núcleo achatado, localizado na região basal e o citoplasma se mostra repleto de grânulos de secreção. As células seromucosas, por outro lado, se mostram poligonais com núcleos arredondados e basais. As células seromucosas exibem positividade ao azul de bromofenol e ao PAS e se mostram negativas ao alcian blue, pH 2.5. Na região anterior da boca foi observada uma concentração de dutos curtos e mucosos que, além de liberar a secreção na região do lábio, parecem conectar as duas porções das glândulas infralabiais (il1 e il2) (Figs. 8A, B, C). Em Dipsas albifrons, a il2 mostrou ser constituída por células seromucosas, as quais ocupam toda a região posterior da glândula, enquanto que as células mucosas se distribuem desde a região mediana até a anterior (Figs. 10A, B). Nesta espécie, a separação entre os dois tipos celulares é bem evidente (Figs. 10B, E). As células seromucosas reagem fortemente ao azul de bromofenol e fracamente ao PAS (Figs. 10F, G, respectivamente), enquanto que as células mucosas apresentam uma reação mais intensa ao PAS e se mostram

positivas ao alcian blue, pH 2.5 (Figs. 10G, H). Em *D. indica*, assim como em *D. albifrons* observa-se a presença de um duto alargado na il2. Este duto se estende desde a região posterior até a anterior da glândula, onde se abre no assoalho da boca através de uma abertura alargada e localizada próxima à extremidade anterior do dentário (Figs. 8B, D, E; 10C, D). O duto é revestido por epitélio simples e se constitui por células mucosas, positivas ao alcian blue, pH 2.5 (Fig. 8E). Em *D. neivai*, o epitélio secretor da il1 e il2 mostrou ser composto por ácinos mucosos (Figs. 11B, C). Um duto principal parte da il2 e se direciona para a il1 (Fig. 11A). Através dos cortes histológicos seriados da cabeça não foi possível observar o local exato da abertura deste duto na boca da serpente. Em um juvenil de *D. neivai*, a il2 se constitui por epitélio secretor simples, com células prismáticas dispostas em ácinos, enquanto que o duto se apresenta revestido por epitélio colunar (Figs. 12A, B). As células constituintes da parede do duto, assim como parte das células constituintes dos ácinos apresentam positividade ao PAS e ao alcian blue, pH 2.5 (Figs. 12D, E, F). Além das células mucosas, os ácinos também apresentam células seromucosas com grânulos irregulares e positivos ao azul de bromofenol (Fig. 12C).

Em Sibynomorphus mikanii, a il2 apresenta epitélio simples, com células seromucosas de formato poligonal e arranjadas em ácinos. A luz dos ácinos é diminuta e nas poucas regiões em que pôde ser observada está repleta de secreção. Os ácinos são rodeados por trabéculas de tecido conjuntivo que se distribuem por toda glândula, envolvendo os ácinos e os dutos (Figs. 13C, E). A il1, por sua vez, é composta de células similares às observadas na il2, entretanto, com ácinos constituídos principalmente por células mucosas, com núcleos basais e achatados. Esta porção da glândula apresenta diversos dutos curtos que se abrem no epitélio oral sob as escamas infralabiais (Fig. 13F). O duto da il2 se estende longitudinalmente ao longo da glândula, desde a região mediana até a anterior e se dispõe na região dorsal, logo abaixo do músculo levator anguli oris (Figs. 13C, E). Em Sibynomorphus neuwiedi, a glândula infralabial apresenta características bastante similares às descritas para S. mikanii. Desde a região posterior da cabeça de S. neuwiedi foram observadas as duas porções da glândula infralabial (il1 e il2) completamente individualizadas (Fig. 15A). Através da análise da série de cortes histológicos da cabeça não foram observados dutos ou qualquer outro tipo de conexão entre as duas porções da glândula infralabial na região posterior da cabeça. Logo atrás do nível dos olhos foi observado o duto principal da il2 que se estende na região dorsal da glândula, ao longo de praticamente todo o seu comprimento, sob o músculo levator anguli oris (Fig. 15B). Na região anterior ao nível dos olhos, no entanto, as duas porções da glândula infralabial se conectam, tornando difícil estabelecer a distinção entre ambas (Fig. 15C). O duto da il2 foi observado até o local da sua abertura, no assoalho da boca, pouco à frente da extremidade anterior do dentário (Figs. 15D, E).

Em Sibon nebulatus, a glândula infralabial se constitui por células arranjadas em túbulos e em ácinos (Fig. 16C). Os ácinos foram observados principalmente na região posterior da glândula, enquanto que os túbulos foram observados desde a região mediana até a anterior (Fig. 16C). Os ácinos são constituídos principalmente por células seromucosas, com núcleo basal e arredondado. As células dos ácinos coram mais intensamente pela hematoxilina-eosina e exibem positividade ao azul de bromofenol, enquanto que os túbulos são constituídos por células mucosas, com núcleo basal e achatado, positivas ao PAS e ao alcian blue, pH 2.5 (Figs. 16E, G). Foram observados dutos dispostos longitudinalmente no interior da glândula e direcionados para a região anterior da boca, local onde se abrem (Fig. 16D). Além destes dutos, também foram observados dutos pequenos que partem da glândula, ao longo de toda a sua extensão e se abrem na boca, sob as escamas infralabiais (Fig. 16H). Alguns desses dutos contornam as fibras do músculo *levator anguli oris*, na região posterior da boca, enquanto outros foram observados inseridos por entre as fibras musculares (Fig. 16H).

infralabial Em Tropidodipsas sartorii, a glândula é constituída predominantemente por células mucosas, positivas ao alcian blue, pH 2.5 (Figs. 17C, F). Na região central da glândula se observou uma concentração de dutos curtos que se confluem para a região anterior, abrindo em um duto alargado que se estende longitudinalmente ao longo de praticamente todo o comprimento da glândula (Figs. 17C, E). O duto é constituído por um epitélio bem diferente daquele observado nas demais espécies de dipsadíneos, sendo composto por diversas camadas de células, com núcleo arredondado e citoplasma bastante reduzido, assemelhando-se a um epitélio estratificado (Fig. 17E). Alguns poucos ácinos, restritos à região posterior da glândula, são constituídos por células seromucosas, com núcleos basais, arredondados e citoplasmas fortemente corados pela hematoxilina-eosina (Fig. 16G).

Em *Leptodeira annulata*, a glândula infralabial é constituída por ácinos e dutos distribuídos ao longo de toda a sua extensão (Fig. 18B). O epitélio secretor da glândula se constitui basicamente por células mucosas, positivas ao alcian blue, pH 2.5 e ao PAS (Fig. 18C). Foram observados diversos dutos curtos e mucosos, que se arranjam

ao longo de toda a glândula e se abrem no interior da boca (Figs. 18B, C). Embora, na região posterior da glândula, tenha sido observada a presença de células intensamente coradas pela hematoxilina-eosina, a glândula infralabial mostrou ser negativa à reação histoquímica do azul de bromofenol, indicando que não são produzidos grânulos de natureza proteica no interior de suas células (Fig. 18D).

Em *Imantodes cenchoa*, a glândula infralabial é bastante parecida ao previamente descrito para a glândula infralabial de *Leptodeira annulata*. A glândula infralabial se constitui por ácinos e dutos que se distribuem ao longo de toda a sua extensão (Fig. 19B). O epitélio secretor, bem como os dutos, se constituem por células mucosas, positivas à reação histoquímica do alcian blue, pH 2.5 (Fig. 19D). Em um corte sagital da cabeça foi observada a presença de três dutos curtos e repletos de secreção, os quais se abrem na região anterior da boca (Fig. 19D).

Em *Coniophanes fissidens*, a glândula infralabial é fracamente corada pela hematoxilina-eosina e apresenta dutos mucosos, positivos ao alcian blue, pH 2.5, e dispostos longitudinalmente no interior da glândula (Figs. 20B, C). A maior parte dos ácinos desta glândula, entretanto, se constitui por células seromucosas, negativas à reação histoquímica do alcian blue, pH 2.5 (Fig. 20D). Cortes sagitais indicam que alguns dos dutos no interior da glândula, se confluem na direção anterior da boca, onde se abrem na cavidade oral (Fig. 20D). Por outro lado, através dos cortes transversais, foi observada a abertura de um duto em uma região posterior da boca, logo atrás dos olhos, enquanto que os demais dutos permanecem dispostos longitudinalmente em uma região mais ventral da glândula (Fig. 20F).

Em *Urotheca elapoides*, a glândula infralabial é composta predominantemente por células seromucosas, as quais coram mais intensamente pela hematoxilina-eosina (Figs. 21D, E), enquanto que somente os dutos no interior da glândula se constituem por células mucosas (Figs. 21D, E). Como observado em *Coniophanes fissidens* (Fig. 20D), embora tenham sido verificados dutos direcionados para a região anterior da boca, também foram observados dutos curtos que se abrem ao longo de toda a boca da serpente (Figs. 21B, C).

Em Tomodon dorsatus, a glândula infralabial é composta, na sua maioria, por ácinos de tamanho pequeno, com luz estreita e constituídos por células seromucosas (Figs. 24B, C). Os ácinos seromucosos se distribuem principalmente na região posterior da glândula, ao passo que na região anterior foram observados ácinos compostos por células mucosas, de pelo menos três tipos distintos, que puderam ser distinguidos por meio da sua positividade à reação histoquímica conjugada do alcian blue, pH 2.5 e PAS (Figs. 24C, E). Foram observadas células intensamente coradas pela reação conjugada do alcian blue, pH 2.5 e PAS, células levemente coradas por esta reação e células que coram basicamente pelo alcian blue, pH 2.5 (Figs. 24C, E).

## 4.1.2 Glândulas supralabiais

Morfologia geral. As glândulas supralabiais se localizam lateralmente à cabeça, logo abaixo das escamas supralabiais e se estendem ao longo do osso maxilar, desde a região anterior da boca, logo atrás da glândula pré-maxilar até o nível do canto da boca. Nas espécies em que a glândula de Duvernoy está presente, a supralabial se dispõe em uma posição ventromedial em relação a ela e se estende além do seu limite posterior, o que foi claramente verificado, por exemplo, em Coniophanes fissidens (Fig. 20A). Nas serpentes onde as glândulas de Duvernoy não foram observadas, as supralabiais se estendem até o canto da boca, sem que tenham sido verificadas grandes alterações na sua forma. Em Sibynomorphus mikanii, no entanto, uma espécie onde a glândula de Duvernoy não foi observada, verifica-se um leve estreitamento dorsoventral da glândula supralabial, o qual se inicia no terço posterior da glândula, logo após a órbita e se estende até a sua porção final, no nível do canto da boca. Além disso, foi observada uma leve extensão do epitélio oral, que se dispõe além dos limites da boca e ocupa a região medial do terço posterior da glândula supralabial, ultrapassando a altura da própria glândula (Figs. 14A, C). Em Adelphicos quadrivirgatum observa-se a presença de uma glândula associada à superfície póstero-dorsal da glândula supralabial. Devido à presença desta glândula, torna-se difícil estabelecer por meio das observações macroscópicas, o limite posterior da glândula supralabial (Fig. 4A).

Diferente do verificado nas glândulas infralabias, as supralabias não apresentam grandes alterações na sua morfologia geral. Entre as espécies analisadas, as principais diferenças foram verificadas nas características histoquímicas dos grânulos, como descrito a seguir em maiores detalhes.

<u>Histologia e histoquímica</u>. Do ponto de vista histológico, as glândulas supralabiais se mostram bastante parecidas às infralabiais, sendo envoltas por uma fina camada de tecido conjuntivo, o qual emite septos para o seu interior, subdividindo o corpo glandular em lóbulos e envolvendo os ácinos e os dutos. O sistema de dutos das glândulas supralabiais, entretanto, ao contrário do observado nas infralabiais, não apresenta grandes variações. Nestas glândulas, este sistema mostrou ser composto por uma série de dutos curtos e individuais que se abrem de forma independente ao longo da boca das serpentes. Nas espécies analisadas, estes dutos se abrem dentro da boca, no interior de um canal/sulco formado na interface das escamas supralabiais com o epitélio oral, na lateral dos dentes maxilares, como previamente relatado por Taub (1966).

Em *Atractus reticulatus*, bem como em *A. pantostictus*, o epitélio secretor das glândulas supralabiais mostrou ser similar ao previamente descrito para as glândulas infralabiais dessas espécies. O epitélio se constitui por ácinos mistos, formados por células mucosas e seromucosas, sendo que as células mucosas são mais abundantes (Figs. 1B; 2D). Foram verificados diversos dutos curtos e mucosos que se distribuem ao longo de toda a glândula e se abrem diretamente na boca, no interior do canal/sulco formado no encontro das escamas supralabiais com o epitélio oral.

Em Adelphicos quadrivirgatum, a glândula supralabial mostrou ser similar ao previamente descrito para a glândula infralabial desta espécie. Os ácinos são constituídos por dois tipos de células mucosas, ambos fracamente corados pela hematoxilina-eosina e com núcleos basais e achatados (Figs. 4H, I). Os dois tipos de células mucosas podem ser distinguidos pelas suas diferentes características histoquímicas. O primeiro tipo é positivo somente à reação histoquímica do alcian blue, pH 2.5, enquanto que o segundo é fortemente positivo à reação histoquímica conjugada do alcian blue, pH 2.5 e PAS (resultados não mostrados). Na região póstero-dorsal da glândula supralabial verificou-se a presença de uma segunda glândula. Ambas são distinguidas pelas diferentes afinidades à hematoxilina-eosina. A glândula localizada na superfície póstero-dorsal da supralabial apresenta epitélio constituído por células mucosas, fracamente coradas pela hematoxilina-eosina, bem como células seromucosas, as quais coram mais intensamente por esta coloração (Figs. 4H, I). A glândula supralabial, como já mencionado, se constitui somente por células mucosas (Fig. 4I).

Em *Chersodromus liebmanni*, as glândulas supralabiais se constituem predominantemente por células seromucosas, embora também tenham sido observadas células mucosas no interior dessas glândulas (Fig. 5H). O epitélio secretor da glândula supralabial se mostra similiar ao observado nas glândulas infralabiais (Fig. 5C). Estas glândulas apresentam dutos curtos e formados por células mucosas, os quais se distribuem ao longo de toda a glândula e se abrem diretamente no interior da boca da serpente (Fig. 5F).

Em *Ninia sebae*, a glândula supralabial é constituída principalmente por células seromucosas, negativas à reação histoquímica do alcian blue, pH 2.5, enquanto que os dutos se constituem exclusivamente por células mucosas, positivas à esta reação (Fig. 7E).

Em *Dipsas indica*, a glândula supralabial apresenta um epitélio parecido com o observado na il2 desta espécie. Esta glândula se constitui basicamente por células mucosas, fracamente coradas pela hematoxilina-eosina e células seromucosas intensamente coradas por esta coloração (Fig. 9C). A glândula supralabial é positiva à reação histoquímica do alcian blue, pH 2.5 (Figs. 8B, E). Diferentemente do observado para a il2, entretanto, a glândula supralabial apresenta uma série de pequenos dutos que se abrem ao longo de toda a boca da serpente.

Em *Sibynomorphus mikanii*, a glândula supralabial também apresenta um epitélio parecido ao previamente descrito para a il2 desta espécie. Esta glândula se constitui por células seromucosas, agrupadas em ácinos e, apesar das semelhanças com a il2, apresenta diversos dutos curtos, como previamente descrito para a il1, os quais foram observados ao longo de toda glândula, se abrindo diretamente na boca da serpente (Figs. 13D; 14E, F). Em *Sibynomorphus neuwiedi*, a glândula supralabial se constitui por células moderadamente coradas pela hematoxilina-eosina, enquanto que os dutos se mostram revestidos por células que apresentam uma coloração menos intensa ao método. Foram observados diversos dutos curtos que partem da glândula e se abrem ao longo de toda a boca da serpente (Fig. 15B).

Em *Sibon nebulatus*, a glândula supralabial é constituída por células mucosas e seromucosas, da mesma forma que o descrito para as glândulas infralabiais desta espécie (Figs. 16H, I). Estas células também se agrupam em ácinos ou túbulos como verificado nas glândulas infralabiais, entretanto, em contraste com o observado nestas últimas, as glândulas supralabiais não apresentam túbulos se distendendo longitudinalmente ao longo da glândula (Fig. 16F).

Em *Tropidodipsas sartorii*, a glândula supralabial se constitui basicamente por células mucosas, com núcleos basais e achatados (Fig. 17D). Estas células coram fracamente pela hematoxilina-eosina e foram observados diversos dutos curtos e também mucosos se abrindo no interior da boca da serpente (Fig. 17D).

Em *Leptodeira annulata*, a glândula supralabial se constitui basicamente por células mucosas, positivas à reação histoquímica do alcian blue, pH 2.5 e PAS e negativas ao azul de bromofenol (Figs. 18C, D). Foram observados pequenos dutos se abrindo no interior da boca, principalmente na região posterior da glândula, próximos à glândula de Duvernoy (Figs. 18B, D).

Em *Imantodes cenchoa*, a glândula supralabial também apresenta características similares às descritas para a glândula infralabial desta espécie, sendo constituída

basicamente por células mucosas, com diversos dutos curtos e também mucosos se abrindo ao longo da boca (Fig. 19B).

Em *Coniophanes fissidens*, a glândula supralabial é formada por ácinos mucosos e positivos ao alcian blue, pH 2.5 (Fig. 20E). A região posterior da glândula mostra uma positividade mais intensa ao alcian blue, pH 2.5 do que a região anterior (Fig. 20E). Os ácinos no interior da glândula apresentam poucos espaços internos e se observam diversos dutos curtos e também mucosos, dispostos ao longo de toda a glândula, os quais se abrem diretamente na boca (Fig. 20F).

Em *Tomodon dorsatus*, a glândula supralabial mostrou ser constituída por células seromucosas, positivas ao PAS, bem como por células mucosas, positivas ao alcian blue, pH 2.5 (Fig. 24D). Assim como verificado nas glândulas infralabiais desta espécie, foram observados pelo menos três tipos de células mucosas no interior da glândula, os quais podem ser distinguidos por meio da sua positividade à reação histoquímica conjugada do alcian blue, pH 2.5 e PAS (Fig. 24D).

## 4.1.3 Glândulas de Duvernoy

<u>Morfologia geral</u>. Dentre os dipsadíneos estudados, as glândulas de Duvernoy apresentam ampla variação morfológica, sendo bem desenvolvidas em algumas espécies e muito reduzidas ou ausentes em outras. Estas glândulas se localizam na região pós-ocular e se estendem posteriormente até o nível do canto da boca, ficando geralmente sobrepostas ao terço posterior das glândulas supralabiais. Dorsalmente, estas glândulas alcançam até o nível superior dos olhos e não foram observadas fibras musculares associadas às suas cápsulas de tecido conjuntivo. Por sobreporem o terço final das glândulas supralabiais, as glândulas de Duvernoy reduzem ou alteram localmente a forma das supralabiais.

Dentre os goo-eaters, não é possível identificar claramente, por meio das observações macroscópicas, a presença ou ausência das glândulas de Duvernoy. Nestas espécies, as glândulas supralabiais se estendem até o nível do canto da boca e praticamente não há alterações na sua forma ou coloração que indique a existência das glândulas de Duvernoy. As espécies dos gêneros *Atractus*, *Dipsas*, *Ninia*, *Sibon*, *Sibynomorphus* e *Tropidodipsas* não apresentam nenhuma alteração no terço posterior das glândulas supralabiais, enquanto que nos gêneros *Adelphicos* e *Chersodromus* são verificadas pequenas alterações que podem estar associadas à presença das glândulas de Duvernoy.

Em *Sibynomorphus mikanii*, embora não tenha sido verificada qualquer evidência da glândula de Duvernoy, foi observada uma glândula pequena na região póstero-dorsal da glândula supralabial, logo atrás do nível do canto da boca (Figs. 14A, C). Esta glândula, entretanto, não apresenta características de uma glândula de Duvernoy. Ela se localiza em uma região mais caudal do que a usual para uma glândula de Duvernoy e se mostra medial ao ligamento quadrado-maxilar, ao invés de estar lateral a este ligamento, o que é usual para as glândulas de Duvernoy (Fig. 14C).

Em *Adelphicos quadrivirgatum* é verificada a presença de uma glândula mais alargada e disposta ao longo da superfície póstero-dorsal da glândula supralabial, como previamente descrito nos resultados das glândulas supralabiais. Esta glândula se estende até o limite posterior do músculo *addutor mandibulae externus superficialis* e durante as dissecções não foi possível verificar com clareza a sua disposição em relação ao ligamento quadrado-maxilar (Fig. 4A).

Em *Chersodromus liebmanni*, se verifica uma pequena divisão na região posterior da glândula supralabial (Fig. 5A), o que pode ser um indicativo da presença da glândula de Duvernoy nesta espécie. Todos estes aspectos, entretanto, são descritos em maiores detalhes ao longo das descrições histológicas e histoquímicas destas glândulas (ver adiante).

Por outro lado, dentre os dipsadíneos que se alimentam de vertebrados, as glândulas de Duvernoy são facilmente reconhecidas como glândulas distintas das supralabiais, por meio das observações macroscópicas.

Em *Leptodeira annulata*, a glândula de Duvernoy atinge as maiores dimensões dentre todas as espécies de dipsadíneos analisadas (Fig. 18A). Nesta espécie, a glândula apresenta um formato triangular e superfície globosa. Ela ocupa praticamente toda a região pós-ocular, se estendendo desde a superfície posterior dos olhos até o nível do canto da boca e alcança o limite posterior do músculo *adductor mandibulae externus superficialis*. Dorsalmente, esta glândula alcança o nível superior dos olhos.

Em *Imantodes cenchoa*, a glândula de Duvernoy apresenta um formato arredondado e dimensões menores do que a verificada em *Leptodeira annulata* (Figs. 19A; 18A, respectivamente). Esta glândula se estende posteriormente até o limite anterior do músculo *adductor mandibulae externus superficialis* e atinge a superfície anterior da glândula rictal. Dorsalmente, ela alcança o nível mediano dos olhos (Fig. 19A).

Em *Coniophanes fissidens*, a glândula de Duvernoy apresenta um formato arredondado (Fig. 20A). Ela é facilmente distinguida da glândula rictal e da supralabial por apresentar uma coloração mais amarelada. Posteriormente, a glândula de Duvernoy se estende

até a superfície anterior do músculo *adductor mandibulae externus superficialis* e da glândula rictal, enquanto que dorsalmente, ela atinge o nível inferior dos olhos (Fig. 20A).

Em *Urotheca elapoides*, a glândula de Duvernoy mostrou ser reduzida, pouco diferenciada da supralabial e não ultrapassa o limite superior desta última (Fig. 21A). Posteriormente, a glândula atinge o nível mediano do músculo *adductor mandibulae externus superficialis* e alcança a superfície inferior da glândula rictal (Fig. 21A).

Em *Rhadinaea*, a glândula de Duvernoy se apresenta bastante similar nas três espécies analisadas, *Rhadinaea decorata, R. hannsteini* e *R. montecristi* (Figs. 22A, B, C, respectivamente). Em todas as três, a glândula apresenta um formato alongado e se estende desde a superfície pós-ocular até o limite anterior do músculo *adductor mandibulae externus superficialis*. Dorsalmente, a glândula de Duvernoy se estende pouco além do limite superior da glândula supralabial. Somente em *R. decorata*, a glândula de Duvernoy não atinge a superfície anterior da glândula rictal (Fig. 22A).

Em *Hypsiglena torquata*, a glândula de Duvernoy é facilmente diferenciada da supralabial, por conta de seu formato e coloração (Fig. 23A). Ela ocupa a região compreendida entre o terço posterior da glândula supralabial, na região pós-ocular, até a superfície posterior do músculo *adductor mandibulae externus superficialis*. Dorsalmente, a glândula se estende até o nível mediano dos olhos.

Em *Tretanorhinus variabilis*, a glândula de Duvernoy mostrou ser bastante reduzida, restringindo-se a porção posterior da glândula supralabial (Fig. 23B). Nesta espécie, a glândula de Duvernoy ocupa a porção final da glândula supralabial e, posteriormente, ela não alcança o limite anterior do músculo *adductor mandibulae externus superficialis*. Dorsalmente, a glândula não ultrapassa o limite superior da glândula supralabial.

Em *Trimetopon pliolepis*, a glândula de Duvernoy é facilmente diferenciada da glândula supralabial (Fig. 23C). Ela apresenta formato arredondado, coloração amarelada e atinge o nível mediano do músculo *adductor mandibulae externus superficialis*. Dorsalmente, a glândula de Duvernoy alcança o nível inferior dos olhos.

Em *Tomodon dorsatus*, a glândula de Duvernoy é globosa e com formato arredondado, atingindo dorsalmente o nível mediano dos olhos (Fig. 24A). Posteriormente, ela alcança o nível do canto da boca e a região mediana do músculo *adductor mandibulae externus superficialis*, além da superfície anterior da glândula rictal. Durante as dissecções, em alguns exemplares de *T. dorsatus*, a diferenciação entre a glândula de Duvernoy e a glândula supralabial se tornou difícil, visto que ambas mostraram-se contíguas e exibiram o mesmo padrão de coloração.

<u>Histologia e histoquímica</u>. Em todas as espécies analisadas, as glândulas de Duvernoy são compostas por uma fina cápsula de tecido conjuntivo, que recobre toda a glândula e emite septos para o seu interior, subdividindo o corpo glandular em ácinos ou túbulos. Estas glândulas se constituem basicamente pela porção secretora e pela rede interna de dutos que se distribuem pelo seu interior. Abaixo são descritas as principais características histológicas e histoquímicas observadas nestas glândulas.

Como já mencionado nos resultados da morfologia geral, dentre os goo-eaters, praticamente não foram verificadas diferenças histológicas e histoquímicas na composição das glândulas supralabiais que indicassem a presença das glândulas de Duvernoy. Além disso, não foi constatada a presença de dutos direcionados para os dentes posteriores do maxilar, outro indicativo da presença dessas glândulas.

Em *Adelphicos quadrivirgatum*, a glândula alargada e disposta ao longo da superfície póstero-dorsal da glândula supralabial apresenta ácinos mistos, constituídos por células mucosas e seromucosas. As células mucosas apresentam núcleo basal e achatado e são fracamente coradas pela hematoxilina-eosina, enquanto que as células seromucosas apresentam núcleo basal e arredondado e são mais intensamente coradas pela hematoxilina-eosina (Figs. 4H, I). Em *Chersodromus liebmanni*, embora tenha sido verificada a existência de uma estreita divisão na região posterior da glândula supralabial, as observações histológicas não demonstram nenhuma modificação que indique a presença da glândula de Duvernoy nesta espécie (Figs. 5C, E, F).

Em *Leptodeira annulata*, a glândula de Duvernoy se constitui basicamente por epitélio simples formado por células seromucosas e arranjadas em ácinos (Figs. 18B, F). Os ácinos se confluem para a região central da glândula onde se abrem em um duto único e alargado. Este duto se estende desde a região central da glândula até a base dos dentes posteriores alargados, de onde a secreção é liberada para o interior da boca (Figs. 18B, C, D, F). Os ácinos no interior da glândula são constituídos por células seromucosas, as quais se mostram positivas ao azul de bromofenol e negativas ao alcian blue, pH 2.5 (Figs. 18C, D). Os dutos, por outro lado, se apresentam revestidos por células mucosas e colunares, positivas à reação histoquímica do alcian blue, pH 2.5 e negativas ao azul de bromofenol (Figs. 18C, D). No interior do duto foi observada certa quantidade de secreção proveniente da glândula de Duvernoy (Figs. 18B, F).

Em *Imantodes cenchoa*, a glândula de Duvernoy se constitui basicamente por células seromucosas, arranjadas em ácinos e, além do duto, poucos espaços internos são observados

no seu interior. O duto foi observado na região central da glândula e está constituído por células mucosas (Fig. 19E). Assim como demonstrado para *Leptodeira annulata* (Figs. 18C, D), em *Imantodes cenchoa*, a glândula de Duvernoy exibe positividade à reação histoquímica do azul de bromofenol e negatividade ao alcian blue, pH 2.5. Em *Imantodes cenchoa* foi observada a saída do duto da glândula rictal. Como mencionado anteriormente, esta glândula se dispõe na altura do ângulo da boca, na região posterior da glândula de Duvernoy e medial ao ligamento quadrado-maxilar (Fig. 19A). Além disso, ela pôde ser distinguida da glândula supralabial em função do local de abertura do seu duto e pela sua disposição em relação ao ligamento quadrado-maxilar. Enquanto a porção mais posterior da glândula supralabial se dispõe lateralmente ao ligamento e o seu duto se abre logo abaixo das escamas supralabiais, a glândula rictal se posiciona medialmente em relação ao ligamento e o seu duto se abre na prega rictal (Fig. 19C).

O mesmo padrão estrutural, onde as glândulas de Duvernoy são constituídas por células seromucosas e apresentam um duto único constituído por células mucosas foi veririficado em *Coniophanes fissidens* (Fig. 20E), *Hypsiglena torquata* (não mostrado) e *Urotheca elapoides* (Fig. 21B). Em *Tomodon dorsatus*, a glândula de Duvernoy é constituída por células levemente coradas pela hematoxilina-eosina, fracamente positivas ao azul de bromofenol e negativas ao alcian blue, pH 2.5 (Fig. 24B).

# 4.1.4 Glândulas de Harder

<u>Morfologia geral</u>. Dentre os dipsadíneos analisados, as glândulas de Harder apresentam ampla variação de tamanho, sendo hipertrofiadas em algumas espécies e reduzidas em outras. Estas glândulas localizam-se na região orbital, ocupando a superfície medial dos olhos e se estendendo ao longo da região pós-orbital. Em algumas espécies, as glândulas de Harder alcançam a superfície anterior do músculo *adductor mandibulae externus medialis*. Na região pós-orbital, estas glândulas estão frequentemente recobertas pelo músculo *levator anguli oris* e *adductor mandibulae externus superficialis*, sendo que nas dissecções superficiais foram visualizadas apenas pequenas partes destas glândulas.

Em *Atractus reticulatus* e *A. pantostictus*, as glândulas de Harder apresentam tamanho moderado e se estendem ao longo da região pós-orbital, sob a superfície medial dos músculos *levator anguli oris* e *adductor mandibulae externus superficialis*. Por meio das dissecções superficiais não foi possível observar o limite posterior dessas glândulas, visto que elas estão sobrepostas pela musculatura adutora (Fig. 1A). Em *Adelphicos quadrivirgatum*, assim como observado nas serpentes do gênero *Atractus*, somente uma pequena porção da glândula foi observada durante as dissecções superficiais, visto que ela se estende ao longo da superfície medial do músculo *adductor mandibulae externus superficialis* (Fig. 4A).

Em *Chersodromus liebmanni*, a glândula de Harder mostrou ser hipertrofiada, estendendo-se desde a superfície pós-orbital, passando medialmente pelo músculo *levator anguli oris* e *adductor mandibulae externus superficialis* até atingir a superfície posterior do *adductor mandibulae externus medialis* (Fig. 5B).

Em *Ninia sebae*, a glândula de Harder também mostrou ser hipertrofiada, estendendose desde a região pós-orbital até a superfície anterior do músculo *adductor mandibulae externus medialis*, ocupando uma posição medial em relação aos músculos *levator anguli oris* e *adductor mandibulae externus superficialis*. Em dissecções superficiais, as glândulas de Harder foram observadas somente na sua porção anterior, na superfície pós-orbital, bem como na sua porção posterior, na superfície anterior do músculo *adductor mandibulae externus medialis* (Fig. 7A).

Em *Dipsas indica* e *D. albifrons*, as glândulas de Harder mostraram ser pouco desenvolvidas, restringindo-se basicamente à região orbital (Figs. 8A; 10A). Nestas espécies, as glândulas de Harder ocupam a superfície medial do músculo *levator anguli oris*.

Em *Sibynomorphus mikanii* e *S. neuwiedi*, as glândulas de Harder são hipertrofiadas, apresentando uma forma de ferradura, na qual se estendem desde a região pós-orbital, contornando o canto da boca até atingirem o terço final da mandíbula, na região posterior da glândula infralabial (Figs. 13A; 14A; 15A). Em ambas as espécies de *Sibynomorphus*, as glândulas de Harder ocupam uma posição medial em relação ao músculo *levator anguli oris* e *adductor mandibulae externus superficialis*.

Em Sibon nebulatus e Tropidodipsas sartorii, as glândulas de Harder mostram ser similares. Em ambas as espécies, estas glândulas se apresentam menores quando comparadas às glândulas de Sibynomorphus e maiores em relação às glândulas de Dipsas. Tanto em Sibon, quanto em Tropidodipsas, as glândulas de Harder se localizam na região orbital, estendendo pouco além da superfície posterior dos olhos, não ultrapassando o limite posterior do músculo *levator anguli oris*. Além disso, nestas espécies, as glândulas de Harder se localizam lateralmente em relação ao músculo *levator anguli oris* (Figs. 16A; 17A).

Dentre as espécies analisadas de dipsadíneos que se alimentam de vertebrados, as glândulas de Harder mostraram ser bem desenvolvidas, ocupando a região orbital e pósorbital. Entretanto, em nenhuma delas foram observadas glândulas de Harder se estendendo além da superfície posterior do músculo *adductor mandibulae externus superficialis* (Figs. 18A; 20A; 21A; 22; 23). Em todas estas espécies, as glândulas de Harder ocupam a superfície medial do músculo *adductor mandibulae externus superficialis*.

Em *Tomodon dorsatus*, a glândula de Harder ocupa a região orbital e pós-orbital e não alcança a superfície posterior do músculo *adductor mandibulae externus superficialis* (Fig. 24A). Esta glândula ocupa a superfície medial do músculo *adductor mandibulae externus superficialis*.

Histologia e histoquímica. As glândulas de Harder se constituem basicamente por células seromucosas, com núcleos basais e arredondados. As células no interior das glândulas se arranjam em ácinos com luz diminuta, sendo que poucos espaços internos foram observados. Estas glândulas mostraram ser fracamente positivas à reação histoquímica do PAS e apresentam positividade moderada à reação do azul de bromofenol, demonstrando o caráter seromucoso da secreção. Em todas as espécies analisadas, as glândulas de Harder exibem negatividade à reação histoquímica do alcian blue, pH 2.5, sendo que na maioria das espécies, somente os dutos no interior dessas glândulas exibem positividade à esta reação. Os dutos mucosos foram observados ao longo de toda a glândula, entretanto, são mais concentrados na região orbital, na superfície medial dos olhos.

Embora tenha sido verificada uma ampla variação de tamanho nas glândulas de Harder, o seu padrão histológico e histoquímico mostrou ser bastante parecido entre as espécies analisadas neste estudo. Por este motivo, as descrições histológicas e histoquímicas são feitas a seguir em maiores detalhes somente em *Ninia hudsoni* e *Ninia sebae*, que servem de modelo aqui para as demais espécies analisadas.

Em *Ninia hudsoni*, a glândula de Harder é composta pela porção secretora e pelos dutos que se distribuem pelo interior da glândula. A porção secretora é composta por células arranjadas em ácinos, que se coram intensamente pela hematoxilina-eosina (Figs. 6D, E). Os dutos no interior da glândula se constituem por células mucosas, as quais exibem fraca positividade à hematoxilina-eosina e se coram mais intensamente pelo PAS do que as células dos ácinos, entretanto, mesmo as células dos dutos mostram ser negativas à reação histoquímica do alcian blue, pH 2.5 (Figs. 6D, E).

Em *Ninia sebae*, a glândula de Harder se constitui por células seromucosas, as quais apresentam positividade moderada ao azul de bromofenol e se mostram negativas à reação histoquímica do alcian blue, pH 2.5 (Fig. 7E). Assim como as células dos ácinos, os dutos no interior da glândula também apresentam negatividade ao alcian blue, pH 2.5 (Fig. 7E).

Na região pós-orbital, a glândula de Harder de *Ninia sebae* é dividida em dois lóbulos. O lóbulo mais desenvolvido se localiza na superfície lateral do osso parietal, enquanto que o menor se estende ao longo da superfície ventrolateral do osso (Fig. 7F). Estes dois lóbulos glandulares se unem no nível da superfície posterior dos olhos, onde se transformam em um único corpo glandular que, por sua vez, envolve a região posterior dos olhos e se estende anteriormente ao longo da superfície ventromedial da órbita (Fig. 7E).

Na superfície ventromedial da órbita foram observados diversos dutos pequenos e estreitos na glândula de Harder, os quais se confluem no sentido anterior (Fig. 7G). Nesta região, não foi observada a abertura de qualquer duto da glândula de Harder no espaço conjuntival ou sub-brilhar (Fig. 7G). Ao invés disso, os diversos dutos pequenos da glândula de Harder se abrem diretamente no duto lacrimal. Este último, por sua vez, se estende no sentido anterior, lateralmente ao osso pré-frontal até atingir o nível da cavidade nasal, local onde se curva medialmente em direção à superfície ventral do vômer e da cavidade nasal (Fig. 7H). Este duto se estende ao longo da superfície ventral do vômer e se abre diretamente no canal do órgão de Jacobson (Fig. 7I), local de sua abertura no interior da boca.

## 4.2 Descrição da musculatura associada às glândulas infralabiais dos goo-eaters

Embora tenham sido observados outros músculos associados às glândulas infralabiais dos dipsadíneos goo-eaters, como por exemplo, o músculo *intermandibularis posterior, pars posterior*, o qual associa-se à superfície póstero-ventral da glândula infralabial em algumas espécies de *Dipsas*, o músculo *levator anguli oris* apresenta a maior variação morfológica e foi observado associado às glândulas infralabiais em um número maior de espécies. Desta forma, a seguir são descritas em maiores detalhes as principais características referentes a este músculo nas espécies de serpentes analisadas.

Em *Atractus reticulatus*, o *levator anguli oris* se apresenta como um fino e estreito músculo que se origina na superfície posterior do osso pós-orbital e na porção anterior da crista dorsolateral do osso parietal. Na sua origem, o *levator anguli oris* é pouco distinto do músculo *adductor mandibulae externus superficialis*, embora no nível da glândula supralabial ambos se tornem bem distintos. Enquanto o *adductor mandibulae externus superficialis* se estende no sentido caudal até atingir a porção posterior do osso composto, o *levator anguli oris* se estende no sentido ventral, contornando o canto da boca até atingir a superfície póstero-dorsal da glândula infralabial, local de sua inserção (Figs. 1B, C, D). Em *Atractus pantostictus*, além do *levator anguli oris* que apresenta características semelhantes às

descritas em *A. reticulatus*, foram observados outros dois conjuntos musculares que também estão associados às glândulas infralabiais. O primeiro é o músculo *intermandibularis posterior*, *pars posterior* que se associa à superfície póstero-ventral da glândula (Fig. 2C), enquanto que o segundo é o músculo *adductor mandibulae externus medialis*, que se associa à superfície póstero-dorsal da glândula (Fig. 2B).

Em *Adelphicos quadrivirgatum*, o *levator anguli oris* se apresenta medial ao *adductor mandibulae externus superficialis*, originando-se a partir da porção anterior da crista dorsolateral do parietal e da margem posterolateral do osso pós-orbital (Fig. 4A). Este músculo se estende ventralmente e levemente no sentido posterior, curvando o ângulo da boca até atingir a superfície póstero-dorsal da glândula infralabial, local onde foi observada a sua inserção na cápsula de tecido conjuntivo ao redor da glândula infralabial (Figs. 4B, C, D).

Em *Chersodromus liebmanni*, o *levator anguli oris* é fino, com um formato triangular e se origina na crista dorsolateral do osso pariental e na superfície dorsal do pós-orbital. A superfície posterior do músculo sobrepõe as fibras mais anteriores do músculo *adductor mandibularis externus superficialis* (Fig. 5B). O músculo se estende ventralmente para curvar o ângulo da boca até atingir a região posterior da glândula infralabial (Fig. 5B). Nesta espécie, embora as fibras musculares do *levator anguli oris* tenham passado medialmente à glândula infralabial até atingir o dentário, não foram observadas fibras musculares em contato com a cápsula de tecido conjuntivo da glândula (Figs. 5C, E).

Em *Ninia sebae*, o *levator anguli oris* se origina na crista dorsolateral do osso parietal e na superfície posterior do pós-orbital. A superfície posterior do músculo sobrepõe a metade anterior do *adductor mandibulae externus superficialis* (Fig. 7A). As fibras do *levator anguli oris* se estendem ventralmente para curvar o ângulo da boca e convergem para terminar em uma ampla aponeurose que se insere na superfície lateral do dentário (Fig. 7F). Nesta espécie não foram observadas fibras musculares do *levator anguli oris* associadas à cápsula de tecido conjuntivo da glândula infralabial (Fig. 7E, F). Condição diferente, entretanto, foi observada em *N. hudsoni*, onde fibras do *levator anguli oris* foram observadas se inserindo na cápsula de tecido conjuntivo na superfície póstero-dorsal da glândula infralabial (Figs. 6D, E).

Nas espécies do gênero *Dipsas* analisadas, o local de origem do músculo *levator anguli oris* mostrou ser bastante amplo, estendendo por toda a superfície posterior do osso pós-orbital. Em *Dipsas indica*, o *levator anguli oris* se estende ventralmente para curvar o ângulo da boca até atingir a região mandibular, de onde se estende anteriormente até alcançar o seu ponto de inserção, na região anterior do osso dentário (Figs. 9A, B, C). Nos cortes histológicos transversais das cabeças de *Dipsas indica* e *D. albifrons* foi observado o diâmetro

alargado do músculo *levator anguli oris* em seu percurso ao longo da mandíbula (Figs. 9C; 10C). Embora o músculo se acomode entre a superfície dorsal da il2 e a superfície ventrolateral da il1, ao longo de praticamente toda a extensão das glândulas, não foram observadas fibras musculares associadas à cápsula de tecido conjuntivo das glândulas infralabiais em nenhuma das espécies analisadas deste gênero (Figs. 9C; 10C). Além das fibras do *levator anguli oris*, também foram observadas a associação das fibras musculares do *intermandibularis posterior, pars posterior* com a cápsula de tecido conjuntivo da superfície póstero-ventral das glândulas infralabiais de *Dipsas indica* e *D. neivai* (Figs. 9A; 11A, B, C).

Em *Sibynomorphus mikanii*, bem como em *S. neuwiedi*, o músculo *levator anguli oris* mostrou ser bastante desenvolvido. Este músculo se origina de uma aponeurose, a partir da metade anterior da crista dorsolateral do parietal, se estendendo até a borda distal do osso pósorbital e da borda lateral do ramo maxilar do ectopterigóide. Como em *Dipsas*, este músculo se estende ventralmente até atingir o ângulo da boca, onde curva para se estender anteriormente, formando um feixe arredondado que se insere, via uma extensa aponeurose, na superfície ventrolateral do terço anterior do dentário. Ainda, como verificado em *Dipsas*, embora o músculo se acomode entre a superfície dorsal da il2 e a superfície ventrolateral da il1, não foram observadas fibras musculares se inserindo no corpo glandular em nenhuma das espécies analisadas (Figs. 13C, D, E; 15B, C).

Em Sibon nebulatus, a origem do músculo levator anguli oris mostrou ser medial à glândula de Harder e ao músculo adductor mandibulae externus superficialis (Fig. 16A). A origem do levator anguli oris está confinada a uma área estreita. As fibras se levantam a partir da base posteromedial do osso pós-orbital e adjacentes à superficie do parietal, abaixo das fibras anteriores do adductor mandibulae externus superficialis (Fig. 16A). As fibras do levator anguli oris se estendem ventralmente até se curvarem logo atrás do ângulo da boca, de onde se estendem no sentido anterior (Figs. 16A, H). Diferentemente do verificado para os gêneros Dipsas e Sibynomorphus, entretanto, as fibras musculares do levator anguli oris foram observadas inseridas na superfície póstero-dorsal da glândula infralabial (Fig. 16H). Nota-se ainda que, nos cortes histológicos transversais da cabeça, o diâmetro apresentado pelo músculo levator anguli oris de S. nebulatus ao longo da mandíbula, é bem menor do que o verificado nas espécies dos gêneros Dipsas e Sibynomorphus (Figs. 9C; 10C; 13D; 15B; 16H). Em Tropidodipsas sartorii, o músculo levator anguli oris apresenta virtualmente a mesma condição verificada em Sibon nebulatus (Fig. 17A).

#### 4.3 Desenvolvimento embrionário das glândulas labiais de Sibynomorphus mikanii

Estágio 1, 10 dias após a ovipostura. Estágio 26 (Zehr, 1962). (Figs. 29A, B).

Neste estágio o embrião mede 35 mm de comprimento total e 2 mm de comprimento da cabeça. O cálice óptico está pigmentado. Não foram observadas pálpebras. O corpo do embrião está enrolado e não foram observadas escamas ou pigmentação. As fendas branquiais estão fechadas e a extremidade anterior do processo mandibular alcança o nível anterior do cálice óptico (Fig. 29A). O rombencéfalo está aberto medialmente na região accipital (Figs. 29B). Nos cortes histológicos, as estruturas mais proeminentes na região anterior da cabeça do embrião são o órgão de Jacobson e a cavidade nasal (Fig. 29C). Os olhos foram observadas estruturas relacionadas à musculatura ou às glândulas cefálicas, nem tecido ósseo e/ou cartilaginoso neste estágio (Fig. 29D). A região mandibular e maxilar está constituída por um grande número de células indiferenciadas (mesenquimais).

Estágio 2, 25 dias após a ovipostura. Estágio 32 (Zehr, 1962). (Figs. 30A, B). Neste estágio, o embrião mede 55 mm de comprimento total e 5 mm de comprimento da cabeça. As pálpebras estão fusionadas e cobrem o cálice óptico (Fig. 30B). A extremidade anterior da mandíbula alcança a narina. As aberturas externas das narinas já estão visíveis. Sacos endolinfáticos estão visíveis na região occipital (Fig. 30A). As escamas ventrais estão fusionadas até o primeiro terço do corpo. O corpo não apresenta pigmentação ou escamas (Fig. 30A, B). Nas preparações histológicas, diversas estruturas foram observadas na região cefálica, como por exemplo, a cartilagem quadrada, de Meckel e a cápsula ótica (Fig. 30D), centros de ossificação de diversos ossos, alguns músculos cefálicos e a língua. A cartilagem de Meckel ocupa praticamente toda a mandíbula, se estendendo desde a articulação mandibular até a região anterior da boca. Todos os ossos dentígeros apresentam suas respectivas lâminas dentais (Fig. 30C). Os primórdios das glândulas supra e infralabiais aparecem ao longo da região maxilar e mandibular, respectivamente, e se desenvolvem a partir de um espessamento do epitélio de revestimento do mesênquima (Fig. 30C). Este espessamento se constitui pela proliferação de células PAS positivas e se apresenta como uma estrutura diminuta (cerca de 0,028 mm de diâmetro), arredondada e, embora presente tanto na região maxilar quanto na mandibular, é melhor visualizada na região mandibular (Fig. 30C). O músculo *levator anguli oris* foi observado pela primeira vez e contorna o ângulo da boca. Foi observada a presença de uma lâmina epitelial que se invagina pelo mesênquima da região mandibular, independentemente do espessamento do epitélio de revestimento do mesênquima. Esta lâmina mede cerca 1,3 mm de comprimento e ocupa uma posição mais anterior, e se estende em uma posição mais ventral do que a lâmina dental do osso dentário (Figs. 30D, E, F). Esta lâmina deve corresponder ao primórdio da porção ventromedial da glândula infralabial, como verificado nos estágios a seguir.

Estágio 3, 32 dias após a ovipostura. Estágio 36 (Zehr, 1962). (Figs. 31A, B). Neste estágio o embrião mede 75 mm de comprimento total e 7 mm de comprimento da cabeça. Os sacos endolinfáticos continuam visíveis. O hemipênis está evertido, bilobado, sulcado e com duas protuberâncias na base de cada um. Corpo coberto por escamas, excetuando-se a região parietal (Figs. 31A, B). O corpo apresenta coloração (Figs. 31A, B). Os primórdios das glândulas labiais, representados pelo espessamento do epitélio de revestimento do mesênquima na região maxilar e mandibular, e observados no estágio anterior (Fig. 30C) continuam presentes. Entretanto, neste estágio, além do espessamento epitelial é verificada, principalmente na região maxilar, a invaginação dentro do mesênquima por uma lâmina epitelial que se forma a partir do espessamento epitelial (Fig. 31D). O espessamento do epitélio de revestimento do mesênquima foi observado tanto nos cortes sagitais, quanto nos transversais (Figs. 31C, D). O espessamento observado na região maxilar, entretanto, continua menos evidente do que aquele da região mandibular (Fig. 31E). Tanto o espessamento do epitélio, quanto as invaginações no interior do mesênquima mostram-se positivos à reação histoquímica do PAS (Fig. 31E), indicando a presença de mucosubstâncias. Na região mandibular foi observado o início da ramificação da lâmina epitelial correspondente a porção ventromedial da glândula infralabial (Fig. 31F). Na região posterior da boca, o músculo levator anguli oris foi observado e se estende por entre os dois primórdios da glândula infralabial, o que favorece a distinção entre a porção lateral e ventromedial da glândula (Figs. 31E, F). Na região anterior da boca, no entanto, as fibras musculares não foram observadas e a distinção entre as duas porções da glândula infralabial se torna menos evidente (Fig. 31D).

Estágio 4, 41 dias após a ovipostura. Estágio 37 (Zehr, 1962). (Figs. 32A, B). Neste estágio o embrião mede 115 mm de comprimento total e 7,5 mm de comprimento da cabeça. O embrião apresenta uma diferenciação morfológica que se assemelha à morfologia de um adulto. A região parietal apresenta escamas e a pigmentação aumentou em relação ao estágio anterior (Figs. 32A, B). As escamas ventrais são totalmente fusionadas com exceção da região

próxima à cloaca. As lâminas dentais dos ossos dentígeros são visualizadas (Figs. 32C, D). As glândulas infra e supralabiais mostram-se ramificadas e foi observado o início da diferenciação dos ácinos e dutos (Figs. 32D, E). O duto principal da porção ventromedial da glândula infralabial se estende longitudinalmente ao longo de toda a porção anterior da mandíbula e se abre na região anterior da boca (Figs. 32D, E). Os dutos da glândula supralabial, bem como da porção lateral da glândula infralabial são curtos, disposto perpendicularmente ao eixo principal da glândula e se abrem na região do lábio (Figs. 32E, F). No nível dos olhos o músculo *levator anguli oris* está disposto entre a porção lateral e a porção ventromedial da glândula infralabial (Fig. 32E). Na região posterior da cabeça, o músculo levator anguli oris se estende dorsoventralmente desde a região próxima ao osso parietal, passando lateralmente pela glândula de Harder, se dispondo na região dorsal da porção ventromedial da glândula infralabial (Fig. 33A). Nesta região verificam-se as duas porções da glândula infralabial, bem como a glândula supralabial (Fig. 33B). Enquanto a porção lateral da glândula infralabial e a glândula supralabial estão associadas ao lábio da serpente, a porção ventromedial da glândula infralabial não apresenta nenhuma ligação com o lábio (Figs. 33A, B). Na região posterior da boca foi verificada uma invaginação do tecido epitelial no mesênquima, o que pela disposição e local de abertura no interior da boca, deve corresponder à glândula rictal (Fig. 33D). Não foi observada qualquer estrutura que pudesse representar o primórdio da glândula de Duvernoy.

## 4.4 Descrição da dentição

A análise da superfície dos dentes por meio da microscopia eletrônica de varredura evidenciou ampla variação morfológica. Foi constante a presença das cristas, as chamadas "ridges", na superfície lateral, medial, anterior e posterior dos dentes, além das cristas dentárias acessórias (VAETH et al., 1985), as quais foram observadas principalmente na superfície posterior dos dentes. Foram observados os três tipos básicos de dentes previamente relatados por Wright et al. (1979) em serpentes do gênero *Thamnophis* – recurvados, curvados e lineares. Abaixo são descritas as principais características encontradas nos dentes dos dipsadíneos estudados, particularmente àquelas referentes aos dentes maxilares e do dentário.

Em *Atractus pantostictus*, o maxilar apresenta 6 (seis) dentes levemente curvados (Fig. 34A). O tamanho dos dentes mostrou ser constante ao longo de todo o maxilar, entretanto, o último dente apresenta cerca de 2/3 do tamanho dos demais (Fig. 34A). Não foi observada a presença de diastema ou dente sulcado ao longo do maxilar. Os dentes apresentam cristas

laterais e mediais que se estendem desde o ápice até a região mediana (Figs. 43B, C). O palatino comporta cerca de 5 (cinco) dentes levemente curvados (Figs. 34D, E). Estes dentes apresentam cristas na superfície medial e lateral, que se estendem desde o ápice até a região mediana. O pterigóide apresenta cerca de 14 (quatorze) dentes curvados (Fig. 34D), e as cristas laterais se estendem desde o ápice até a região mediana (Fig. 34E). Os dentes do pterigóide são menores do que os dentes do palatino (Fig. 34D) e exibem um diminuição no seu tamanho no sentido posterior. O dentário apresenta 07 (sete) dentes curvados (Figs. 35A, B). Os dentes da região mediana são um pouco maiores do que os observados na região anterior, entretanto, a partir da região mediana foi observada uma redução gradual no tamanho dos dentes no sentido posterior, sendo que o último dente exibe cerca de 1/3 do tamanho dos demais (Fig. 35C). Os dentes apresentam cristas laterais e mediais que se estendem desde o ápice até a região mediana (Fig. 35D). Estas cristas são melhor visualizadas na superfície lateral do que na superfície medial.

Em Adelphicos quadrivirgatum, o maxilar apresenta 09 (nove) dentes (Fig. 36A). O tamanho dos dentes pouco se reduz no sentido posterior, entretanto, o último dente apresenta cerca da metade do tamanho dos demais (Fig. 36A). Os dentes são curvados ou recurvados e levemente orientados para o interior. Não foi observada a presença de diastema ou dentes sulcados ao longo do maxilar (Figs. 36A, B). As cristas laterais são pouco visíveis, ficando restritas à região apical dos dentes, principalmente na superfície medial (Fig. 36C). O último dente maxilar apresenta cristas na superfície medial e lateral, assim como os demais dentes maxilares (Fig. 36C, inserto). Foram observadas cristas auxiliares, as quais estão restritas à região basal da superfície posterior dos dentes (Figs. 36C, D). O dentário apresenta 11 (onze) dentes lineares (Fig. 36F). Assim como observado nos dentes maxilares, os dentes do dentário mostram ser levemente voltados para o interior (Fig. 36E). Poucas cristas laterais e mediais foram observadas e quando presentes restringem-se a região apical dos dentes (Fig. 36G). As cristas auxiliares, estão restritas à região basal da superfície posterior dos dentes restringem-se a, assim como descrito para os dentes maxilares, por outro lado, se mostram bem evidentes e, assim como descrito para os dentes maxilares, estão restritas à região basal da superfície posterior das dentes (Fig. 36G). As

Em *Geophis nasalis*, o maxilar apresenta 13 (treze) dentes (Fig. 37A). O tamanho dos dentes na região mediana do osso é maior do que o observado nos dentes da região anterior e posterior (Fig. 37A). Os dentes mostram ser levemente recurvados e apresentam cristas bem evidentes na superfície lateral e medial (Figs. 37B, C). Estas cristas foram observadas inclusive no último dente maxilar (Fig. 37D). Não foi observado diastema ou dentes sulcados ao longo do maxilar. Foram observadas cristas auxiliares pouco evidentes na região basal da

superfície posterior dos dentes (Fig. 37D). O osso dentário apresenta cerca de 20 (vinte) dentes curvados (Figs. 37E, F). O tamanho dos dentes exibe uma leve redução gradual no sentido posterior (Fig. 37E). As cristas laterais e mediais foram observadas somente na região apical dos dentes (Figs. 37F, G). Na superfície posterior dos dentes foram observadas cristas acessórias, que são mais evidentes do que aquelas dos dentes maxilares (Figs. 37D, G, H). Estas cristas auxiliares foram observadas em toda a superfície posterior dos dentes, embora mais evidentes na região basal (Fig. 37H).

Em Ninia atrata, o maxilar apresenta cerca de 20 (vinte) dentes finos, compridos e curvados (Fig. 38A). Estes dentes praticamente não sofrem redução de tamanho no sentido posterior. A superfície dos dentes é lisa, não sendo observado nenhum tipo de crista lateral, medial ou auxiliar (Figs. 38A, B). O dentário apresenta cerca de 10 (dez) dentes lineares ou levemente curvados, sem redução de tamanho no sentido posterior. Estes dentes, assim como descrito para os dentes maxilares, não apresentam nenhum tipo de crista ou qualquer outra estrutura associada à sua superfície (Figs. 38C, D). Em Ninia sebae, o maxilar apresenta 12 (doze) dentes levemente curvados (Figs. 39A, B). O tamanho dos dentes praticamente não diminui no sentido posterior, embora o último dente maxilar tenha apresentado cerca de 2/3 do tamanho dos demais (Fig. 39A). Foram observadas cristas laterais e mediais que se estendem por toda a superfície dos dentes, sendo melhor visualizadas na superfície lateral (Figs. 39C, D). Estas cristas foram observadas inclusive no último dente maxilar. Não foi observada a presença de diastema ou dentes sulcados ao longo do maxilar (Fig. 39A). O dentário apresenta 20 (vinte) dentes levemente curvados e voltados para o interior (Fig. 39E). O tamanho dos dentes exibe uma leve redução gradual no sentido posterior (Fig. 39F). Todos os dentes apresentam cristas laterais e mediais que se estendem desde o ápice até a base (Fig. 39F). Além destas cristas, os dentes do dentário apresentam cristas auxiliares pouco desenvolvidas, as quais foram observadas principalmente na região basal da superfície posterior (Figs. 39G, H). Estas cristas se mostram bem menos evidentes do que àquelas verificadas em Adelphicos quadrivirgatum e Geophis nasalis (Figs. 36D; 37H, respectivamente).

Em *Dipsas albifrons*, o maxilar apresenta 08 (dentes) dentes curvados (Fig. 40A). A região posterior do maxilar apresenta um dente reduzido, com aproximadamente metade do tamanho dos demais (Fig. 40A). A superfície anterior dos dentes maxilares é lisa, enquanto que a superfície posterior está repleta de cristas auxiliares, as quais se estendem desde o ápice até a base dos dentes (Figs. 40B, C). Foram observadas cristas laterais e mediais que se estendem por todo o comprimento dos dentes, embora tenham sido melhor visualizadas na

superfície lateral (Fig. 40B). Estas cristas foram observadas inclusive no último dente maxilar. Não foi observada a presença de diastema ou dentes sulcados ao longo do maxilar (Fig. 40A). O dentário apresenta 23 (vinte e três) dentes curvados (Figs. 40D, E). O tamanho dos dentes apresenta uma leve redução gradual no sentido posterior (Fig. 40D). Todos os dentes apresentam cristas laterais e mediais que se estendem desde o ápice até a base, além das cristas auxiliares, que ocupam toda a superfície posterior dos dentes (Figs. 40E, F). Em Dipsas indica, o maxilar apresenta 12 (doze) dentes. Os dentes são curvados e o seu tamanho pouco diminui no sentido posterior, embora o último dente tenha apresentado cerca de 2/3 do tamanho dos demais. Foram observadas cristas laterais e mediais que se estendem desde o ápice até a base dos dentes (Figs. 41A, B). As cristas auxiliares ocupam toda a superfície posterior dos dentes, embora tenham sido melhor visualizadas na região basal (Fig. 41B). Não foi observada a presença de diastema ou dentes sulcados ao longo do maxilar. O dentário apresenta cerca de 20 (vinte) dentes (Fig. 41C). Os dentes são recurvados e apresentam cristas na superfície lateral e medial, as quais se estendem por praticamente todo o seu comprimento, desde o ápice até a base (Fig. 41D). Estas cristas são mais evidentes em vista medial do que em vista lateral (Figs. 41D, F). A superfície posterior dos dentes é marcada pela presença das cristas auxiliares, as quais foram observadas ao longo de todo o comprimento dos dentes, embora melhor visualizadas na região basal (Fig. 41E).

Em Sibynomorphus mikanii, o maxilar é encurtado e apresenta 12 (doze) dentes (Fig. 42A). A região anterior do maxilar é afilada e desprovida de dentes (Fig. 42A). Os dentes maxilares são curvados e apresentam cristas laterais e mediais, sendo que as laterais são mais evidentes do que as mediais (Figs. 42B, C). Estas cristas se estendem desde o ápice até a região mediana dos dentes (Figs. 42B, C). Foram observadas cristas acessórias na superfície posterior dos dentes, entretanto, elas são mais suaves do que aquelas verificadas nas serpentes do gênero *Dipsas* (Figs. 42D; 41B; 40C). Não foram observados diastema ou dentes sulcados ao longo do maxilar (Fig. 42A). O dentário apresenta cerca de 20 (vinte) dentes curvados (Fig. 42E), os quais exibem uma redução gradual de tamanho no sentido posterior. Estes dentes apresentam cristas na superfície lateral e medial, que se estendem desde o ápice até a região mediana, além das cristas acessórias que ocupam toda a sua superfície posterior (Fig. 42F). Em Sibynomorphus neuwiedi, o maxilar apresenta 15 (quinze) dentes curvados (Fig. 43A), os quais exibem pouca redução de tamanho no sentido posterior, embora o último dente tenha sido um pouco menor do que os demais (Fig. 43A). Estes dentes são mais compridos e afilados do que os dentes de S. mikanii (Figs. 42A; 43A, respectivamente). Não foram observados diastema ou dentes sulcados ao longo do maxilar (Fig. 43A). Os dentes apresentam cristas laterais que se estendem desde o ápice até a região mediana e cristas auxiliares restritas a superfície posterior (Figs. 43B, C). O dentário apresenta cerca de 30 (trinta) dentes curvados, os quais reduzem gradualmente de tamanho no sentido posterior (Fig. 43D). Estes dentes apresentam cristas laterais e mediais que se estendem desde o ápice até a região mediana, e cristas auxiliares que, embora tenham sido vistas ao longo de toda a superfície posterior, ocupam principalmente a região basal dos dentes (Fig. 43E).

Em *Sibon nebulatus*, o maxilar apresenta cerca de 20 (vinte) dentes curvados (Fig. 44A). Estes dentes apresentam cristas laterais que se estendem desde o seu ápice até a base, e cristas mediais que são mais evidentes na porção apical (Figs. 44A, B). As cristas auxiliares ocupam toda a superfície posterior dos dentes (Figs. 44C, D). Não foram observados diastema ou dentes sulcados ao longo do maxilar. O dentário apresenta cerca de 20 (vinte) dentes curvados (Fig. 44E), os quais exibem pequena redução de tamanho no sentido posterior. Os dentes apresentam cristas laterais distribuídas por toda a superfície, desde o ápice até a base (Fig. 44F), e cristas mediais pouco evidentes, restritas à região apical (Fig. 44G). A superfície posterior dos dentes apresenta diversas cristas auxiliares que, embora tenham ocupado toda a superfície dos dentes, foram mais evidentes na região basal (Figs. 44G, H).

Em Leptodeira annulata, o maxilar apresenta 18 (dezoito) dentes recurvados (Figs. 45A, B). A superfície dos dentes é totalmente lisa, apresentando cristas restritas à superfície lateral e medial, as quais são observadas somente na porção apical dos dentes (Fig. 45B). A região posterior do maxilar apresenta dois dentes alargados, sendo que somente um deles está implantado (Fig. 45A). Ambos estão separados dos demais dentes maxilares por um diastema (Fig. 45A). O dente posterior ao diastema é maior que os dentes anteriores e apresenta um sulco largo e profundo que ocupa cerca de 2/3 da sua superfície anterior (Figs. 45A, C). Este dente apresenta cristas na superfície anterior e posterior, ao contrário dos dentes anteriores que apresentam cristas na superfície lateral e medial (Figs. 45B, C, D). Na superfície posterior do dente, a crista se estende desde a sua porção apical até a base, enquanto que na superfície anterior, ela se mantém restrita à porção apical (Figs. 45C, D, E). O dentário apresenta 26 (vinte e seis) dentes lineares (Figs. 46A, B). Estes dentes mostram ser orientados para o interior (Fig. 46C). O tamanho dos dentes diminui gradualmente no sentido posterior (Fig. 46A). Estes dentes apresentam cristas na superfície lateral e medial, as quais foram observadas somente na região apical (Fig. 46B). O pterigóide apresenta 21 (vinte e um) dentes curvados (Fig. 46D). Estes dentes apresentam cristas laterais e mediais restritas à porção apical (Fig. 46E), e mostram uma redução gradual de tamanho no sentido posterior. O

palatino apresenta 11 (onze) dentes recurvados (Fig. 46F). As cristas na superfície lateral e medial ocupam somente a região apical dos dentes (Fig. 46G).

Em *Imantodes cenchoa*, o maxilar apresenta 13 (treze) dentes curvados ou levemente recurvados (Figs. 47A, B). Os dentes maxilares exibem superfície lisa e cristas laterais restritas à região apical (Fig. 47B). A região posterior do maxilar apresenta dois dentes alargados e separados dos demais por um diastema (Fig. 47A). Os dois dentes posteriores ao diastema são maiores que os anteriores (Fig. 47A). Estes dentes apresentam um sulco largo que ocupa cerca de 2/3 da sua superfície anterior (Fig. 47D). O sulco observado em *Leptodeira annulata* é mais estreito e profundo do que o verificado em *Imantodes cenchoa* (Figs. 45C; 47D). Em ambos os dentes posteriores ao diastema foram observadas cristas na superfície anterior e posterior, sendo que a crista na superfície posterior se estende desde o ápice até a base do dente, enquanto que a crista na superfície anterior se estende desde o ápice até um pouco além da região mediana (Figs. 47C, D). O dentário apresenta 23 (vinte e três) dentes curvados ou lineares (Figs. 48A, B). O tamanho dos dentes diminui gradualmente no sentido posterior, sendo que o dente mais posterior tem aproximadamente 1/3 do tamanho do dente mais anterior (Fig. 48D). Todos os dentes apresentam cristas laterais e mediais restritas à porção apical (Fig. 48B). Os dentes mostram ser orientados para o interior (Fig. 48C).

Em Tomodon dorsatus, o maxilar é encurtado e não apresenta dentes no seu terço anterior (Fig. 49A), condição parecida com a verificada em Sibynomorphus mikanii (Fig. 42A). O número de dentes é reduzido, sendo observado um total de 4 (quatro) dentes (Fig. 49A). Os dentes maxilares mostram ser curvados e exibem cristas laterais, as quais se estendem desde o seu ápice até a base (Fig. 49B), enquanto que as cristas mediais mostram ser restritas à metade superior dos dentes. A região posterior do maxilar apresenta dois dentes alargados, ambos separados dos demais por um diastema, sendo que somente um deles está implantado (Figs. 49A, D). O dente posterior ao diastema se difere dos demais por ser maior, cerca de três vezes o comprimento dos dentes anteriores, totalmente linear, ao invés de curvado, e por apresentar um sulco estreito e profundo que ocupa cerca de 2/3 de sua superfície lateral (Figs. 49A, C, D). O dente posterior ao diastema apresenta uma crista anterior que se estende por cerca de 1/3 do seu comprimento e uma crista posterior que ocupa todo o seu comprimento, desde o ápice até a base (Figs. 49C, E). O dentário apresenta 15 (quinze) dentes lineares (Fig. 50A). O tamanho dos dentes apresenta uma redução gradativa, sendo que o dente mais posterior tem cerca de 1/3 do comprimento do mais anterior (Fig. 50A). Todos os dentes apresentam cristas laterais, as quais se estendem por todo o seu comprimento, desde o ápice até a base, e cristas mediais, que são visualizadas principalmente

na metade superior dos dentes (Figs. 50B, C, D, E). Os dentes maxilares, bem como os dentes do dentário de *T. dorsatus* não apresentam cristas acessórias (Figs. 49B; 50C).

# 5. DISCUSSÃO

## 5.1 As glândulas

## 5.1.1 Glândulas labiais

O conceito tradicional acerca das glândulas labiais (supra e infralabiais) nas serpentes aponta que elas são geralmente formadas por células mucosas, constituídas por um conjunto de pequenas glândulas individuais, dispostas ao longo do lábio e separadas entre si por septos de tecido conjuntivo. Estas pequenas glândulas são chamadas de polistomáticas por apresentarem dutos curtos e individuais que se abrem na cavidade oral de maneira independente (SMITH & BELLAIRS, 1947; GABE & SAINT GIRONS, 1969; ZAGO, 1971; KOCHVA, 1978, UNDERWOOD, 2002). Embora poucos estudos tenham procurado demonstrar a função biológica da secreção produzida por estas glândulas, geralmente é atribuída a elas a função de lubrificação, o que deve favorecer no processo de ingestão dos alimentos (KOCHVA, 1978).

Dentre os dipsadíneos, diversos autores apontam que as glândulas infralabiais são bem desenvolvidas e constituídas por células serosas ou seromucosas, fato que é frequentemente associado ao peculiar hábito alimentar dessas serpentes (TAUB, 1967a, b; GANS, 1972; LAPORTA-FERREIRA, 1985; LAPORTA-FERREIRA & SALOMÃO, 1991; SALOMÃO & LAPORTA-FERREIRA, 1994; OLIVEIRA et al., 2008). Os resultados obtidos no presente estudo, particularmente entre os goo-eaters, apontam ampla variação morfológica e histoquímica nas glândulas infralabiais, enquanto que as supralabiais são mais uniformes quanto à sua morfologia.

Dentre os dipsadíneos estudados, os gêneros *Dipsas* e *Sibynomorphus* são os que apresentam o maior número de modificações associadas às glândulas infralabiais, seguidos pelo gênero *Geophis*, cujas modificações são descritas no Apêndice I. Em todas as espécies dos gêneros *Dipsas* e *Sibynomorphus* analisadas, as glândulas infralabiais são divididas em duas porções, a il1 e a il2 (Fig. 25). Além disso, a il2 apresenta um duto único que se estende ao longo de praticamente todo o comprimento da glândula e se abre na região anterior da boca. Tais modificações, acrescidas da presença de células seromucosas no interior dessas glândulas (SALOMÃO &

LAPORTA-FERREIRA, 1994; OLIVEIRA et al., 2008) constituem características únicas e exclusivas que diferem esses dois gêneros dos demais dipsadíneos e aparentemente de todas as espécies de serpentes estudadas. Apesar da divisão das glândulas infralabiais em duas porções (il1 e il2) ter sido verificada também em *Geophis*, ambas as condições são claramente distintas (Fig. 25), o que pode ser confirmado pelas diferenças morfológicas existentes nestas glândulas entre as serpentes dos gêneros *Dipsas* e *Sibynomorphus*, quando comparadas à *Geophis*, conforme relatado aqui e no Apêndice I.

Underwood (2002) reportou uma glândula infralabial dividida em duas partes em *Cylindrophis ruffus* (Cylindrophiidae) e considerou pouco provável a possibilidade da "segunda" glândula infralabial ser, na verdade, uma glândula mandibular que se estendeu para trás, visto que ela não apresenta associação com músculos. Ele chamou atenção para a necessidade de investigações mais detalhadas acerca do significado dessas observações. Haas (1964) descreveu na cobra-cega *Liotyphlops albirostris* (Anomalepididae), uma glândula infralabial acessória, entretanto, Taub (1966), examinando cortes histológicos da cabeça de outra cobra-cega, *Typhlops vermicularis* (Typhlopidae) não encontrou evidências da glândula infralabial acessória descrita por Haas (1964), deixando a questão em aberto. Ainda assim, ambas as condições são apenas superficialmente similares à verificada nos gêneros *Dipsas* e *Sibynomorphus*.

Em Sibynomorphus, a ligação entre as duas porções da glândula infralabial ocorre na região anterior da boca, onde ambas se conectam por meio de uma área de transição composta por células mucosas, como verificado por Oliveira et al. (2008). Em *Dipsas*, a ligação também ocorre na região anterior da boca, entretanto, diferentemente do observado em *Sibynomorphus*, na região de contato entre as duas porções glandulares são verificadas uma série de pequenos dutos que se abrem no interior da boca e parecem favorecer a ligação entre as duas porções glandulares (Fig. 8B; 9D, por exemplo). Em ambos os gêneros, no entanto, os locais de liberação da secreção provenientes das duas porções glandulares são similares. Enquanto a abertura verificada no assoalho da boca, no nível da extremidade anterior do osso dentário constitui o local de liberação da secreção da il2 (Fig. 8D, E; 14B, D; 15E), a il1 libera a sua secreção por meio de pequenos dutos que se abrem sob as escamas infralabiais ao longo de toda a boca da serpente (Fig. 13F). Laporta-Ferreira & Salomão (1991) observaram em *Sibynomorphus neuwiedi* um canal excretor, resultante da fusão de dois outros canais, se dirigindo para a região rostral da cabeça, local sugerido para a

abertura do duto na cavidade oral, enquanto Zaher (1996) observou dutos excretores na metade anterior da glândula infralabial de *Dipsas neivai*. Nos dois casos, esses autores relacionaram tais observações ao hábito peculiar dessas serpentes de se alimentar de caracóis. Ainda, segundo eles, os dutos excretores direcionados para a região rostral da cabeça conduziriam a secreção da glândula infralabial à mandíbula e, dessa forma, o conteúdo "venenoso" presente nessas glândulas seria introduzido no interior da concha do molusco, auxiliando no seu processo de extração. Tal hipótese parece corroborada pelas observações de Laporta-Ferreira et al. (1986) e Sazima (1989) acerca dos mecanismos de captura e ingestão dos moluscos onde, durante o processo de extração, somente a mandíbula das serpentes é inserida no interior da concha do molusco, enquanto que o maxilar parece desempenhar a função de segurar a concha.

Em Dipsas indica, D. albifrons, bem como em Sibynomorphus mikanii e S. neuwiedi, a presença do duto da il2 se estendendo desde a região posterior da glândula infralabial, local onde estão concentradas as células seromucosas, até a sua abertura na região anterior da boca (Fig. 8C; 10B, D), corrobora com a ideia de que a secreção dessas glândulas possa contribuir no processo de extração e/ou manipulação dos moluscos. O duto único e alargado verificado nessas glândulas pode fornecer uma quantidade de secreção maior do que aquela disponibilizada pelos diversos dutos curtos e individuais. Adicionalmente, embora não tenhamos verificado um acúmulo de secreção no interior desses dutos, eles poderiam ainda atuar como locais de armazenamento da secreção, permitindo às serpentes uma disponibilidade maior da secreção quando necessário, algo análogo ao verificado nas glândulas infralabiais de *Geophis*, onde o lúmen no interior das glândulas funciona como local de estocagem da secreção (KOCHVA, 1987; Apêndice I).

Além disso, a presença de um duto alargado se estendendo ao longo de toda a glândula infralabial, conduzindo a secreção desde a região posterior da glândula até a região anterior da boca, como verificado nas espécies dos gêneros *Dipsas* e *Sibynomorphus*, aponta para a aquisição de um novo sistema de liberação da secreção em glândulas labiais de serpentes. Uma condição que se mostra em oposição aos diversos dutos curtos e individuais que se abrem na cavidade oral de maneira independente (SMITH E BELLAIRS, 1947; ZAGO, 1971; KOCHVA, 1978, UNDERWOOD, 2002). Esta característica, além de sugerir funções adicionais para estas glândulas, aponta para alterações no seu desenvolvimento embrionário, como

verificado nos embriões de Sibynomorpus mikanii (ver adiante no item 5.3 da discussão).

Além das espécies dos gêneros *Dipsas* e *Sibynomorphus*, a presença de dutos voltados para a região anterior da boca é também verificada em *Geophis* (ver Apêndice I), onde é observada tanto na porção anterolateral, quanto na posteromedial da glândula infralabial. Outras espécies que apresentam tais características nas glândulas infralabiais são *Sibon nebulatus*, *Tropidodipsas sartorii*, *Ninia hudsoni*, *N. sebae*, *Chersodromus liebmanni*, além de *Coniophanes fissidens* e *Urotheca elapoides*. Entretanto, somente na il2 de *Dipsas* e *Sibynomorphus*, bem como na porção posteromedial da glândula infralabial de *Geophis* é observado somente um duto único voltado para a região anterior da boca. Em todas as demais espécies, além dos dutos direcionados para a região anterior, são também verificados dutos curtos que se abrem na margem interna do lábio ao longo de toda a boca.

Underwood (2002) relatou uma condição parecida para as glândulas labiais em diversas espécies de serpentes basais. De acordo com Underwood, os dutos das glândulas infra e supralabiais se abrem usualmente por meio de diversos dutos curtos ao longo da margem do lábio, mas podem também se abrir obliquamente para frente. No presente estudo, embora as glândulas infralabiais de diversas espécies de dipsadíneos tenham apresentado dutos voltados para a região anterior da boca, as glândulas supralabiais mostraram um padrão típico de glândulas labiais, apresentando uma série de dutos curtos e obliquamente orientados no interior das glândulas, os quais se abrem independentemente na boca, no interior do canal/sulco formado entre as escamas supralabiais e o epitélio oral, como previamente relatado por Taub (1966).

Outra característica a ser considerada é a inserção das fibras musculares do *intermandibularis posterior, pars posterior* na cápsula de tecido conjuntivo da il2, uma condição verificada, por exemplo, em *Dipsas indica e D. neivai*, e que pode favorecer no processo de liberação da secreção dessas glândulas, funcionando como *compressor glandulae*, como sugerido por Zaher (1996). Além disso, a proximidade dessas glândulas com o músculo *levator anguli oris*, particularmente do duto da il2, o qual se dispõe na região dorsal da glândula, muito próximo da superfície ventral do músculo (Figs. 10D; 13C, E), também chama a atenção. Apesar de não termos verificado a inserção das fibras musculares na cápsula de tecido conjuntivo da il2, é possível que a proximidade das fibras musculares com esta porção da glândula, particularmente com o duto alargado, favoreça na liberação da secreção do interior das glândulas, algo similar ao verificado

por Jansen & Foehring (1983), que demonstraram a estimulação indireta das glândulas de Duvernoy de *Thamnophis sirtalis* (Natricidae) por meio da musculatura adjacente.

Nas duas espécies de Sibynomorphus analisadas (S. mikanii e S. neuwiedi), a ill é constituída basicamente por células mucosas, enquanto que a il2 é constituída por células seromucosas. Na il2, entretanto, também são observadas células mucosas, porém restritas a região anterior da boca e ao epitélio de revestimento dos dutos, conforme descrito por Oliveira et al. (2008). Esse mesmo padrão estrutural é frequentemente descrito para as glândulas de Duvernoy de muitos Colubroides Endoglyptodonta (sensu ZAHER et al., 2009) sem um sistema de liberação de veneno com presas anteriores (TAUB, 1967a; YOSHIE, 1982; ZALISKO & KARDONG, 1992), nos quais os dutos além de transportarem a secreção produzida nas unidades secretoras, são também responsáveis pela secreção de muco. Taub (1967b) já havia notado analogias entre as glândulas infralabiais dos dipsadíneos e as glândulas de Duvernoy de outros "colubrídeos". De acordo com critério apontado por Kochva (1978), a il2 de S. mikanii não se enquadra como sendo tecido glandular de natureza mista, visto que as unidades secretoras são constituídas exclusivamente por células seromucosas, enquanto que apenas o epitélio dos dutos apresenta células mucosas. No entanto, considerando as duas porções dessa glândula como um todo, a sua classificação poderia ser considerada como mista.

Em Ninia sebae e N. hudsoni, as glândulas infralabiais apresentam o mesmo padrão histológico observado na il2 de Sibynomorphus. Nas duas espécies, as glândulas infralabiais são constituídas predominantemente por células seromucosas, enquanto que somente os dutos são revestidos por células mucosas. Em ambas as espécies de Ninia, os dutos alargados se dispõem ao longo de praticamente todo o corpo da glândula e se estendem no sentido anterior. Embora o local exato da abertura desses dutos no interior da boca dessas serpentes não tenha sido observado, a sua abertura está certamente associada à região anterior da boca. Em Chersodromus liebmanni, o epitélio secretor da glândula infralabial também apresenta semelhanças com o verificado nas glândulas de Sibynomorphus e Ninia, sendo constituído principalmente por células seromucosas, embora nesta espécie também sejam verificados ácinos mucosos estreitos que se distribuem principalmente nas proximidades do epitélio oral (Fig. 5D).

Por outro lado, as três espécies de *Atractus* analisadas (*A. pantostictus, A. reticulatus* e *A. zebrinus*) compartilham o mesmo tipo de epitélio secretor para as

glândulas infralabiais. As três espécies apresentam em um mesmo ácino dois tipos de células mucosas e um tipo de célula seromucosa, conforme previamente relatado para *A. reticulatus* (Oliveira et al., 2008). Esta condição, certamente enquadra tais glândulas como mistas, de acordo com o critério apontado por Kochva (1978).

A espécie de dipsadíneo cujas glândulas infralabiais mais se aproximam do padrão observado em Atractus é Adelphicos quadrivirgatum, embora nesta última não tenha sido verificada a presença de células seromucosas, somente dos dois tipos de células mucosas. Condição semelhante à encontrada em Atractus e Adelphicos foi verificada nas glândulas labiais de Micrurus corallinus (Elapidae) (LOPES et al., 1972) e Philodryas patagoniensis (Xenodontinae) (LOPES et al., 1982), indicando que a condição de glândulas labiais mistas parece estar amplamente distribuída entre as serpentes. Em D. indica, a glândula infralabial apresenta zonas distintas constituídas por células de natureza histoquímica diferente, conforme relatado por Oliveira et al. (2008). Nesta espécie, a glândula infralabial é constituída principalmente por células mucosas arranjadas em túbulos, enquanto que somente uma pequena parte da região posterior da glândula se constitui por ácinos seromucosos. Baccari et al. (2002), descrevem uma condição parecida nas glândulas infralabiais de Coluber viridiflavus (Colubridae). Em contraste, resultados obtidos para a glândula infralabial de D. *albifrons* indicam que elas são compostas em grande parte por células seromucosas, ao passo que as células mucosas são restritas aos lóbulos na região anterior e ao epitélio de revestimento do duto principal. Em D. neivai, a presença de diferentes tipos celulares observados no adulto e no juvenil da espécie, indica que ambas as condições podem ocorrer na espécie ou que tal polimorfismo esteja relacionado a uma variação ontogenética. Observações adicionais precisam ser feitas para uma melhor compreensão do fato. As glândulas infralabiais de Sibon nebulatus, por sua vez, também apresentam zonas distintas, constituídas por células de natureza histoquímica diferentes. As células seromucosas estão restritas à região posterior da glândula, enquanto que as células mucosas ocupam a região anterior, condição parecida com a encontrada na il2 de Dipsas indica. Em Tropidodipsas sartori, a condição apresentada pelo epitélio da glândula infralabial é superficialmente parecida com a de Dipsas *indica*, onde somente os ácinos da porção mais posterior da glândula são seromucosos. Ambas as glândulas também compartilham a presença de um duto alargado se distendendo por quase todo o seu comprimento. Entretanto, a forma da glândula se mostra bastante diferente entre as duas espécies, enquanto a il2 de D. indica é fina e
alongada, a glândula infralabial de *T. sartorii* é alargada, além disso, a quantidade de ácinos seromucosos no interior da glândula de *T. sartorii* é bem menor quando comparada àquela verificada na il2 de *D. indica*.

Enquanto praticamente todas as espécies de dipsadíneos goo-eaters analisadas, com exceção talvez à Adelphicos quadrivirgatum, apresentam glândulas labiais constituídas por ao menos uma pequena parte de células seromucosas, as glândulas labiais de Imantodes cenchoa e Leptodeira annulata não apresentam células seromucosas no seu interior, indicando uma condição mais parecida com o padrão típico de uma glândula labial, as quais são compostas por células mucosas e apresentam uma série de pequenos dutos que se abrem ao longo de toda a boca da serpente (SMITH & BELLAIRS, 1947; KOCHVA, 1978). Em Coniophanes fissidens e Urotheca elapoides, entretanto, as glândulas infralabiais se mostram compostas principalmente por células seromucosas, sendo que somente os dutos no interior dessas são revestidos por células mucosas. Além disso, os dutos no interior dessas glândulas se mostram voltados para a regiao anterior da boca, condição semelhante à verificada, por exemplo, em Sibon nebulatus. Em Tomodon dorsatus (Xenodontinae), as glândulas labiais também se mostram constituídas em parte por células seromucosas, sendo que tais tipos celulares estiveram concentrados principalmente na região posterior da glândula. Diferentemente da condição verificada entre os goo-eaters, entretanto, nenhuma dessas glândulas infralabiais apresentam associação com a musculatura adjacente.

Tais resultados demonstram que, embora os dipsadíneos goo-eaters tenham uma tendência de apresentarem células seromucosas associadas às glândulas labiais, esta condição não está restrita a esse grupo de serpentes. Entretanto, o conjunto de características associadas às glândulas labiais, tais como musculatura associada às glândulas infralabiais e glândulas infralabiais divididas em duas porções verificadas, por exemplo, em serpentes do gênero *Dipsas, Sibynomorphus* e *Geophis*, somadas à presença das células seromucosas no interior dessas glândulas, parecem constituir características únicas entre todas as espécies de serpentes estudadas e sugerem uma estreita associação com o peculiar hábito alimentar apresentado por essas serpentes, conforme previamente indicado por diversos autores (TAUB, 1966, 1967a, b; GANS, 1972; SALOMÃO & LAPORTA-FERREIRA, 1994; OLIVEIRA et al., 2008).

#### 5.1.2 Glândulas de Duvernoy

Por meio de observações macroscópicas, Fernandes (1995) propõe três estados de caracteres para as glândulas de Duvernoy: (1) muito reduzida ou ausente; (2) tamanho médio, estendendo longitudinalmente tanto quanto o músculo *adductor mandibulae externus superficialis*; (3) muito larga, ocupando a maior parte do espaço posterior da órbita e superior do ligamento quadrado-maxilar. Ainda, de acordo com o mesmo autor, todos os gêneros de goo-eaters se enquadram no estado (1), enquanto que os demais gêneros de dipsadíneos, que se alimentam de vertebrados, se enquadram no estado (2) ou (3). O estado (1), entretanto, não deixa claro se estas glândulas estão presentes ou ausentes.

De fato, determinar a presença ou ausência dessas glândulas por meio de observações macroscópicas é uma tarefa difícil e um tanto imprecisa, visto que em algumas espécies estas glândulas são muito reduzidas e se torna difícil distinguí-las das glândulas supralabiais, particularmente nos exemplares previamente fixados de coleções científicas. Somente por meio dos cortes histológicos seriados das cabeças inteiras das serpentes é possível acessar certos detalhes anatômicos acerca das glândulas orais e de algumas estruturas a elas associadas (UNDERWOOD, 2002). Por meio da análise de cortes histológicos das glândulas e não das cabeças inteiras, Taub (1967a), seguindo prévias observações de Phisalix (1922), aponta que serpentes representativas dos gêneros Ninia e Tropidodipsas não possuem glândulas de Duvernoy, enquanto que serpentes representativas dos gêneros Atractus, Dipsas, Geophis, Sibon e Sibynomorphus possuem tais glândulas. Além disso, Taub (1967a) indica que para *Atractus* não há referências sobre os tipos celulares que compõem estas glândulas, já em Dipsas, Geophis e Sibon, as glândulas são constituídas por células mucosas misturadas com células serosas, ao passo que em Sibynomorphus, as glândulas de Duvernoy são constituídas somente por células serosas. Para as serpentes representativas dos gêneros Adelphicos e Chersodromus não há informações sobre a presença ou ausência das glândulas de Duvernoy.

Dentre todos os gêneros de dipsadíneos goo-eaters, o que concentra o maior número de informações acerca das glândulas orais é sem dúvida o gênero *Sibynomorphus* (TAUB, 1967a; CONTRERA et al., 1983; LAPORTA-FERREIRA, 1985; SALOMÃO, 1991; LAPORTA-FERREIRA & SALOMÃO, 1991; SALOMÃO & LAPORTA-FERREIRA,

1994). Todos esses autores apontaram para a presença das glândulas de Duvernoy em *S. mikanii* e *S. neuwiedi* e em todas as descrições são relatadas glândulas de Duvernoy pequenas e constituídas por células serosas ou seromucosas. No presente trabalho, entretanto, os resultados obtidos por meio de observações macroscópicas, bem como através da análise dos cortes histológicos seriados das cabeças, não indicam a presença das glândulas de Duvernoy em nenhuma das duas espécies de *Sibynomorphus*. Por outro lado, foi verificada uma pequena glândula disposta na superfície póstero-dorsal da glândula supralabial e de acordo com as descrições encontradas na literatura, deve corresponder à glândula reconhecida como sendo a de Duvernoy (TAUB, 1967a; CONTRERA et al., 1983; LAPORTA-FERREIRA, 1985; SALOMÃO, 1991; SALOMÃO & LAPORTA-FERREIRA, 1994).

Nota-se que em todos os dipsadíneos que se alimentam prioritariamente de vertebrados, bem como em Tomodon dorsatus (Xenodontinae), as glândulas de Duvernoy se estendem desde a região pós-ocular até o nível do canto da boca, sendo claramente diferenciadas das supralabiais por meio da sua coloração, do aspecto geral dos lóbulos de secreção, bem como dos diferentes tipos celulares que as compõem (por exemplo, Figs. 18A, B; 19A; 20A, E; 24A). Já, as glândulas supralabiais, se estendem por toda a região maxilar, desde a superfície posterior da glândula pré-maxilar até o nível do canto da boca e ocupam a porção ventromedial da glândula de Duvernoy (Figs. 20A, E, F). As glândulas rictais, por sua vez, estão sempre associadas à região do canto da boca e se estendem a partir da superfície posterior das glândulas de Duvernoy e/ou na superfície posterior das glândulas supralabiais. Entre os dipsadíneos goo-eaters, particularmente S. mikanii e S. neuwiedi, as glândulas supralabiais se estendem desde a superfície posterior da glândula pré-maxilar até o canto da boca, e além do estreitamento dorsoventral verificado em S. mikanii (Figs. 14A, B), nenhuma outra modificação anatômica ou histológica é verificada ao longo de toda a sua extensão, que justifique a existência de uma glândula de Duvernoy. Apesar da dificuldade inerente ao tamanho diminuto, a disposição da suposta glândula de Duvernov reconhecida pelos diversos autores é mais condizente com uma glândula rictal do que com uma glândula de Duvernoy propriamente dita, visto que ela se dispõe em uma região muito posterior da cabeça, no nível do canto da boca, e medialmente em relação ao ligamento quadrado-maxilar (MCDOWELL, 1986; UNDERWOOD, 2002).

Estes resultados concordam com o previamente descrito por autores que apontam para a ausência das glândulas de Duvernoy em espécies representativas dos gêneros *Ninia*, *Tropidodipsas*, *Plesiodipsas*, bem como em *Dipsas* (PHISALIX, 1922; TAUB, 1967a; HARVEY et al., 2008; LIMA & PRUDENTE, 2009). Por outro lado, ao contrário do verificado por (TAUB, 1967a), a presença das glândulas de Duvernoy não foi observada em representantes dos gêneros *Atractus*, *Dipsas* e *Sibon*. Desta forma, como relatado para o gênero *Sibynomorphus*, nenhuma alteração no padrão de coloração, aspecto geral dos lóbulos ou constituição dos tipos celulares foi constatada na porção posterior das glândulas supralabiais nas espécies estudadas destes gêneros, que por sua vez, indicasse a presença das glândulas de Duvernoy. Além disso, também não foi verificada a presença de dutos direcionados para os dentes maxilares posteriores, uma condição característica das glândulas de Duvernoy (KOCHVA, 1978).

Para as espécies dos gêneros *Adelphicos* e *Chersodromus*, praticamente não há informações sobre a morfologia das glândulas orais. Em *Adelphicos quadrivirgatum*, a glândula disposta na superfície póstero-dorsal da glândula supralabial é obviamente uma glândula independente. Embora não tenha sido possível verificar a posição desta glândula em relação ao ligamento quadrado-maxilar e, dessa foram, definir claramente se trata de uma glândula rictal ou de Duvernoy. A sua disposição, que ultrapassa posteriormente o nível do canto da boca, indica tratar-se de uma glândula rictal. Em *Chersodromus liebmanni*, a estreita divisão verificada na região posterior da glândula supralabial não foi confirmada por meio dos cortes histológicos, indicando tratar-se de uma glândula supralabial ao invés de uma glândula de Duvernoy.

Fry et al. (2008) indicaram ampla variação no tamanho das glândulas de Duvernoy e no seu sistema de dutos. De acordo com esses autores, as glândulas de Duvernoy são bastante reduzidas em *Pareas monticola* (Pareatidae), uma serpente malacófaga. Taub (1967a) descreveu uma glândula de Duvernoy em *Pareas stanleyi* composta por células mucosas intermediadas por células seromucosas. Underwood & Kochva (1993), por outro lado, estudando diversas espécies de *Pareas* (incluindo *P. stanleyi*) não reconheceram nem uma glândula de Duvernoy, nem o ligamento quadrado-maxilar, mas observaram uma glândula horizontal que parece abrir para trás ao longo do sulco rictal. No que se refere à região posterior da glândula supralabial, a condição observada em *Sibynomorphus mikanii* é parecida com a descrita por Underwood (2002:11) em *Pareas monticola*, onde a porção posterior da supralabial é estreita e sobreposta pela glândula rictal. Underwood (2002), também indicou que no terço posterior da glândula supralabial de *P. monticola* se forma uma fileira dupla de lóbulos, e este local poderia corresponder à glândula de Duvernoy apontada por Taub (1967a) para *P. stanleyi*, entretanto, ele afirma que não há nenhuma evidência da glândula dental (glândula de Duvernoy) em *P. monticola*.

Em *Tomodon dorsatus* (Xenodontinae), diferentemente do verificado nos pareatídeos, embora a dieta tenha sido trocada de vertebrados para lesmas, a glândula de Duvernoy esta presente e pode ser claramente diferenciada da glândula supralabial. Embora Fry et al. (2008) tenham apontado para o redução do aparato de veneno nas espécies cuja dieta tenha sido trocada de vertebrados para ovos ou lesmas, a presença da glândula de Duvernoy em *T. dorsatus* parece refletir cenários evolutivos mais complexos entre os diferentes grupos de serpentes que se especializaram na alimentação de moluscos.

Por outro lado, a ausência das glândulas de Duvernoy verificada nos dipsadíneos goo-eaters (Fig. 26), associada à presença de uma glândula de Duvernoy bem diferenciada em todas as espécies de dipsadíneos que alimentam de vertebrados, parece corroborar com a ideia de que a perda secundária das glândulas de Duvernoy esteja associada às mudanças na dieta dessas serpentes (Fig. 28), conforme apontado por Fry et al., (2008). Além disso, a presença dos dentes maxilares indiferenciados, sem diastema ou dentes posteriores alargados/sulcados, verificada em todos os dipsadíneos goo-eaters (ver adiante no item 5.4), sugere que estas serpentes tenham perdido secundariamente não só as glândulas de Duvernoy, mas sim todos os componentes do seu aparato de veneno.

Assim como verificado para os dentes maxilares indiferenciados e para as mudanças na dieta relativas ao consumo de invertebrados (Fig. 28; MULCAHY, 2007, 2011; SHEEHY III, 2012), a ausência das glândulas de Duvernoy se mostram como uma sinapomorfia dos dipsadíneos goo-eaters. O desenvolvimento das glândulas infralabiais e suas possíveis funções adicionais, por outro lado, se mostram como uma aquisição secundária, que se desenvolveu independentemente entre os diferentes grupos de dipsadíneos goo-eaters e provavelmente em função de suas especificidades da dieta.

#### 5.1.3 Glândulas de Harder

De acordo com Payne (1994), a glândula de Harder é uma estrutura presente em todos os grupos de vertebrados terrestres, incluindo anfíbios anuros, lagartos, serpentes, assim como outros répteis, aves e mamíferos. Nos lagartos, onde as glândulas lacrimais estão também presentes, as glândulas de Harder se localizam no polo anterior do olho e descarregam a sua secreção tipicamente dentro do espaço conjuntival. Nas serpentes, onde as glândulas lacrimais estão ausentes, as glândulas de Harder são sempre bem desenvolvidas e, mesmo nas espécies onde o olho é reduzido, como por exemplo em *Typholps*, estas glândulas podem ser alargadas, envolvendo completamente o olho (SMITH & BELLAIRS, 1947).

No presente estudo, os resultados indicam que, dentre os dipsadíneos gooeaters, as glândulas de Harder apresentam ampla variação de tamanho, sendo restritas à região orbital em algumas espécies, por exemplo, *Dipsas indica* (Fig. 8A), enquanto que em outras, elas são hipertrofiadas, atingindo a superfície anterior do músculo *adductor mandibulae externus medialis*, por exemplo, em *Chersodromus liebmanii* (Fig. 5B), *Ninia sebae* (Fig. 7A) e entre as espécies do gênero *Geophis* (ver Anexo I). De acordo com Zaher (1999), os gêneros *Enulius* e *Enuliophis* compartilham com os dipsadíneos a condição de glândulas de Harder hipertrofiadas, atingindo a superfície anterior do músculo *adductor mandibulae externus medialis*. Além disso, com exceção de *Sibon nebulatus* e *Tropidodipsas sartori*, em todas as espécies analisadas, as glândulas de Harder ocupam a superfície medial do músculo *levator anguli oris* e *adductor mandibulae externus superficialis* e, de acordo com Fernandes (1995), dentre as espécies de *Sibon*, somente *S. ficheri* apresenta glândulas de Harder mediais ao *levator anguli oris*, uma condição também evidenciada por Harvey et al. (2008).

Fernandes (1995), baseado na morfologia das glândulas de Harder, apontou um forte relacionamento das serpentes do gênero *Sibynomorphus* (*S. ventrimaculatus* e *S. neuwiedi*) com as espécies do gênero *Dipsas* (*D. catesbyi* e *D. pavonina*). Ainda, segundo Fernandes (1995), este relacionamento filogenético seria sustentado pelas glândulas de Harder em "forma de L", as quais ocupam a maior parte do espaço posterior aos olhos. Por outro lado, Lima & Prudente (2009), estudando a variação morfológica e a sistemática de *Dipsas catesbyi* e *D. pavonina*, apontaram que as glândulas de Harder desta última, se assemelham mais às glândulas de *Dipsas indica, D. bucephala* e *D. variegata* do que com as glândulas de *Sibynomorphus mikanii, S. neuwiedi* e *Dipsas catesbyi*, como previamente indicado por Fernandes (1995). No presente estudo, os resultados apontam diferenças morfológicas notáveis entre as glândulas de Harder de *Sibynomorphus mikanii* e *S. neuwiedi*, quando comparadas às espécies do gênero *Dipsas (D. indica, D. albifrons* e *D. neivai*), enfatizando a ampla variação no tamanho das glândulas de Harder entre as serpentes destes dois gêneros. Entretanto, como o gênero *Dipsas* é bastante especioso, observações adicionais em um

maior número de táxons, talvez possam elucidar o significado da amplitude de tamanho verificada nestas glândulas.

Em todas as espécies analisadas neste estudo, as glândulas de Harder se mostram constituídas basicamente por células seromucosas, sendo que somente os dutos no seu interior são revestidos por células mucosas. Esta característica já foi relatada por diversos autores e parece constituir uma condição presente em todas as espécies de serpentes cujas glândulas tenham sido estudadas (TAUB, 1966; SAINT GIRONS, 1982; MINUCCI et al., 1992; REHOREK et al., 2000; 2003).

Além do fato de serem constituídas por células serosas, Rehorek et al. (2003) apontaram que em *Pseudonaja textilis* e *Thamnophis sirtalis*, a secreção das glândulas de Harder passa diretamente para o órgão de Jacobson via o duto lacrimal, o que também foi observado em outras espécies de serpentes (BELLAIRS & BOYD, 1947; 1949). No presente estudo, se verificou tanto a ligação dos dutos da glândula de Harder com o duto lacrimal, quanto à abertura do duto lacrimal diretamente no duto do órgão de Jacobson. Embora esta condição tenha sido descrita somente em *Ninia sebae*, a disposição dos dutos da glândula de Harder, que se concentram na região ventromedial da órbita, bem como a disposição do duto lacrimal, que se estende desde a região orbital até a superfície ventral do vômer e da cavidade nasal, sugerem que esta característica esteja presente também nas demais espécies de dipsadíneos.

Embora, nas serpentes, assim como nos lagartos, a função da secreção proveniente das glândulas de Harder ainda não tenha sido totalmente esclarecida, diferentes possíveis funções têm sido atribuídas a elas, por exemplo, a lubrificação da órbita, a digestão, bem como a vomerolfação, onde a secreção proveniente desta glândula seria uma fonte extrínseca de secreção serosa para o órgão de Jacobson (REHOREK, 1997; REHOREK et al., 2009).

Neste sentido, a última hipótese tem se mostrado como a mais provável para explicar a função dessas glândulas. Esta hipótese, por sua vez, é sustentada basicamente por duas características: a primeira se refere ao fato de existir uma ligação entre a glândula de Harder com o órgão de Jacobson, via o duto lacrimal, como previamente relatado; a segunda se refere ao fato de que, apesar do órgão de Jacobson ser considerado morfologicamente e quimicamente similar a um órgão olfatório, nas serpentes, bem como nos lagartos, nenhuma fonte intrínseca de lubrificação parece associada a este órgão (KRATZING, 1975; GABE & SAINT GIRONS, 1976; SAINT GIRONS, 1982). Desta forma, as glândulas de Harder aparecem como a principal candidata à fornecedora desta fonte extrínseca de secreção serosa (REHOREK et al., 2009).

No presente estudo, a constatação da ligação entre as glândulas de Harder com o órgão de Jacobson através do duto lacrimal, corrobora com a ideia de que a secreção das glândulas de Harder esteja associada à lubrificação deste órgão. Entretanto, dentre os dipsadíneos analisados, o significado da ampla variação morfológica existente nestas glândulas permanece desconhecido.

## 5.2 Musculatura associada às glândulas infralabiais dos goo-eaters

Nas serpentes, poucas glândulas orais são conhecidas por apresentarem algum tipo de associação com a musculatura adjacente. Dentre elas, destacam-se as glândulas de veneno dos viperídeos, elapídeos e atractaspidídeos, assim como as glândulas de Duvernoy de um número limitado de serpentes Colubroides (*sensu* ZAHER et al., 2009) sem um sistema de liberação de veneno com presas anteriores, por exemplo, *Dispholidus, Mehelya* e *Brachyophis* (KOCHVA & WOLLBERG, 1970; HAAS, 1973; GOPALAKRISHNAKONE & KOCHVA, 1990; UNDERWOOD & KOCHVA, 1993; JACKSON, 2003). Por outro lado, as glândulas labiais são raramente associadas à musculatura adjacente (HAAS, 1973; ZAHER, 1999).

Zaher (1999:20) aponta que dentre os pareatídeos (fam. Pareatidae), o músculo *levator anguli oris* sempre se insere na glândula infralabial e age como um compressor glandular. Dentre os dipsadíneos, entretanto, Zaher (1999) aponta que em *Tropidodipsas* e *Sibon*, o *levator anguli oris* se insere diretamente na superfície lateral do dentário, sendo que somente as fibras mais laterais deste músculo estão inseridas nas glândulas infralabiais, enquanto que em *Dipsas* e *Sibynomorphus*, o *levator anguli oris* se insere na ponta do dentário. Zaher (1999) aponta ainda que, o padrão muscular observado tanto nos pareatídeos, quanto nos dipsadínios é obviamente não homólogo e claramente associado à malacofagia, representando sinapomorfías adicionais para estes dois grupos.

No presente estudo, a associação do *levator anguli oris* com as glândulas infralabiais é verificada em *Sibon nebulatus, Tropidodipsas sartorii, Ninia hudsoni, Atractus reticulatus, A. pantostictus, Adelphicos quadrivirgatum*, bem como nas espécies analisadas do gênero *Geophis* (ver Anexo I) (Fig. 27). Por outro lado, a associação do *levator anguli oris* com as glândulas infralabiais não foi observada em *Ninia sebae, Chersodromus liebmanni, Sibynomorphus mikanii* e *S. neuwiedi.* 

Além do *levator anguli oris*, as glândulas infralabiais dos dipsadíneos também mostraram ser associadas com outros conjuntos musculares. O músculo *intermandibularis posterior, pars posterior* está associado à superfície póstero-ventral das glândulas de *Dipsas neivai*, *D. indica* e *Atractus pantostictus*, enquanto que o *adductor mandibulae externus medialis* mostrou ser associado à cápsula de tecido conjuntivo das glândulas infralabiais de *Atractus pantostictus* e nas espécies analisadas do gênero *Geophis* (ver Anexo I). Em *D. neivai*, por exemplo, a superfície póstero-ventral da glândula infralabial mostrou ser completamente envolta por fibras musculares do *intermandibularis posterior, pars posterior*, pars *posterior* que estão fortemente associadas à cápsula de tecido conjuntivo que reveste a glândula. De acordo com Zaher (1996), a associação deste músculo com a glândula poderia desempenhar a função de compressão das glândulas no momento da liberação da secreção. Gans (1972), por sua vez, chamou a atenção para o desenvolvimento do músculo *levator anguli oris*, que se estende ao longo de toda a mandíbula em serpentes do gênero *Dipsas*, e aponta que tais modificações podem estar relacionadas ao peculiar hábito alimentar dessas serpentes, que se alimentam de moluscos.

Harvey et al. (2008) apontaram que o músculo *levator anguli oris* se insere em uma porção muito anterior do osso dentário em *Plesiodipsas perijanensis*, *Tropidodipsas sartorii*, e nas espécies dos gêneros *Dipsas*, *Sibon* e *Sibynomorphus*. Fernandes (1995), por sua vez, propôs quatro estados de caráter para o músculo *levator anguli oris* – músculo ausente, encontrado em todos os dipsadíneos que não se enquadram como goo-eaters (*sensu* CADLE & GREENE, 1993); com uma região carnosa fracamente desenvolvida e se inserindo no meio da mandíbula, encontrada nas espécies dos gêneros *Adelphicos*, *Atractus*, *Chersodromus*, *Geophis* e *Ninia*; inserindo na extremidade anterior da mandíbula e uma região carnosa estendendo para o terço anterior da mandíbula, encontrada nas espécies dos gêneros da mandíbula, presente nas espécies dos gêneros *Dipsas* e *Sibynomorphus*.

Nossas observações, no entanto, apontam que o *levator anguli oris* se insere na porção anterior do osso dentário somente nas espécies dos gêneros *Dipsas* e *Sibynomorphus*, enquanto que em *Sibon* e *Tropidodipsas*, este músculo está inserido na superfície pósterodorsal da glândula infralabial. O *levator anguli oris* também se insere na porção pósterodorsal da glândula infralabial nas serpentes dos gêneros *Adelphicos* e *Atractus*, enquanto que em *Geophis* (*G. brachycephalus, G. nasalis e G. semidoliatus*) ele se insere na superfície póstero-dorsal da il1 (ver Anexo 1). O gênero *Ninia* apresenta uma situação parecida à descrita para *Geophis*, com a diferença de que o músculo se insere na superfície pósterodorsal da glândula infralabial somente em *N. hudsoni*, mas não está inserido na glândula em *N. sebae*.

A associação das glândulas orais com a musculatura adjacente é frequentemente interpretada como sendo um mecanismo de liberação da secreção por meio de alta pressão (KARDONG & LAVIN-MURCIO, 1993), uma vez que os músculos agem com compressores glandulares, facilitando a expulsão da secreção do interior das glândulas. A função dos músculos compressores glandulares está associada principalmente às glândulas de veneno dos viperídeos, elapídeos e atractaspidídeos, as quais contém um lúmen (um reservatório encapsulado no seu interior), onde a secreção pode ser estocada, e onde o aparato de veneno inclui dentes sulcados associados a estas glândulas (KARDONG & LAVIN-MURCIO, 1993; KOCHVA, 1987, 2002; JACKSON, 2003). Ainda, de acordo com Kardong & Lavin-Murcio (1993), estas características diferem claramente o sistema de liberação da secreção em sistemas de alta pressão, encontrado nos elapídeos e viperídeos, dos sistemas de baixa pressão, encontrado nas glândulas de Duvernoy de todos os "colubrídeos" (aqui, Colubroides, *sensu* ZAHER et al., 2009, sem um sistema de liberação de veneno com presas anteriores).

No que se refere aos dipsadíneos, a associação da musculatura adjacente com as glândulas infralabiais pode representar uma função análoga à verificada nas glândulas de veneno dos viperídeos e elapídeos, onde a musculatura associada ajudaria na compressão das glândulas, facilitando a expulsão da secreção do seu interior. Entretanto, cabe ressaltar que o sistema verificado nas glândulas infralabiais dos dipsadíneos se difere profundamente daquele observado nas glândulas de veneno, uma vez que as glândulas infralabiais se abrem diretamente no epitélio oral, sem nenhuma associação com dentes especializados. Além disso, somente nas serpentes do gênero *Geophis* (Apêndice I) verifica-se a existência de um lúmen no interior das glândulas infralabiais, onde a secreção pode ser estocada. Esta última, uma condição aparentemente necessária para um sistema de liberação da secreção por alta-pressão. Embora a associação entre as glândulas infralabiais dos dipsadíneos com a musculatura adjacente sugira uma função de compressores glandulares para estes músculos, observações adicionais precisam ser feitas para compreender o seu significado morfofuncional.

#### 5.3 Desenvolvimento embrionário das glândulas labiais de Sibynomorphus mikanii

O desenvolvimento embrionário das glândulas labiais (supra e infralabiais) das serpentes é menos estudado do que o das glândulas de veneno e de Duvernoy. Os poucos trabalhos que abordam o assunto tratam principalmente do desenvolvimento das duas últimas e por consequência fazem comentários e observações acerca das glândulas labiais (KOCHVA, 1965; GYGAX, 1971; OVADIA, 1984; 1985). Buchtová et al. (2007) apontam que as glândulas labiais das serpentes se originam de uma maneira similar aos dentes, a partir de um espessamento do epitélio seguido por uma invaginação da lâmina epitelial dentro do mesênquima. Por outro lado, o desenvolvimento das glândulas labiais apresenta diferenças marcantes em relação ao observado nas glândulas de veneno e de Duvernoy. Enquanto as duas últimas se desenvolvem a partir de uma invaginação única da porção caudal da lâmina dental do osso maxilar (KOCHVA, 1963; 1965; SHAYER-WOLLBERG E KOCHVA, 1967; OVADIA, 1984; KOCHVA, 1987, VONK et al., 2008), as glândulas labiais se desenvolvem a partir de uma série de espessamentos e subsequentes invaginações epiteliais independentes (KOCHVA, 1965; GYGAX, 1971), as quais se mostram em conformidade com a morfologia apresentada pelos adultos, onde as glândulas labiais são constituídas por um conjunto de pequenas glândulas individuais, dispostas ao longo do lábio das serpentes e separadas entre si por septos de tecido conjuntivo (SMITH & BELLAIRS, 1947; ZAGO, 1971; KOCHVA, 1978, UNDERWOOD, 2002).

Nos embriões de *S. mikanii* foi verificado que o espessamento epitelial, primeira etapa do desenvolvimento das glândulas labiais e resultado de proliferações celulares, ocorre a partir do segundo estágio do desenvolvimento embrionário (25º dia após a ovipostura, Fig. 30C). Neste estágio, o espessamento epitelial pode ser observado em uma série de proliferações independentes, as quais se distribuem ao longo da região maxilar e mandibular, e correspondem, respectivamente, ao início da formação das glândulas supra e infralabiais. Adicionalmente, entretanto, verificou-se (neste mesmo estágio do desenvolvimento) na região mandibular uma extensa invaginação epitelial dentro do mesênquima, a qual se estendeu desde a região anterior da mandíbula até aproximadamente 1/3 do seu comprimento (Figs. 30E, F).

Gygax (1971) apontou que é possível descrever a histologia da glândula supralabial por meio de um único *glandlets* (termo utilizado por ele para se referir a uma única glândula individual, da série de pequenas glândulas que constituem as glândulas labiais), visto que todos os seus elementos glandulares são identicamente construídos. Os resultados do presente trabalho, entretanto, apontam uma diferença marcante no desenvolvimento desses *glandlets* das glândulas infralabiais. Foi verificado que a invaginação epitelial dentro do mesênquima, que se estende pela região mandibular (Fig. 30E, F), corresponde a um desses *glandlets* da glândula infralabial, e por meio da observação dos diferentes estágios do desenvolvimento embrionário de *S. mikanii* ficou entendido que ela se refere à porção ventromedial (il2) da glândula infralabial, conforme previamente descrito para os adultos. De acordo com os resultados, esse *glandlets* da glândula infralabial se difere dos demais por ser hipertrofiado e por se invaginar no interior do mesênquima antes de todos os outros. Ainda, somente no terceiro estágio do desenvolvimento (32 dias após a ovispotura), portanto, sete dias após a invaginação da lâmina epitelial correspondente a il2, são observadas as primeiras invaginações dos demais *glandlets*, as quais foram verificadas principalmente nas glândulas supralabiais (Fig. 31D).

Ainda, segundo Gygax (1971), o primórdio da glândula de Duvernoy de *Natrix tessellata* (Natricidae) aparece no primeiro dia após a postura dos ovos. Já os primórdios das glândulas supralabiais (*glandlets*) não podem ser observados antes do 15°-20° dia após a postura. De acordo com Gygax, a glândula supralabial requer aproximadamente 40% menos tempo para se desenvolver do que a glândula de Duvernoy, o que indica em primeiro lugar que a glândula de Duvernoy não se forma a partir da glândula supralabial e em segundo lugar que, por se tratar de uma estrutura mais complexa, esta glândula requer um tempo maior para o seu desenvolvimento. Talvez esta pudesse ser uma possível explicação para o precoce desenvolvimento da porção ventromedial da glândula infralabial de *S. mikanii*.

Conforme já relatado, as glândulas de Duvernoy e as glândulas de veneno se originam a partir de uma invaginação da porção caudal da lâmina dental do osso maxilar (KOCHVA, 1963, 1965; SHAYER-WOLLBERG & KOCHVA, 1967; OVADIA, 1984; 1985). De acordo com Vonk et al. (2008), estas glândulas se desenvolvem a partir de uma sub-região posterior da lâmina dental do osso maxilar, a qual se desenvolve independentemente da região anterior. Nos embriões de S. mikanii, no entanto, não foi observada nenhuma lâmina epitelial associada à lâmina dental do osso maxilar que pudesse indicar a presença das glândulas de Duvernoy. Além disso, no quarto estágio do desenvolvimento (41 dias após a ovipostura) verificou-se a presença de uma invaginação epitelial na altura do ângulo da boca (Fig. 33D), a qual pôde ser distinguida da glândula supralabial por se abrir em uma região mais medial e estar associada à prega rictal, o que está de acordo com a descrição de uma glândula rictal (MCDOWELL, 1986; UNDERWOOD, 2002). Kochva (1965) observou a presença da glândula rictal (a qual ele chamou de glândula posterior) em embriões de Telescopus fallax (Colubridae) e apontou que ela corresponde a uma invaginação epitelial caudal à glândula supralabial. Ele também verificou que esta invaginação se posiciona medialmente em relação ao ligamento quadradomaxilar.

Nos embriões de *S. mikanii*, embora não tenha sido verificada a presença do ligamento quadrado-maxilar, as observações realizadas nos adultos desta espécie, indicam uma glândula

localizada na superfície póstero-dorsal da glândula supralabial e medial ao ligamento quadrado-maxilar, a qual foi interpretada como sendo a glândula rictal. Deste modo, evidências obtidas a partir da observação dos adultos e corroboradas pelos embriões de *S. mikanii* indicam para a ausência das glândulas de Duvernoy nesta espécie, o que está de acordo com o verificado para dipsadíneos dos gêneros *Ninia* e *Tropidodipsas* (PHISALIX, 1922; TAUB, 1967a; HARVEY et al., 2008).

O músculo *levator anguli oris* é observado a partir do segundo estágio do desenvolvimento de *S. mikanii*, onde ele é visto contornando o ângulo da boca. Entretanto, é no terceiro estágio (32 dias após a ovipostura, Figs. 31E, F) que este músculo adquire uma conformação parecida com a observada nos adultos, se estendendo ao longo da mandíbula por entre as duas porções da glândula infralabial, favorecendo inclusive a distinção entre ambas. Dentre os dipsadíneos, somente nos gêneros *Dipsas* e *Sibynomorphus* este músculo alcança a extremidade anterior do dentário, local de sua inserção (GANS, 1972; FERNANDES, 1995; ZAHER, 1999), ao passo que nos demais gêneros de goo-eaters, ele se insere em regiões mais posteriores do osso composto ou diretamente na superfície póstero-dorsal das glândulas infralabiais (previamente relatado aqui; ZAHER, 1999). O fato de que dentre os Dipsadini somente nos gêneros *Dipsas* e *Sibynomorphus* as glândulas infralabiais são divididas em duas porções (il1 e il2) e o *levator anguli oris* atinge a região anterior do dentário, sugere que possa existir alguma correspondência entre a hipertrofia do músculo (seu alongamento no sentido anterior) e a divisão das glândulas infralabiais.

Os resultados acerca do desenvolvimento embrionário das glândulas labiais de *S. mikanii*, entretanto, demonstram que as duas porções das glândulas infralabiais (il1 e il2), bem como as glândulas supralabiais têm origens embrionárias similares. Elas são formadas a partir de invaginações epiteliais que se originam no epitélio de revestimento do mesênquima, conforme previamente descrito por diversos autores (KOCHVA, 1965; GYGAX, 1971; BUCHTOVÁ et al., 2007). Entretanto, a porção ventromedial da glândula infralabial apresenta diferenças na forma e no tempo do seu desenvolvimento em relação às demais. Esta porção da glândula se origina a partir de uma única invaginação epitelial hipertrofiada, ao invés de diversas invaginações pequenas e independentes. Além disso, o início do seu desenvolvimento ocorre antes do observado para a porção lateral da glândula infralabial, bem como da glândula supralabial.

O padrão de desenvolvimento verificado nas glândulas labiais dos embriões de *S. mikanii* é condizente com a morfologia observada nos adultos desta espécie, onde a porção lateral da glândula infralabial (il1), assim como a glândula supralabial apresentam um padrão

morfológico típico de glândulas labiais, sendo constituídas por uma série de pequenas glândulas individuais (glandlets) com dutos curtos que se abrem ao longo de toda a boca da serpente de maneira independente (SMITH & BELLAIRS, 1947; ZAGO, 1971; GYGAX, 1971; KOCHVA, 1978; UNDERWOOD, 2002). Por outro lado, a porção ventromedial da glândula infralabial (il2) apresenta um padrão morfológico distinto, sendo disposta ao longo da mandíbula, distante do lábio e contém um duto único e alargado, ao invés dos dutos curtos, o qual se estende longitudinalmente por praticamente todo o comprimento da glândula e se abre na região anterior da boca. O padrão de desenvolvimento embrionário das glândulas labiais de S. mikanii reforça a ideia de que a glândula infralabial é constituída por duas porções distintas, embora com a mesma origem embrionária, onde a porção lateral provavelmente desempenha funções de uma glândula labial típica, associadas à lubrificação da boca e dos alimentos, enquanto que a porção ventromedial desempenha funções adicionais, associadas aos diferentes hábitos alimentares encontrados nas serpentes desse grupo. A origem independente e possível função distinta da il2, demonstradas aqui, corrobora a necessidade de distinguí-la da ill através da designação de um nome novo para a primeira que se contraponha ao nome conhecido como "glandula infralabial" que deve ser restrito à última.

## 5.4 Dentição nos dipsadíneos

Knox & Jackson (2010) estudaram a morfologia dos dentes maxilares em diversas espécies de serpentes representantes da superfamília Colubroidea (Colubroides, *sensu* ZAHER et al. 2009) e da família Boidae, as quais foram categorizadas de acordo com o tipo de dieta. Os resultados deste estudo indicaram que a morfologia dos dentes parece ser mais influenciada pelas pressões seletivas da dieta do que pela história filogenética.

Para os dipsadíneos, entretanto, no que se refere às principais modificações verificadas na morfologia dos dentes maxilares, parece haver uma correspondência entre as pressões seletivas da dieta com a história filogenética. Todos os goo-eaters apresentam dentes maxilares indiferenciados, sem diastema ou dentes alargados/sulcados na porção posterior do maxilar, ao passo que dentre os dipsadíneos que se alimentam de vertebrados, tanto o diastema quanto os dentes alargados estão presentes (Fig. 51). Além disso, na grande maioria dos dipsadíneos que se alimentam de vertebrados, os dentes posteriores são sulcados (FERNANDES, 1995). Tais características parecem condizentes tanto com a história filogenética, quanto com as pressões seletivas relativas à dieta, uma vez que o caráter de

dentes maxilares indiferenciados está restrito aos goo-eaters, um grupo que compartilha o mesmo tipo de dieta, invertebrados de corpo mole e viscoso, e aparentemente a mesma história filogenética (FERNANDES, 1995; PYRON et al., 2011; GRAZZIOTIN et al., 2012). Mulcahy (2007) apontou que os dipsadíneos goo-eaters devem ter perdido secundariamente o dente posterior alargado, e sugerem que tal modificação esteja relacionada à exploração do novo nicho alimentar conquistado por essas serpentes, que são especializadas na alimentação de invertebrados.

No presente estudo, por meio da análise ultraestrutural dos dentes maxilares, verificou-se dentre os goo-eaters, a presença da dentição maxilar indiferenciada, sem diastema ou dente alargado/sulcado na porção posterior, conforme previamente relatado por diversos autores (PETERS, 1960; FERNANDES, 1995; MULCAHY et al., 2007, 2011). Adicionalmente, entretanto, embora a amostragem acerca da dentição tenha sido reduzida, notou-se dentre os goo-eaters, uma tendência de diminuição do tamanho do último dente maxilar. Ao contrário do verificado para o dentário, onde foi observada uma redução gradual no tamanho dos dentes no sentido posterior, os dentes maxilares apresentam pouca ou nenhuma redução gradual no seu tamanho. Ainda assim, diversas espécies apresentam o último dente maxilar claramente reduzido, em alguns casos atingindo cerca da metade do tamanho dos demais dentes, o que foi verificado, por exemplo, em *Atractus pantostictus, Adelphicos quadrivirgatum, Ninia sebae* e *Dipsas albifrons* (respectivamente, Fig. 34A; 36A; 39A; 40A). Esta característica é inversalmente proporcional ao verificado nos dentes maxilares dos dipsadíneos que se alimentam de vertebrados, onde os dentes posteriores são sempre alargados e frequentemente sulcados (Fig. 45A; 47A).

Jackson & Fritts (1995) apontaram que as cristas na superfície anterior e posterior dos dentes maxilares, ao invés das cristas na superfície lateral (labial) e medial (lingual) constituem uma clara distinção entre os dentes posteriores e os anteriores, mesmo quando o diastema separando eles é estreito. Dentre os dipsadíneos analisados, que se alimentam de vertebrados, a distinção entre os dentes maxilares posteriores e os anteriores foi evidente, visto que o diastema que os separa é alargado. Além disso, foi também evidente a presença das cristas na superfície lateral e medial nos dentes anteriores, em oposição às cristas anteriores e posteriores nos dentes posteriores (Figs. 45 e 47). Entre os dipsadíneos goo-eaters, no entanto, além de não haver nehuma distinção nos dentes ao longo do maxilar, com exceção talvez ao tamanho reduzido do último dente, como previamente relatado, também não são verificadas cristas na superfície anterior e posterior do último dente maxilar, pelo

contrário, mesmo o último dente maxilar apresenta cristas laterais e mediais, uma característica associada aos dentes maxilares anteriores (JACKSON & FRITTS, 1995).

Baseado em observações da ultraestrutura dos dentes maxilares dos adultos de diversas espécies de serpentes, Vonk et al. (2008) apontaram que as cristas laterais e mediais verificadas nos dentes anteriores versus as cristas anteriores e posteriores verificadas nos dentes posteriores constituem evidências da origem embrionária distinta dos dentes anteriores e posteriores. Ainda, estudando o desenvolvimento embrionário das presas em serpentes, Vonk et al. (2008), verificaram uma separação entre a lâmina dental maxilar posterior (a qual origina os dentes posteriores) e a lâmina maxilar anterior (a qual origina os dentes anteriores). Esta separação permite a lâmina posterior se desenvolver independentemente da anterior e em associação com as glândulas de veneno/Duvernoy. Com base nesta evidência embriológica e no estudo da morfologia dos dentes maxilares dos adultos, estes autores sustentam a hipótese de uma origem única para o aparato de veneno das serpentes, que por sua vez, deve ter favorecido a grande radiação das serpentes avançadas (Caenophidia). A ausência do diastema e das cristas anteriores/posteriores nos dentes posteriores dos goo-eaters, associada a ausência das glândulas de Duvernoy (verificada principalmente nos embriões de S. mikanii, conforme relatado anteriormente) sugerem que estas serpentes possam ter perdido a lâmina maxilar posterior, o que sustenta a ideia de perda secundária dos dentes posteriores alargados, conforme apontado por Mulcahy (2007).

Anteriormente, Vaeth et al. (1985), ao estudarem a morfologia da superfície dos dentes em serpentes, observaram a presença das cristas (ou ridges) laterais e mediais, além das cristas acessórias (restritas à região posterior dos dentes) em diversas espécies. De acordo com estes autores, o mesmo padrão de cristas acessórias tem sido observado em diversas espécies piscívoras, comedoras de lesmas e de outros moluscos. Entre elas destacam-se algumas espécies dos gêneros *Helicops* (subfamília Xenodontinae), *Dipsas, Sibon* e *Sibynomorphus* (subfamília Dipsadinae) e *Pareas* (família Pareatidae). Ainda, segundo esses autores, as cristas acessórias estão presentes principalmente nos grandes dentes anteriores do dentário de muitos dipsadíneos, principalmente dos gêneros *Dipsas, Sibon* e *Sibynomorphus*. Neste estudo, as observações acerca da morfologia dos dentes demonstram a presença das cristas laterais e mediais em todas as serpentes estudadas, ao passo que as cristas acessórias são verificadas nos dentes de *Dipsas* (*D. albifrons, D. indica*), *Sibynomorphus* (*S. mikanii* e *S. neuwiedi*) e *Sibon nebulatus*, como previamente relatado por Vaeth et al. (1985). Entretanto, elas não se restringem aos dentes

anteriores do dentário, sendo observadas também nos dentes posteriores do dentário e nos dentes maxilares. Dentre os Dipsadini, estas cristas são mais evidentes em Dipsas e Sibon do que em Sibynomorphus (Figs. 40; 41; 42; 43; 44). Além dos Dipsadini, foi verificada a presença das cristas auxiliares em Geophis nasalis e em Ninia sebae, mas elas não foram verificadas em N. atrata e em Atractus pantostictus. Quando comparadas com os Dipsadini, as cristas de G. nasalis e N. sebae são bem menos evidentes, particularmente em N. sebae, onde foram quase imperceptíveis e associadas a superfície posterior dos dentes do dentário (Fig. 39H). Já em N. atrata, a ausência das cristas auxiliares, bem como das cristas laterais e mediais pode estar associada à má preservação do espécime. Adelphicos quadrivirgatum apresentou ainda uma condição única dentre todos os dipsadíneos analisados, na qual embora as cristas auxiliares tenham sido bem evidentes, elas foram restritas a região basal da superfície posterior dos dentes maxilares e do dentário (Figs. 36C, D, G, H). As cristas auxiliares não foram observadas entre os dipsadíneos que se alimentam de vertebrados (Leptodeira annulata e Imantodes cenchoa). Em Tomodon dorsatus, embora as cristas laterais e mediais tenham sido bastante evidentes, se estendendo por toda a superfície lateral e medial, tanto dos dentes maxilares quanto do dentário, nenhuma evidência foi observada acerca das cristas auxiliares.

Frazzetta (1966) propôs que as cristas dentais laterais e mediais em pítons ajudariam na liberação dos dentes do interior de suas respectivas presas durante a abertura da mandíbula. Wright et al. (1979), por outro lado, propuseram que em *Thamnophis elegans* (Natricidae) estas cristas teriam uma função contrária, auxiliando mais na penetração dos dentes no interior das presas do que na sua liberação. Vaeth et al. (1985) apontaram que tais cristas, bem como as cristas auxiliares poderiam ajudar no fortalecimento da área basal dos dentes, ideia que também é corrobarada por Young e Kardong (1996). Adicionalmente, Vaeth et al. (1985) sugeriram como hipótese alternativa que a superfície irregular dos dentes, produzida pelas cristas e sulcos, reduziriam um possível arrasto de sucção sobre os dentes durante seu processo de liberação do interior de suas presas, principalmente àquelas presas com corpo recoberto por muco, como peixes e moluscos. Entretanto, esses autores apontaram para a necessidade de estudos mais aprofundados no intuito de elucidar o significado funcional destas características morfológicas.

Diversos autores apontam especializações dentárias associadas ao hábito das serpentes de se alimentarem de moluscos (MERTENS, 1952; ZWEIFEL, 1954; BRONGERSMA,

1956, 1958; KOFRON, 1985; HOSO et al., 2007). Zweifel (1954), por exemplo, relata a presença de dentes longos e recurvados no dentário de *Contia tenuis* (Carphophiinae), uma serpente comedora de lesma e encontrada na costa oeste dos Estados Unidos, e sugere que tais dentes auxiliem a serpente na subjugação das lesmas, ajudando a agarrar e ingerir o molusco escorregadio. Mertens (1952) relata a extração do molusco do interior de sua concha por uma *Dipsas albifrons* e comenta sobre a alimentação de *Tomodon dorsatus*. Ele aponta que em *T. dorsatus* o maxilar é curto e que os dois últimos dentes são usualmente longo, sugerindo dessa forma que eles ajudariam a serpente segurar a presa escorregadia, ideia que também é corroborada por Bizerra et al. (2005).

As observações feitas no presente estudo confirmam a existência de um dente maxilar posterior muito longo em *T. dorsatus* (Fig. 49), e que embora se trate de uma serpente comedora de lesmas, não demonstra nenhuma semelhança com a morfologia dos dentes maxilares dos dipsadíneos malacófagos, sugerindo dessa forma a existência de mecanismos distintos para a manipulação das presas entre as serpentes destes dois grupos (dipsadíneos goo-eaters *versus Tomodon dorsatus*, Tachymenini). Além disso, *T. dorsatus* não apresentou as cristas auxiliares frequentemente associadas à ingestão das presas de corpo mole e escorregadio, conforme apontado por Vaeth et al., 1985. Tais características parecem indicar a influência dos fatores históricos filogenéticos sobre a morfologia dos dentes maxilares, algo contrário ao verificado por Knox & Jackson (2010). Ainda assim, é importante ressaltar, como observado por Cundall & Irish (2008), embora possa existir alguma correlação entre a morfologia dos dentes e os tipos de presas que as serpentes consomem, sua morfo-funcionalidade permanece não testada.

## 6. CONCLUSÕES

- Dentre os dipsadíneos goo-eaters, as glândulas infralabiais apresentam uma série de modificações morfológicas que as diferem de uma glândula labial típica, ao passo que as glândulas supralabiais apresentam um padrão típico de glândulas labiais;
- Nos gêneros *Dipsas* e *Sibynomorphus*, as glândulas infralabiais são divididas em duas porções, a porção lateral e mais afilada chamada de il1, que se estende ao longo do lábio da serpente logo abaixo das escamas infralabiais e a porção ventromedial chamada il2, uma porção mais alargada que se estende ao longo da superfície lateral da mandíbula;
- Em *Dipsas* e *Sibynomorphus*, a presença de um duto alargado que se estende ao longo de toda a il2, conduzindo a secreção desde a região posterior da glândula até a sua região anterior, onde se abre através de uma abertura localizada no assoalho da boca, evidencia um novo sistema de liberação da secreção em glândulas labiais de serpentes. Este sistema se coloca em oposição aos diversos dutos curtos e individuais que se abrem na boca das serpentes de maneira independente;
- A ausência das glândulas de Duvernoy nos dipsadíneos goo-eaters constitui um caráter adicional que suporta o monofiletismo do grupo, com uma suposta homoplasia em *Adelphicos*. Por outro lado, o desenvolvimento das glândulas infralabiais e suas possíveis funções adicionais constituem aquisições secundárias, que devem ter evoluído independentemente entre os diferentes grupos de dipsadíneos goo-eaters e provavelmente em função de suas especificidades da dieta;
- A ausência das glândulas de Duvernoy verificada nos dipsadíneos goo-eaters, associada à presença de uma glândula de Duvernoy bem diferenciada em todas as espécies de dipsadíneos que se alimentam de vertebrados, corrobora com a ideia de que a perda secundária das glândulas de Duvernoy esteja associada às mudanças na dieta dessas serpentes;
- Nas três espécies analisadas do gênero Atractus (A. pantostictus, A. reticulatus e A. zebrinus), as glândulas infralabiais são constituídas por ácinos mistos,

formados por três tipos celulares distintos – sendo um tipo de célula seromucosa e dois tipos de células mucosas, os quais são distinguidos pelas suas diferentes afinidades químicas. O gênero que mais se aproxima ao padrão observado em *Atractus* é *Adelphicos*, embora neste último, a glândulas infralabial não possuem as células seromucosas;

- A associação da glândula de Harder com o órgão de Jacobson, via o duto lacrimal, e verificada em *Ninia sebae*, suporta a ideia de que, nas serpentes, a secreção desta glândula está relacionada à lubrificação do órgão;
- Em *Geophis* (*G. brachycephalus*, *G. nasalis* e *G. semidoliatus*), as glândulas infralabiais também são divididas em duas porções (il1 e il2). Apesar da aparente similaridade entre as glândulas infralabiais de *Geophis* com as glândulas de *Dipsas* e *Sibynomorphus*, ambas as condições são claramente distintas, representanto provavelmente aquisições independentes. Esta distinção pode ser evidenciada pelas diferenças morfológicas entre as glândulas de *Geophis*, quando comparadas às glândulas de *Dipsas* e *Sibynomorphus*;
- O gênero *Geophis* se apresenta como o único gênero conhecido de serpente, cujas glândulas infralabiais têm um lúmen no seu interior, no qual a secreção pode ser estocada;
- Em *Geophis*, a presença de estruturas semelhantes à vesículas no interior dos ácinos da il2, também representa uma condição única dentre as serpentes. A função dessas estruturas, entretanto, permanece desconhecida;
- As duas porções das glândulas infralabiais (il1 e il2) de Sibynomorphus mikanii, originam-se a partir de proliferações celulares e subsequentes invaginações da lâmina epitelial dentro do mesênquima. Ambas as porções, entretanto, apresentam diferenças na forma e no tempo do seu desenvolvimento. A il1 se forma a partir de diversas proliferações e invaginações independentes, as quais se distribuem ao longo de toda a região mandibular do embrião, ao passo que a il2 se forma a partir de uma única invaginação hipertrofiada, que se origina na região anterior da mandíbula e se estende posteriormente até aproximadamente 1/3 do seu comprimento. As duas porções apresentam diferenças no seu tempo de desenvolvimento, enquanto a il2 se invagina

no interior do mesênquima em torno do 25º dia após a ovipostura, a il1 se invagina em torno do 32º dia;

- Somente nas serpentes do gênero *Dipsas* e *Sibynomorphus*, o músculo *levator anguli* oris se estende até a região anterior do dentário, onde se insere por meio de uma aponeurose, na superfície lateral do osso. Nas espécies de ambos os gêneros, o *levator anguli oris* se dispõe ao longo da mandíbula entre as duas porções da glândula infralabial (il1 e il2);
- O músculo *levator anguli* oris está associado à cápsula de tecido conjuntivo das glândulas infralabiais em diversos gêneros de dipsadíneos goo-eaters. Outros músculos que apresentam estreita associação com as glândulas infralabiais são o *intermandibularis posterior, pars posterior* e o *adductor mandibulae externus medialis*;
- Todos os dipsadíneos que se alimentam preferencialmente de vertebrados apresentam dentição maxilar diferenciada, com diastema e dentes posteriores alargados, enquanto que os dipsadíneos goo-eaters apresentam dentição maxilar indiferenciada, sem diastema ou dentes maxilares alargados;
- Nos dipsadíneos goo-eaters, o último dente maxilar mostra uma tendência de redução, apresentando cerca da metade do tamanho dos demais dentes maxilares;
- Nos dipsadíneos goo-eaters, o último dente maxilar apresenta cristas mediais e laterais, uma característica associada à dentição maxilar anterior das serpentes. Esta condição pode indicar alterações no processo de desenvolvimento embrionário dos dentes maxilares e, possivelmente, a ausência da lâmina maxilar posterior, que nos Colubroides sem uma sitema de liberação de veneno com presas anteriores, é associada à origem dos dentes maxilares posteriores e das glândulas de Duvernoy;
- Nos dipsadíneos goo-eaters, a presença dos dentes maxilares indiferenciados, sem diastema ou dentes posteriores alargados/sulcados, associada à ausência das glândulas de Duvernoy, indicam a perda secundária de todos os componentes do aparato de veneno, responsáveis pelo sucesso adaptativo das serpentes avançadas.

# 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANTHONY, J. Essai sur l'évolution anatomique de l'appareil venimeux des Ophidiens. Ann. Des. Sci. Nat. Zoolo., n. 17 (11e série), p. 7-53, 1955.
- BACCARI, G. C.; FERRARA, D.; DI MATTEO, L.; MINUCCI, S. Morphology of the salivary glands of three Squamata species: *Podarcis sicula sicula, Tarentola mauritanica* and *Coluber viridiflavus*. Acta Zool. (Stockholm), n. 83, p. 117-124, 2002.
- BANCROFT, J. D.; STEVENS, A. Theory and practice of histological techniques. 4th Ed. Churchill Livingstone, New York, p. 766, 1996.
- BELLAIRS, A. D'A.; BOYD, J. D. The lachrymal apparatus in lizards and snakes. I. The brille, the orbital glands, lachrymal canaliculi and origin of the lachrymal duct. Proc. Zool. Soc. Lond., n. 117, p. 81-108, 1947.
- BELLAIRS, A. D'A.; BOYD, J. D. The lachrymal apparatus in lizards and snakes. II. The anterior part of the lachrymal duct and its relationship with the palate and with the nasal and vomeronasal organs. Proc. Zool. Soc. Lond., v. 120, p. 269-310, 1949.
- BIZERRA, A. F. História natural de *Tomodon dorsatus* (Serpentes: Colubridae). 1998. 102f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas Zoologia) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 1998.
- BIZERRA, A.; MARQUES, O. A. V.; SAZIMA, I. Reproduction and feeding of the colubrid snake *Tomodon dorsatus* from south-eastern Brazil. Amphiba-Reptilia, n. 26, p. 33-38, 2005.
- BOULENGER, G. A. Remarks on the dentition of snakes and on the evolution of the poisonfangs. Proc. Zoolo. Soc. Lond., n. 40, p. 614-616, 1896.
- BRONGERSMA, L. D. The palato-maxillary arch in some Asiatic Dipsadinae (Serpentes). Proc. Koninkl. Nederl. Akademie van Wetenschappen, Amsterdan, Ser. C 59, p. 439-446, 1956.
- BRONGERSMA, L. D. Some features of the Dipsadinae and Pareinae (Serpentes, Colubridae). Proc. K. Ned. Akad. Wet., ser. C, n. 61, p. 7-13, 1958.
- BUCHTOVÁ, M.; BOUGHNER, J. C.; KATHERINE, F.; DIEWERT, V. M.; RICHMAN, J. M. Embryonic development of *Python sebae* – II: Craniofacial microscopic anatomy, cell proliferation and apoptosis. Zoology, n. 110, p. 231-251, 2007.

CADLE, J. E. Molecular systematics of Neotropical xenodontine snakes. I. South American

xenodontines. Herpetologica, n. 40, p. 8-20, 1984a.

- CADLE J. E. Molecular systematics of Neotropical xenodontine snakes. II. Central American xenodontines. Herpetologica, n. 40, p. 21-30, 1984b.
- CADLE J. E. Molecular systematics of Neotropical xenodontine snakes. III. Overview of xenodontine phylogeny and history of New World snakes. Copeia, n. 1984, p. 641-652, 1984c.
- CADLE, J. E.; GREENE, H. W. Phylogenetic patterns, biogeography, and the ecological structure of Neotropical snake assemblages. In: RICKLEFS R. E., SCHLUTER, D. (Ed.). Species diversity in ecological communities: Historical and geographical perspective. University of Chicago Press, Chicago, p. 281-293, 1993.
- CAMPBELL, J. A.; SMITH, E. N. A new genus and species of colubrid snake from the Sierra de Las Minas of Guatemala. Herpetologica, n. 54 (2), p. 207-220, 1998.
- CONTRERA, M. G. D.; LOPES, R. A.; COSTA, J. R. V.; PETENUSCI, S. O.; LIMA-VERDE, J. S. The histology of salivary glands in the colubrid snake *Sibynomorphus mikanii* (Schlegel, 1837). Can. J. Zool., vol. 61, p. 936-941, 1983.
- CUNDALL, D.; IRISH, F. The snake skull. In: GANS, H. C.; GAUNT, A. S.; ADLER, K. (Ed.). Biology of the Reptilia, vol. 20, Morphology. Society for the Study of Amphibians and Reptiles, Ithaca, NY, 2008, p. 349-692.
- DUNN, E. R. The status of the snake genera *Dipsas* and *Sibon*, a problem for "quantum evolution". Evolution, n. 5, p. 355-358, 1951.
- FERNANDES, R. Phylogeny o the dipsadine snakes. 1995. 115p. Thesis (Doctor of Philosophy) The University of Texas at Arlington, Arlington, 1995.
- FERRAREZZI, H. Uma sinópse dos gêneros e classificação das serpentes "Squamata". II. Família Colubridae. In: NASCIMENTO, L. B., BERNARDES, A. T., COTTA, G. A. (Ed.). Herpetologia no Brasil 1. Belo Horizonte: Editora PUC-MG, Fundação Esequiel Dias, Fundação Biodiversitas, 1994, p. 81-91.
- FRAZZETA, T. H. Studies on the morphology and function of the skull in the Boidae (Serpentes). Part II. Morphology and function of the jaw apparatus in *Python sebae* and *Python molurus*. J Morphol., n. 118, p. 217-296, 1966.
- FRY, B. G.; SCHEIB, H.; VAN DER WEERD, L.; YOUG, B.; MCNAUGHTAN, J.; RAMJAN, S. F. R.; VIDAL, N.; POELMANN, R. E.; NORMAN, J. A. Evolution of an arsenal: Structural and functional diversification of the venom system in the advanced snakes (Caenophidia). Mol. Cel. Prot., n. 7, p. 215-246, 2008.
- FRY, B. G.; WÜSTER, W. Assembling and arsenal: Origin and evolution of the snake venom

proteome inferred from phylogenetic analysis of toxin sequences. Mol. Biol. And Evol., n. 21 (5), p. 870-883, 2004.

- FRY, B. G.; WÜSTER, W.; RAMJAN, S. F. R.; JACKSON, T.; MARTELLI, P.; KINI, M. Analysis of Colubroidea snake venoms by liquid chromatography with mass spectrometry: evolutionary and toxinological implications. Rapid. Commun. Mass Spectrom, n. 17, p. 2047-2062, 2003.
- FRY, B. G.; VIDAL, N.; NORMAN, J. A.; VONK, F. J.; SCHEIB, H.; RAMJAN, S. F. R.;
  KURUPPU, S.; FUNG, K.; HEDGES, S. B.; RICHARDSON, M. K.; HODGSON, W.
  C.; IGNJATOVIC, V.; SUMMERHAYES, R.; KOCHVA, E. Early evolution of the venom system in lizards and snakes. Nature, n. 439, p. 584-589, 2006.
- GABE, M.; SAINT-GIRONS, H. Données histologiques sur les glandes salivaires des lépidosauriens. Mem. Mus. Nat. Hist. Nat., n. A 58(1), p. 3-116, 1969.
- GABE, M.; SAINT-GIRONS, H. Contribution a la morpholige compareé des fosses nasales et de leur annexes chez les Lépidosauriens. Mem. Mus. Nat. Hist. Nat., n. A 98, p. 1-87, 1976.
- GANS, C. The functional morphology of the egg-eating adaptations in the snake genus *Dasypeltis*. Zoologica, n. 37-18, p. 209-244, 1952.
- GANS, C. Feeding in *Dipsas indica* an Dunn's paradox. Amer. Zool., n. 12 (4), p. 730, 1972.
- GAUTHIER, J. A.; KEARNEY, M.; MAISANO, J. A.; RIEPPEL, O.; BEHLKE, A. D. B. Assembling the Squamata tree of life: Perspectives from the phenotype and the fossil record. Bull. Peabody Mus. Nat. Hist. n. 53(1), p. 3-308. 2012.
- GOPALAKRISHNAKONE, P.; KOCHVA, E. Venom glands and some associated muscles in sea snakes. J. Morphol., n. 205, p. 85-96, 1990.
- GRAZZIOTIN, F. G.; ZAHER, H.; MURPHY, R. W.; SCROCCHI, G.; BENAVIDES, M.
  A.; YA-PING, Z.; BONATTO, S. L. Molecular phylogeny of the New World Dipsadidae (Serpentes: Colubroidea): a reappraisal. Cladistics, n. 2012 (1), p.1-23, 2012.
- GYGAX, P. Entwicklung, Bau und Funktion der Giftdrüse (Duvernoy's gland) von *Natrix tessellata*. Acta Tropica, Zool., n. 28, p. 225-274, 1971.
- HAAS, G. Über die kaumuskultur und die schändelmechanik einiger wühlschlangen. Zool. Jahrb., n. 52, p. 95-218, 1930.
- HAAS, G. Über die morphologie der kiefermuskulatur und die schädelmechani einiger schlagen. Zool. Jahrb, n. 54, p. 333-416, 1931.
- HAAS, G. A note on the origin of solenoglyph snakes. Copeia, n.1938 (2), p. 73-78, 1938.

- HAAS, G. Anatomical observations on the head of *Liotyphlops albirostris* (Typhlopidae, Ophidia). Acta Zool, n. 45, p. 1-62, 1964.
- HAAS, G. Muscles of the jaws and associated structures in the Rhynchocephalia and Squamata. In: GANS, C.; PARSONS, T. S. (Eds.) Biology of the Reptilia. Vol. 4. New York: Academic Press, 1973. p. 285-490.
- HARVEY, M. B.; FUENMAYOR, G. R.; PORTILLA, J. R. C.; RUEDA-ALMONACID, J.
  V. Systematics of the enigmatic dipsadine snake *Tropidodipsas perijanensis* Alemán (Serpentes: Colubridae) and review of morphological characters of Dipsadini. Herpetological Monographs, n. 22, p. 106-132, 2008.
- HOSO, M.; ASAMI, T.; HORI, M. Right-handed snakes: convergent evolution of asymmetry for functional specializations. Biology Letters, n. 3, p. 169-172, 2007.
- JACKSON, K. The evolution of venom-delivery systems in snakes. Zool. J. Linn. Soc, n. 137, p. 227-354, 2003.
- JACKSON, K. The evolution of venom-conducting fangs: Insights from developmental biology. Toxicon, n. 49, p. 975-981, 2007.
- JACKSON, K.; FRITTS, T. H. Evidence from tooth surface morphology for a posterior maxillary origin of the proteroglyph fang. Amphibia-Reptilia, n. 16, p. 273-288, 1995.
- JACKSON, K.; FRITTS, T. H. Dentitional specialisations for durophagy in the common Wolf snake, Lycodon aulicus capucinus. Amphibia-Reptilia, n. 25, p. 247-254, 2004.
- JANSEN, D. W.; FOEHRING, R.C. The mechanism of venom secretion from Duvernoy's gland of the snake *Thamnophis sirtalis*. J Morphol, n. 175, p. 271-277, 1983.
- JUNQUEIRA L. C. U.; BIGNOLAS, G.; BRENTANI, R. Picrosirius staining plus polarization microscopy, a specific method for collagen detection in tissue sections. Histochem J., n. 11, p. 447-455, 1979.
- JUNQUEIRA, L. C. U. Histology revisited Technical improvement promoted by the use of hydrophilic resin embedding. Rev. Ciên. Cult, n. 47, p. 92-95, 1995.
- KARDONG, K. V. Evolutionary pattern in advanced snakes. Amer. Zool, n. 20 (1), p. 269-282, 1980.
- KARDONG, K. V. The evolution of the venom apparatus in snakes from colubrids to viperids& elapids. Mem. Inst. Butantan, n. 46, p. 105-118, 1982.
- KARDONG, K. V., LAVIN-MURCIO, P. A. Venom delivery of snakes as high-pressure and low-pressure systems. Copeia, n. 1993, p. 644-650, 1993.
- KARDONG, K. V. Colubrid snakes and Duvernoy's "venom" glands. J. Toxicol. Toxin Reviews, n. 21 (1 e 2), p. 1-19, 2002.

- KIERNAN, J. A. Histological and histochemical methods theory and practice. 3<sup>a</sup> ed. London: Oxford University Press, p. 213-220, 2001.
- KLEY, N. J. Morphology of the lower jaw and suspensorium in the Texas blindsnake, *Leptotyphlops dulcis* (Scolecophidia: Leptotyphlopidae). J. Morphol, n. 267, p. 494-515, 2006.
- KNOX, A.; JACKSON, K. Ecological and phylogenetic influences on maxillary dentition in snakes. Phyllomedusa, n. 9(2), p. 121-131, 2010.
- KOCHVA, E. Development of the venom gland and trigeminal muscles in *Vipera* palaestinae. Acta Anat., n. 52, p. 49-89, 1963.
- KOCHVA, E. Oral glands of the reptilia. In: GANS C. K.; GANS, A. Biology of the reptilia. Academic Press, London, New York, 1978, v. 8, p. 43-162.
- KOCHVA, E. The development of the venom gland in the opisthoglyph snake *Telescopus fallax* with remarks on *Thamnophis sirtalis* (Colubridae, Reptilia). Copeia, n. 1965, p. 147-154, 1965.
- KOCHVA, E. The origin of snakes and evolution of the venom apparatus. Toxicon, n. 25(1), p. 65-106, 1987.
- KOCHVA, E. Atractaspis (Serpentes, Atractaspididae) the burrowing asp; a multidisciplinary minireview. Bull. Nat. Hist. Mus. Lond. (Zool.), n. 68(2), p. 91-99, 2002.
- KOCHVA, E.; WOLLBERG, M. The salivary glands of Aparallactinae (Colubridae) and the venom glands of *Elaps* (Elapidae) in relation to the taxonomic status of this genus. Zool. J. Linn. Soc., n. 49, p. 217-224, 1970.
- KOFRON, C. P. Systematics of the Neotropical gastropod-eating snake genera, *Tropidodipsas* and *Sibon*. J. Herpetol., n. 19(1), p. 84-92, 1985.
- KÖHLER, G., WILSON, L. D., McCRANIE, J. R. A new genus and species of colubrid snake from the Sierra de omoa of northwestern Honduras (Reptilia: Squamata: Colubridae). Senckenber. Biol. n. 81, p. 269-276, 1998.
- KRATZING, J. E. The fine structure of the olfactory and vomeronasal organs of a lizard (Tiliqua scincoides scincoides). Cell Tissue Res., n. 156, p. 239-252, 1975.
- LAPORTA-FERREIRA, I. L. Fisioecologia da serpente moluscófaga Sibynomorphus neuwiedi (Colubridae, Dipsadinae). 1985. 93 f. Tese (Doutorado em Fisiologia) Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo. 1985.
- LAPORTA-FERREIRA, I. L.; SALOMÃO, M. G.; SAWAYA, P., Biologia de Sibynomorphus (Colubridae – Dipsadinae) – reprodução e hábitos alimentares. Rev.

Bras. Biol, n. 46(4), p. 793-799, 1986.

- LAPORTA-FERREIRA, I. L.; SALOMÃO, M. G.; SAWAYA, P.; PUORTO, G. Mecanismo de tomada de alimento por serpentes tropicais moluscófagas (*Sibynomorphus neuwiedi* e *Sibynomorphus mikanii*) adaptações morfofisiológicas do esqueleto cefálico. Bol. Fisiol. Anim. São Paulo, n. 12, p. 81-88, 1988.
- LAPORTA-FERREIRA, I. L., SALOMÃO, M. G. Morphology, physiology and toxicology of the oral glands of a tropical cochleophagous snake, *Sibynomorphus neuwiedi* (Colubridae – Dipsadinae). Zool. Anz., n. 27, p. 198-208, 1991.
- LI, M.; FRY, B. G.; KINI, R. M. Eggs-only diet: Its implication for the toxin profile changes and ecology of the marbled sea snake (*Aipysurus eydouxii*). J. Mol. Ecol, n. 60, p. 81-89, 2005.
- LIMA, A. C.; PRUDENTE, A. L. C. Morphological variation and systematics of *Dipsas* catesbyi (Sentzen, 1796) and *Dipsas pavonina* Schlegel, 1837 (Serpentes: Dipsadinae). Zootaxa, n. 2203, p. 31-48, 2009.
- LOPES, R.A., VALERI, V., CAMPOS, G. M., FARIA, R. M. Estudo morfológico e histoquímico de mucopolissacarídeos em glândulas cefálicas de *Micrurus c. corallinus* (Ophidia, Elapidae). Rev. Ciênc. Cult. n. 24, p. 214, 1972
- LOPES, R. A., CONTRERA, M. G. D., COSTA, J. R. V., PETENUSCI, S. O., LIMA-VERDE, J. S. Les glandes salivaires de *Philodryas patagoniensis* Girard, 1857 (Serpentes Colubridae). Etude morphologique, morphométrique et histochimique. Arch. Anat. Microsc. n. 71 (3), p. 175-182, 1982.
- MADDISON, W. P.; MADDISON, D. R. 2011. Mesquite. A modular system of evolutionary analysis. Version 2.75 (build 564). Disponível em: <a href="http://mesquiteproject.org/mesquite/download/installationWindows.html">http://mesquiteproject.org/mesquite/download/installationWindows.html</a>. Acesso em: 21/02/2013.
- MCCARTHY, C. J. Adaptations of sea snakes that eat fish eggs; With a note on the throat musculature of *Aipysurus eydouxi* (Gray, 1949). J. Nat. Hist., n.1, p. 1119-1128, 1987.
- McCRAINE, J. R., CASTAÑEDA, F. E. A new species of snake of the genus *Omoadiphas* (Reptilia: Squamata: Colubridae) from the Cordillera Nombre de Dios in northern Honduras. Proc. Biol. Soc. Washington. n. 117, p. 311-316, 2004.
- MCDOWELL, S. B. The architecture of the corner of the mouth of colubroid snakes. J Herpetol, n. 20(3), p. 353-407, 1986.
- MERTENS, R. On snail-eating snakes. Copeia. n. 1952 (4), p. 279, 1952.
- MINUCCI, S.; BACCARI, G. C.; MATTEO, L. Histology, histochemistry, and ultrastructure

of the harderian gland of the snake *Coluber viridiflavus*. J. Morph., n. 211 (2), p. 207-212, 1992.

- MULCAHY, D. G. Molecular systematic of neotropical cat-eye snakes: a test of the monophyly of Leptodeirini (Colubridae: Dipsadinae) with implications for character evolution and biogeography. Biological Journal of the Linnean Society, n. 92, p. 483-500, 2007.
- MULCAHY, D. G.; BECKSTEAD, T. H.; SITES, J. W. Molecular systematics of the Leptodeirini (Colubroidea: Dipsadidae) Revisited: Species-tree analyses and multi-locus data. Copeia, n. 2011(3), p. 407-417, 2011.
- OLIVEIRA, L. Caracterização morfológica e bioquímica das glândulas infralabiais e de sua secreção em espécies de serpentes "goo-eaters" (Colubridae: Dipsadinae). 2006. 102 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) Escola Paulista de Medicina, Universidade Federal de São Paulo, São Paulo. 2006.
- OLIVEIRA, L.; ANTONIAZZI, M. M.; LOPES-FERREIRA, M; LIMA, C.; BRUNI, FM.;
  PIMENTA, D.; CONCEIÇÃO, K.; PRUDENTE, A. L. C.; ZAHER, H.; JARED, C.
  Morphological, biochemical, and pharmacological study of the infralabial glands of *Sibynomorphus mikanii* (Colubridae: Dipsadinae). In: IX Congresso Brasileiro de Toxinologia. 2006, Fortaleza. J. Venom. Anim. Toxins incl. Trop. Dis., 2006. v. 13, p. 388.
- OLIVEIRA, L.; JARED, C.; PRUDENTE, A. L. C.; ZAHER, H.; ANTONIAZZI, M. M. Oral glands in dipsadinae "goo-eater" snakes: Morphology and histochemistry of the infralabial glands in *Atractus reticulatus*, *Dipsas indica*, and *Sibynomorphus mikanii*. Toxicon, n. 51, p. 898-913, 2008.
- OVADIA, M. Embryonic development of Duvernoy's gland in the snake *Natrix tessellata* (Colubridae), Copeia, n. 1984, p. 516-521, 1984.
- OVADIA, M. Embryonic development of Duvernoy's gland in the snake *Spalerosophis eliffordi* (Colubridae), Copeia, n. 1985, p. 101-106, 1985.
- PAYNE, A. P. The harderian gland: a tercentennial review. J. Anat., n. 185, p. 1-49, 1994.
- PEARSE, A. G. Histochemistry: Theoretical and applied 2. 4<sup>a</sup> Ed. Edinburg: Churchill Livingstone, 1985. p. 684-87.
- PETERS, J. A. The snakes of the subfamily Dipsadinae. Misc. Publ. Mus. Zool. Univ. Mich., n. 114, p. 1-224, 1960.
- PHISALIX, M. Animaux venimeux et venins. Paris: Masson & Cie, 1922. (vol. 2, 926)
- POUGH, F. H. Feeding mechanisms, body size, and the ecology and evolution of snakes.

Amer. Zool., n. 23, p. 339-342, 1983.

- POUGH, F. H.; GROVES, J. D. Specializations of the body form and food habits of snakes. Amer. Zool., n. 23, p. 443-454, 1983.
- PYRON, R. A.; BURBRINK, F. T.; COLLI, G. R.; DE OCA, A. N. M.; VITT, L. J.; KUCZYNSKI, C. A.; WIENS, J. J. The phylogeny of advanced snakes (Colubroidea), with discovery of a new subfamily and comparison of support methods for likelihood trees. Mol Phylogenet Evol, n. 58, p. 329-342, 2011.
- REHOREK, S. J. Squamate Harderian gland: An overview. The Anat. Rec., n. 248, p. 301-306, 1997.
- REHOREK, S. J.; HILLENIUS, W. J.; QUAN, W.; HALPERN, M. Passage of Harderian gland secretions to the vomeronasal organ of *Thamnophis sirtalis* (Serpentes: Colubridae). Can. J. Zool., n. 78, p. 1284-1288, 2000.
- REHOREK, S. J.; HALPERN, M.; FIRTH, B. T.; HUTCHINSON, M. N. The harderian gland of two species of snakes: Pseudonaja textilis (Elapidae) and Thamnophis sirtalis (Colubridae). Can. J. Zool., n. 81(3), p. 357-363, 2003.
- REHOREK, S. J.; FIRTH, B. T.; HUTCHINSON, M. N. The structure of the nasal chemosensory system in squamate reptiles. 2. Lubricatory capacity of the vomeronasal organ. J. Biophys. Chem., n. 1, p. 14-23, 2009.
- RIEPPEL O. The trigeminal jaw adductors of primitive snakes and their homologies with lacertilian jaw adductors. J. Zool. (London), v. 190, p. 447-471, 1980.
- RIEPPEL, O.; ZAHER, H. The braincase of mosasaurs and *Varanus*, and the relationships of snakes. Zool. J. Linn. Soc., n. 129, p. 489-514, 2000.
- SAINT GIRONS, H. Histologie compareé des glandes orbitaires des Lépidosauriens. Ann. Sci. Nat. Zool., n. 4, p. 171-191, 1982.
- SAINT GIRONS, H. Les glandes céphaliques exocrines des Reptiles. I. Données anatomiques et histologiques. Ann. Sci. Nat. Zool., n. 9, p. 221-255, 1988.
- SALOMÃO, M. G. Estrutura e secreção das glândulas de Duvernoy de Sibynomorphus mikanii (Colubridae, Dipsadinae) e Philodyas olfersii (Colubridae, Xenodontinae), e das glândulas de veneno de Bothrops jararaca (Viperidae, Crotalinae) e Micrurus frontalis (Elapidae, Elapinae) e a influência dos estados de alimentação e jejum. 1991. 122 f. Tese de doutorado, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1991.
- SALOMÃO, M. G.; LAPORTA-FERREIRA, I. L. The role of secretions from the supralabial, infralabial, and Duvernoy's glands of the slug-eating snake *Sibynomorphus mikanii* (Colubridae: Dipsadinae) in the immobilization of molluscan prey. J. Herpetol.,

n. 28, p.369-371, 1994.

- SAVITZKY, A. H. The origin of the New World proteroglyphous snakes and its bearing on the study of venom delivery systems in snakes. Thesis (Doctor of Philosophy), University of Kansas, Lawrence, 1979.
- SAVITZKY, A. H. Hinged teeth in snakes: An adaptation for swallowing hard-bodied prey. Science, vol. 212, n. 4492, p. 346-349, 1981.
- SAVITZKY, A. H. Coadapted character complexes among snakes: Fossoriality, piscivory, and durophagy. Amer. Zool., n. 23, p. 397-409, 1983.
- SAZIMA, I. Feeding behavior of the snail-eating snake, *Dipsas indica*. J. Herpetol., n. 23, p. 464-468, 1989.
- SHAYER-WOLLBERG, M.; KOCHVA, E. Embryonic development of the venom apparatus in *Causus rhombeatus* (Viperidae, Ophidia). Herpetologica, n. 23 (4), p. 249-259, 1967.
- SHEEHY III, C. M. Phylogenetic relationships and feeding behavior of Neotropical snaileating snakes (Dipsadinae, Dipsadini). 2012. 135 f. Thesis (Doctor or Philosophy), The University of Texas at Arlington, Arlington, 2012.
- SMITH, M.; BELLAIRS, A. A. The head glands of snakes, with remarks on the evolution of the parotid gland and teeth of the opisthoglypha. J. Linn. Soc. (Zool.) (London)., n. 41, p. 353-368, 1947.
- TAUB, A. M. Ophidian cephalic glands. J. Morphol., n. 118, p. 529-542, 1966.
- TAUB, A. M. Comparative studies on Duvernoy's gland of colubrid snakes. Bull. Am. Mus. Nat. Hist., n. 138, p. 1-50, 1967a.
- TAUB, A. M. Systematic implications from the labial glands of the Colubridae. Herpetologica. n. 23, p. 145-148, 1967b.
- UETZ, P.; HOSEK, J (Eds.). The reptile database, <u>http://www.reptile-database.org</u>, accessed Apr 1, 2013.
- UNDERWOOD, G. An overview of venomous snake evolution. Symp. Zool. Soc. Lond. In: THORPE, R. S.; WÜSTER, W.; MALHOTRA, A. Venomous snake. Ecology, Evolution and Snakebite. The Zoological Society of London. Oxford: Clarendon Press, 1997, n. 70, p. 1-13.
- UNDERWOOD, G. On the rictal structures of some snakes. Herpetologica, n. 58 (1), p. 1-17, 2002.
- UNDERWOOD, G.; KOCHVA E. On the affinities of the burrowing asps *Atractaspis* (Serpentes: Atractaspididae). Zool. J. Linn. Soc., n. 107, p. 3-64, 1993.
- VAETH, R. H.; ROSSMAN, D. A.; SHOOP, W. Observations of tooth surface morphology

in snakes. J. Herpetol., n. 19 (1), p. 20-26, 1985.

- VIDAL, N. Colubroid systematics: evidence for an early appearance of the venom apparatus followed by extensive evolutionary timkering. J. Toxicol. – Toxin Rev., n. 21 (1&2), p. 21-41, 2002.
- VONK, F. J.; ADMIRAAL, J. R.; JACKSON, K.; RESHEF, R.; DE BAKKER, M. A. G.;
  VANDERSCHOOT, K.; VAN DEN BERGE, I.; VAN ATTEN, M.; BURGERHOUT,
  E.; BECK, A.; MIRTSCHIN, P. J.; KOCHVA, E.; WITTE, F.; FRY, B. G.; WOODS,
  A. E.; RICHARDSON, M. K. Evolutionary origin and development of snakes fangs.
  Nature, n. 454, p. 630-633, 2008.
- VORIS, H. K.; VORIS, H. H. Feeding strategies in marine snakes: An analysis of evolutionary, morphological, behavioral and ecological relationships. Amer. Zool., n. 23, p. 411-425, 1983.
- YOUNG, B. A.; KARDONG, K. V. Dentitional surface features in snakes (Reptilia: Serpentes). Amphibia-Reptilia, n.17, p. 261-276, 1996.
- YOSHI, S., ISHIYAMA, M., OGAWA, T. Fine structure of Duvernoy's gland of the japanese colubrid snake, *Rhabdophis tigrinus*. Arch. Histol. Jap. n. 45 (4), p. 375-384, 1982.
- WALLACH, V. Revalidation of the genus *Tropidodipsas* Günther, with notes on the Dipsadini and Nothopsini (Serpentes: Colubridae). J. Herpetol., n. 29 (3), p. 476-481, 1995.
- WIENS, J. J.; HUTTER, C. R.; MULCAHY, D. G.; NOONAN, B. P.; TOWNSEND, T. M.; SITES, J. W.; REEDER, T. W. Resolving the phylogeny of lizards and snakes (Squamata) with extensive sampling of genes and species. Biol. Lett. Online publication. Doi: 10.1098/rsbl. 2012.0703. 2012.
- WRIGHT, D. L.; KARDONG, K. V.; BENTLEY, D. L. The functional anatomy of the teeth of the western terrestrial garter snake, *Thamnophis elegans*. Herpetologica, n. 35 (3), p. 223-228, 1979.
- ZAGO, D. A. Estudo morfológico e histoquímico de glândulas salivares relacionadas com a evolução da função venenosa nos ofídios. 1971. 69 f. Tese (Doutorado) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo. 1971.
- ZALISKO, E. J., KARDONG, K. Histology and histochemistry of the Duvernoy's gland of the brown snake *Boiga irregularis* (Colubridae). Copeia, n. 1992 (3), p. 791-799, 1992.

- ZAHER, H. Phylogénie des Pseudoboini et évolution des Xenodontinae sud-américains (Serpentes, Colubridae). (Ph. D. Dissertation) Muséum National d'Histoire Naturelle de Paris, vol. 1, p. 12+205, 1994a.
- ZAHER, H. Comments on the evolution of the jaw adductor musculature of snakes. Zool. J. Linnean Soc., n. 111, p. 339-384, 1994b.
- ZAHER, H. A musculatura associada à glândula infralabial de *Dipsas neivai*: um novo sistema de inoculação de veneno relacionado à malacofagia (Serpentes, Dipsadinae). In: XXI Congresso Brasileiro de Zoologia, 1996. Porto Alegre. Resumos do XXI Congresso Brasileiro de Zoologia, 1996. p. 201.
- ZAHER, H. Description of the cephalic muscles and gland morphology of *Clelia pumblea* and three presumably related species (Serpentes, Xenodontinae). Pap. Avulsos Zool., n. 40(2), p. 17-63, 1997.
- ZAHER, H. Hemipenial morphology of the South American Xenodontine snakes, with a proposal for a monophyletic Xenodontinae and a reappraisal of Colubroid hemipenes. Bull. Am. Mus. Nat. Hist., n. 240, 168pp, 1999.
- ZAHER, H.; GRAZZIOTIN, F. G.; CADLE, J. E.; MURPHY, R. W.; MOURA-LEITE, J. C.; BONATTO, S. L. Molecular phylogeny of advanced snakes (Serpentes, Caenophidia) with an emphasis South American Xenodontines: a revised classification and description of new taxa. Papéis Avulso de Zoologia, n. 49(11), p.115-153, 2009.
- ZEHR, D. R. Stages in the normal development of the common garter snake, *Thamnophis sirtalis sirtalis*, Copeia, n. 1962, p. 322-329, 1962.
- ZWEIFEL, R. G. Adaptations to feeding in the snake *Contia tenuis*. Copeia, n. 4, p. 299, 1954.

### 8. FIGURAS

Figura 01. Atractus reticulatus. A: Desenho esquemático da cabeça mostrando a localização das principais glândulas e músculos cefálicos. Desenho de Ana Lúcia da Costa Prudente. B: Corte sagital da cabeça evidenciando a localização das principais glândulas. C: Região do canto da boca, evidenciando a mucosa oral e as fibras musculares do *levator anguli oris* em contato com a cápsula de tecido conjuntivo na porção póstero-dorsal da glândula infralabial. D: Maior aumento da figura anterior mostrando a região de contato das fibras musculares com a cápsula de tecido conjuntivo da glândula infralabial. (B-D) Parafina. Coloração tricrômio de Mallory. E: Glândula infralabial constituída por ácinos e duto delimitados por septos de tecido conjuntivo. F: Reação histoquímica conjugada do alcian blue, pH 2.5 e PAS. Observar que há pelo menos dois tons de coloração das células mucosas (m1, azul escuro e m2, azul claro). As células seromucosas se coram apenas em PAS (magenta). G: Reação histoquímica do azul do bromofenol indicando as células seromucosas na periferia da glândula. Ver lista de abreviaturas para o nome das estruturas.



Figura 02. Atractus pantostictus. (A-D) Parafina, coloração hematoxilina-eosina. A: Corte sagital da cabeça. B: Detalhe da figura anterior, evidenciando a região posterior da mandíbula com o músculo adductor mandibulae externus medialis se direcionando para a glândula infralabial. C: Detalhe da região posterior da mandíbula mostrado o músculo intermandibularis posterior, pars posterior em contanto com a glândula infralabial. D: Corte transversal da cabeça no nível posterior dos olhos mostrando a localização das principais glândulas cefálicas. E: Reação histoquímica conjugada do alcian blue pH 2.5 e PAS na região posterior da glândula infralabial mostrando os diferentes tipos celulares encontrados na glândula. F: Maior aumento da figura anterior mostrando detalhes dos tipos celulares encontrados na região anterior da glândula infralabial. Observar que há pelo menos dois tons de coloração das células mucosas (m1, azul escuro e m2, azul claro). As células seromucosas se coram apenas em PAS (magenta). Ver lista de abreviaturas para o nome das estruturas.




Figura 03. Atractus zebrinus. A: Aspecto geral da glândula infralabial em um corte transversal. Historresina, coloração azul de toluidina-fuesina. B: Maior aumento da figura anterior mostrando ácinos com luz estreita e constituido por células com distintas afinidades tintoriais. Historresina, coloração azul de toluidina-fuesina. C: Reação histoquimica do azul de bromofenol indicando a positividade das células seromucosas. Historresina. D: Reação histoquímica conjugada do alcian blue, pH 2.5 e PAS indicando as células mucosas. Observar que há pelo menos dois tons de coloração das células mucosas (m1, azul escuro e m2, azul claro), enquanto que as células seromucosas se coram apenas em PAS (magenta). Ver lista de abreviaturas para o nome das estruturas.

Figura 04. Adelphicos quadrivirgatum. A: Desenho esquemático da cabeça evidenciando a disposição de algumas glândulas e músculos cefálicos. B: Corte sagital da cabeça. Parafina, coloração hematoxilina-eosina. C: Detalhe da figura anterior evidenciando a região mandibular com a glândula infralabial e seus dutos curtos se abrindo no interior da boca. D: Detalhe da glândula infralabial com o músculo levator anguli oris se inserindo na região póstero-dorsal da glândula. Parafina, coloração hematoxilina-eosina. E: Reação histoquímica conjugada do alcian blue, pH 2.5 e PAS demonstrando o caráter mucoso das células da glândula infralabial. F: Corte transversal da região posterior da cabeça mostrando a localização das glândulas supra e infralabiais e a associação do músculo levator anguli oris à cápsula de tecido conjuntivo na região póstero-dorsal da glândula infralabial. Parafina, hematoxilinaeosina. G: Corte transversal da região anterior da cabeça mostrando a localização das glândulas supra e infralabiais. Parafina, coloração hematoxilina-eosina. H: Maior aumento da figura F mostrando a diferença entre os tipos celulares existentes na glândula supralabial e os presentes na glândula rictal, que se distende ao longo da superfície dorsal da infralabial. Parafina, coloração hematoxilina-eosina. I: Detalhe em maior aumento mostrando as diferenças entre a glândula supralabial e a glândula rictal. Parafina, coloração hematoxilina-eosina. Ver lista de abreviaturas para o nome das estruturas.



Figura 05. *Chersodromus liebmanni*. A: Fotografia em vista lateral da cabeça dissecada mostrando as principais glândulas e músculos cefálicos. A seta indica uma provável divisão da glândula supralabial. B: Desenho esquemático da cabeça em vista lateral. Desenho de Ana Lúcia da Costa Prudente. C: Corte sagital da região mandibular mostrando a disposição da glândula supra e infralabial, dando ênfase ao duto da glândula infralabial. Parafina, coloração hematoxilina-eosina. D: Detalhe do duto da glândula infralabial. Parafina, coloração hematoxilina-eosina. E: Corte transversal da região posterior da cabeça logo atrás do canto da boca. Parafina, hematoxilina-eosina. F: Corte transversal da região anterior da cabeça. Parafina, coloração hematoxilina-eosina. G: Corte sagital da glândula supralabial. Parafina, coloração hematoxilina-eosina. H: Corte sagital da glândula infralabial. Parafina, coloração hematoxilina-eosina. Ver lista de abreviaturas para o nome das estruturas.



Figura 06. Ninia hudsoni. (MZUSP 8344) A: Corte sagital da cabeça evidenciando a localização das principais glândulas. Parafina, coloração de tricrômio de Mallory. O inserto mostra um detalhe da região anterior da glândula infralabial com um duto alargado no seu interior. B: Detalhe da região mandibular mostrando a glândula infralabial composta por ácinos e os dutos concentrados na região anterior da boca. Parafina, coloração de hematoxilina-eosina. O inserto mostra a região posterior da glândula infralabial com as fibras do músculo levator anguli oris em contato com a cápsula de tecido conjuntivo ao redor da glândula. C: Reação histoquímica do azul de bromofenol evidenciando a positividade da glândula ao método e um duto principal composto por células mucosas na região mediana. D: Corte transversal na altura dos olhos, mostrando a disposição das glândulas labiais e o músculo levator anguli oris ao longo da região medial da glândula infralabial. E: Reação histoquímica conjugada do alcian blue, pH 2.5 e PAS em um corte transversal na altura dos olhos, demostrando a positividade das glândulas labiais ao método do PAS, bem como a positividade dos seus respectivos dutos ao alcian blue, pH 2.5. F: Corte transversal da cabeça na altura da cavidade nasal demonstrando o duto principal da glândula infralabial. Parafina, coloração hematoxilina-eosina. G: Corte transversal da cabeça na região anterior da boca demonstrando diversos dutos da glândula infralabial. Parafina, coloração hematoxilina-eosina. Ver lista de abreviaturas para o nome das estruturas.





Figura 07. Ninia sebae (USNM 109854). A: Desenho esquemático da cabeça mostrando a localização das principais glândulas e músculos cefálicos. B: Corte sagital da cabeça localizando a glândula infralabial com um duto distendido longitudinalmente no seu interior. Parafina, coloração hematoxilina-eosina. C: Corte sagital da glândula infralabial, mostrada na figura anterior (Fig. 7B), evidenciando os ácinos e duto da glândula. Parafina, coloração hematoxilina-eosina. D: Reação histoquímica do alcian blue, pH 2.5 em um corte sagital da glândula infralabial mostrando a positividade das células mucosas da parede do duto ao método. E: Reação histoquímica do alcian blue, pH 2.5 em um corte transversal da cabeça na altura dos olhos mostrando as glândulas supra e infralabiais, bem como a glândula de Harder. F: Corte transversal da cabeça na região posterior dos olhos mostrando as glândulas supra e infralabiais, bem como a glândula de Harder. Parafina, coloração hematoxilina-eosina. G: Corte transversal da região anterior da cabeça, no nível dos olhos, mostrando a glândula de Harder localizada na superfície medial dos olhos, com seus dutos dispostos longitudinalmente no interior da glândula. Parafina, reação histoquímica do alcian blue, pH 2.5 e coloração de fundo com hematoxilina. H: Corte transversal da cabeça, no nível anterior dos olhos, mostrando a região posterior da cavidade nasal e o duto lacrimal se curvando medialmente. Parafina, coloração hematoxilina-eosina. I: Corte transversal da cabeça mostrando o duto do órgão de Jacobson se abrindo na boca e o duto lacrimal se abrindo no interior do duto do órgão de Jacobson. Parafina, coloração hematoxilina-eosina. Ver lista de abreviaturas para o nome das estruturas.



Figura 07

**Figura 08.** *Dipsas indica.* **A:** Corte sagital da cabeça mostrando a localização da porção ventromedial da glândula infralabial. Parafina, coloração tricrômio de Mallory. **B:** Reação histoquímica do alcian blue, pH 2.5 em um corte transversal da cabeça na altura da cavidade nasal mostrando diversos dutos da glândula infralabial. **C:** Detalhe em maior aumento da figura A mostrando dutos da glândula infralabial. **D:** Corte transversal da região anterior da cabeça na altura da cavidade nasal mostrando o duto principal da glândula infralabial. **Parafina, coloração hematoxilina-eosina. E:** Reação histoquímica do alcian blue pH 2.5 mostrando a abertura do duto principal da porção ventromedial da glândula infralabial. Ver lista de abreviaturas para o nome das estruturas.



Figura 09. *Dipsas indica*. A: Corte transversal da região posterior da cabeça na altura do ângulo da boca mostrando as glândulas labiais. Parafina, coloração hematoxilina-eosina. O inserto mostra a porção ventromedial da glândula infralabial com um duto na região mediana e o músculo *intermandibularis posterior, pars posterior* associado à região ventral da glândula. B: Corte transversal da cabeça na altura da região pós-ocular mostrando as glândulas labiais e o músculo *levator anguli oris*. Parafina, coloração tricrômio de Mallory. C: Corte transversal da cabeça na altura dos olhos. Parafina, coloração hematoxilina-eosina. D: Corte transversal da região anterior da cabeça, na altura da cavidade nasal, mostrando as glândulas labiais com seus respectivos dutos. Parafina, coloração hematoxilina-eosina. Ver lista de abreviaturas para o nome das estruturas.



Figura 10. Dipsas albifrons. (A e B) MZUSP 17885. A: Corte sagital da cabeça mostrando a localização da glândula infralabial (il2) logo abaixo do osso dentário. Parafina. Coloração tricrômio de Mallory. B: Maior aumento da figura anterior mostrando a região mandibular. Nesta região observa-se a glândula infralabial composta por células mucosas na porção anterior e células seromucosas na porção porterior; observa-se ainda um duto principal mucoso partindo da região posterior da glândula (cabeças de setas) e se dirigindo para a região anterior onde se abre no assoalho da boca. (C e D) MZUSP 17233. C: Corte transversal mostrando a disposição da glândula infralabial (il2) com seu duto alargado (cabeça de seta). Parafina. Coloração tricrômio de Mallory. D: Corte sagital evidenciando o duto da il2 (cabeça de seta) estendido por quase todo o comprimento da glândula. Parafina. Coloração hematoxilina-eosina. E: Região de contato entre as células mucosas da região anterior da glândula e as células seromucosas da região posterior. Historresina. Coloração azul de toluidina-fucsina. F: Reação histoquímica do azul de bromofenol evidenciando a positividade das células seromucosas ao método. G: Reação histoquímica do PAS mostrando a positividade de ambos os tipos celulares, embora as células mucosas apresentam uma reação mais intensa. H: Reação histoquímica do alcian blue, pH 2.5, mostrando a positividade das células mucosas. Coloração nuclear com hematoxilina. Ver lista de abreviaturas para o nome das estruturas.





Figura 11. Dipsas neival. (A-D) Parafina, coloração hematoxilina-cosina. A: Corte histológico sagital em uma orientação não usual (vista dorsal) evidenciando a porção ventromedial da glândula infralabial com um duto principal em sua região mediana e fibras do músculo *intermandibularis posterior, pars posterior* associadas à cápsula de tecido ao redor da superficie póstero-inferior da glândula. O músculo *levator anguli oris* pode ser visto associado à superficie dorsal da glândula. B: Porção ventromedial da glândula infralabial completamente envolta por fibras do músculo *intermandibularis posterior, pars posterior e levator anguli oris*. Observam-se ainda fibras musculares do *levator anguli oris* passando lateralmente e praticamente em contato com a cápsula de tecido conjuntivo da porção lateral da glândula infralabial. C: Maior aumento da Figura A evidenciando as fibras musculares do *intermandibularis posterior, pars de tecido conjuntivo da porção lateral da glândula infralabial. C: Maior aumento da Figura A evidenciando as fibras musculares do <i>intermandibularis posterior, pars posterior, pars posterior* em contato com a cápsula de tecido conjuntivo da porção ventromedial da glândula infralabial. D: Maior aumento da figura B evidenciando a direção das fibras musculares do *levator anguli oris* em relação à cápsula de tecido conjuntivo da porção ventromedial da glândula infralabial. Ver lista de abreviaturas para o nome

**Figure 12.** *Dipsas neivai* (Juvenil). **A:** Aspecto geral da glândula infralabial constituída por ácinos envoltos por septos de tecido conjuntivo (cabeças de setas) e por dutos que se dispõem na região central. **B:** Maior aumento da figura anterior mostrando o arranjo dos ácinos delimitados pelos septos de tecido conjuntivo e constituídos por células com distintas afinidades tintoriais. O duto é revestido essencialmente por células mucosa altas. Historresina. Coloração toluidina-fucsina. **C:** Reação histoquímica do azul de bromofenol indicando a natureza proteica da secreção das células seromucosas dos ácinos e a negatividade das células mucosas tanto da parede do duto como do próprio ácino a essa reação. **D:** Reação histoquímica do alcian blue, pH 2.5, indicando a natureza mucosa ácida da secreção das células mucosas que revestem a parede do duto e de algumas células dos ácinos. Coloração nuclear com hematoxilina. **E:** Reação histoquímica do PAS evidenciando a positividade geral das células da glândula a essa reação. **F:** Reação histoquímica conjugada do alcian blue, pH 2.5 e PAS indicando a natureza mucosa ácida e neutra dos grânulos de secreção das células mucosas tanto dos ácinos quanto da parede do duto. Ver lista de abreviaturas para o nome das estruturas.



**Figura 13.** *Sibynomorphus mikanii.* **A:** Vista ventral da cabeça dissecada evidenciando o tamanho e a localização da glândula infralabial. Desenho de Ana Lúcia da Costa Prudente. **B:** Corte longitudinal da região mandibular a partir do assoalho da boca mostrando a posição das duas porções da glândula infralabial, porção lateral e ventromedial. Parafina, coloração Tricrômio de Mallory. **C:** Reação histoquímica do PAS em um corte sagital da região mandibular mostrando a porção ventromedial com o duto principal se distendendo desde a porção mediana até a porção anterior da glândula. Embora toda a glândula tenha reagido positivamente ao PAS, as células mucosas na região anterior e as células que compõem a parede do duto reagiram mais intensamente. **D:** Corte transversal da cabeça na altura dos olhos mostrando a glândula infralabial dividida em duas porções e o músculo *levator anguli oris* entre as duas porções glandulares. **E:** Corte transversal da região mandibular mostrando a glândula infralabial dividida em duas porções (lateral e ventromedial) e evidenciando o duto da porção ventromedial. Parafina, coloração hematoxilina-eosina. **E:** Corte transversal da mandíbula evidenciando o duto da porção hematoxilina-eosina. **E:** Corte transversal da mandíbula evidenciando o duto



Figura 13

**Figura 14**. *Sibynomorphus mikanii*. **A:** Vista lateral da cabeça dissecada, evidenciando o tamanho e a localização das principais glândulas cefálicas e músculos adutores. Coloração, solução saturada de alcian blue e vermelho de alizarina. **B:** Fotografia em vista frontal da cabeça mostrando as aberturas (setas) dos dutos da porção ventromedial da glândula infralabial (il2) no assoalho da boca. **C:** Detalhe em maior da figura A mostrando a região do canto da boca. **D:** Detalhe em maior aumento da figura B mostrando as aberturas (setas) no assoalho da boca. Fotografia de Juan Camilo Arredondo. **E:** Corte longitudinal da região maxilar evidenciando a disposição da glândula supralabial distendida sob as escamas supralabiais e logo atrás a porção caudal da glândula de Harder. **F:** Corte longitudinal da glândula supralabial mostrando os tipos celulares que constituem a glândula e a presença de alguns dutos se direcionando para o epitélio oral. Ver lista de abreviaturas para o nome das estruturas.

#### В A gn sl gH lao aes gr lqm ۶ 111 gpm 12 2 mm 2 mm D C aes eo gr lao 0.6 53 Е F dsl gН sl 100 µm 3 mm

Figura 15. Sibynomorphus neuwiedii. (A-D) Corte transversal da cabeça. Parafina, coloração hematoxilina-eosina. A: Região posterior da cabeça. B: Região mediana, na altura dos olhos. C: Região anterior ao nível dos olhos. D: Região anterior da cabeça, no nível da cavidade nasal, evidenciando o duto principal da porção ventromedial da glândula infralabial. Notar que o duto se encontra deslocado dorsalmente em direção ao epitélio oral. Nesta região as duas porções da glândula infralabial (porção ventromedial e lateral) são praticamente indistinguíveis. E: Detalhe em maior aumento de uma região um pouco mais anterior à região mostrada na figura anterior (Fig. D) evidenciando o momento em que o duto da porção ventromedial se abre no assoalho da boca. Parafina, coloração tricrômio de Mallory. Ver lista de abreviaturas para o nome das estruturas.



Figura 16. Sibon nebulatus. A: Desenho esquemático da cabeça mostrando a localização das principais glândulas e músculos cefálicos. Desenho de Ana Lúcia da Costa Prudente. B: Corte sagital da cabeça evidenciando a localização das principais glândulas cefálicas. Parafina, coloração hematoxilina-eosina. C: Detalhe em maior aumento da figura anterior mostrando a glândula infralabial constituída por ácinos e túbulos. D: Detalhe da porção anterior da mandíbula mostrando dutos da glândula infralabial se abrindo na região anterior da boca (seta). Parafina, coloração hematoxilina-eosina. E: Detalhe dos tipos celulares que constituem a glândula infralabial. Parafina, coloração hematoxilina-eosina. F: Detalhe dos tipos celulares que constituem a glândula supralabial. Parafina, coloração hematoxilina-eosina. G: Reação histoquímica do azul de bromofenol demonstrando a positividade da glândula infralabial a essa reação. As células seromucosas, positivas ao método, localizam-se principalmente na região posterior da glândula. H: Corte transversal da cabeça, na altura dos olhos, evidenciando as glândulas supra e infralabiais com seus respectivos dutos. I: Corte transversal da região anterior da cabeça, na altura da cavidade nasal, evidenciando túbulos e dutos da glândula infralabial voltados pra a região anterior da boca. (H e I) Parafina, coloração hematoxilina-eosina. Ver lista de abreviaturas para o nome das estruturas.



Figura 17. *Tropidodipsas sartorii.* A: Fotografia em vista lateral da cabeça dissecada mostrando as principais glândulas orais. B: Fotografia em vista ventral da cabeça dissecada mostrando a glândula infralabial. C: Corte sagital da cabeça mostrando a disposição da glândula supra e infralabial, dando ênfase ao duto alargado que se distende por quase todo o comprimento da glândula infralabial. Parafina, coloração hematoxilina-eosina. D: Corte sagital da glândula supralabial mostrando um detalhe das células mucosas e dos dutos no interior da glândula. Parafina, coloração hematoxilina-eosina. E: Reação histoquímica do alcian blue, pH 2.5 mostrando um corte sagital da glândula infralabial com um duto alargado no seu interior. Notar que as células da parede do duto foram negativas a reação, enquanto que o interior do duto contêm secreção positiva ao método. F: Detalhe das células mucosas predominantes na glândula infralabial. Parafina, reação histoquímica do alcian blue, pH 2.5. G: Detalhe das células seromucosas da glândula infralabial. Estas células estão presentes em menor quantidade no interior da glândula e restritas a região posterior da glândula. Parafina, coloração hematoxilina-eosina da alcian blue, pH 2.5.



Figura 17

Figura 18. Leptodeira annulata. A: Vista lateral da cabeça dissecada evidenciando o tamanho e a localização das principais glândulas cefálicas. (Exemplar MZUSP 16953). Coloração, solução saturada de alcian blue e vermelho de alizarina. B: Corte sagital da cabeça evidenciando a localização das principais glândulas cefálicas e os dutos da glândula infralabial (seta) e da glândula supralabial (cabeças de seta). Parafina. Coloração hematoxilina-eosina. C: Reação histoquímica do alcian blue pH 2.5 em um corte sagital da cabeça mostrando a positividade das glândulas supra e infralabiais ao método. Parafina. (Fig. B e C, exemplar MZUSP 16948). D: Reação histoquímica do azul de bromofenol indicando a positividade das glândulas de Harder e de Duvernoy ao método, além dos locais de abertura dos dutos da glândula de Duvernoy e da glândula supralabial. (Exemplar MZUSP 16958). E: Corte sagital a partir dos dentes maxilares evidenciando a disposição das glândulas supralabial e de Duvernoy. Parafina. Coloração Tricrômio de Mallory. F: Detalhe do corte sagital a partir dos dentes maxilares evidenciando a relação entre os dentes maxilares posteriores alargados e o duto da glândula de Duvernoy. Parafina, coloração hematoxilina-eosina. (Fig. E e F, exemplar MZUSP 16948). Ver lista de abreviaturas para o nome das estruturas.



**Figura 19.** *Imantodes cenchoa.* **A:** Fotografia em vista lateral da cabeça dissecada mostrando as principais glândulas orais. O inserto mostra a glândula rictal na altura do canto da boca, na região posterior da glândula de Duvernoy e medial ao ligamento quadrato-maxilar. Coloração, solução saturada de alcian blue e vermelho de alizarina. **B:** Corte transversal da cabeça na altura dos olhos mostrando a disposição das glândulas labiais e seus respectivos dutos. Parafina, coloração hematoxilina-eosina. **C:** Corte transversal da cabeça no nível do canto da boca mostrando a porção posterior da glândula supralabial e a glândula rictal. O inserto mostra o duto da glândula supralabial e da glândula rictal, além do ligamento quadrato-maxilar que se dispõe lateralmente à glândula rictal. Parafina, coloração hematoxilina-eosina do alcian blue, pH 2.5 mostrando a região mandibular com a glândula infralabial e seus dutos se abrindo ao longo da mandíbula. Observar que os dutos estão repletos de secreção, que também se mostra positiva à essa reação. **E:** Glândula de Duvernoy com seu duto principal na região mediana. Parafina, coloração hematoxilina-eosina. Ver lista de abreviaturas para o nome das estruturas.



Figura 20. Coniophanes fissidens (USNM 561024). A: Fotografia em vista lateral da cabeça dissecada evidenciando a posição das principais glândulas cefálicas e músculos adutores. B: Corte sagital da cabeça mostrando a localização da glândula infralabial. Parafina, coloração hematoxilina-eosina. O inserto é mostrado em maior aumento na figura D. C: Corte sagital da glândula infralabial constituída por ácinos e um duto que se distende longitudinalmente ao longo da glândula. Parafina, coloração hematoxilinaeosina. D: Detalhe em maior aumento do inserto indicado na figura B evidenciando os dutos da glândula infralabial positivos à reação histoquímica do alcian blue, pH 2.5 e dispostos longitudinalmente ao longo da glândula. Parafina, coloração nuclear com hematoxilina. E: Reação histoquímica do alcian blue, pH 2.5 em um corte sagital da cabeça evidenciando a positividade da glândula supralabial ao método, enquanto que a glândula de Duvernoy se mostrou totalmente negativa a essa reação. Parafina, coloração nuclear com hematoxilina. F: Corte transversal da cabeça na altura da região pós-orbital mostrando um duto da glândula infralabial se abrindo próximo ao contato entre a escama infralabial e a mucosa oral, enquanto que outros dutos se dispõem longitudinalmente ao longo da glândula. Parafina, coloração com hematoxilina-eosina. Ver lista de abreviaturas para o nome das estruturas.



Figura 21. Urotheca elapoides. A: (USNM 110765). Cabeça dissecada mostrando a localização das principais glândulas cefálicas. B: Corte transversal da região posterior da cabeça mostrando as principais glândulas. Parafina, coloração hematoxilina-eosina. C: Corte transversal da região anterior da cabeça. Parafina, coloração hematoxilina-eosina. D: Corte sagital da glândula infralabial mostrando os dutos dispostos longitudinalmente ao longo da glândula. Parafina, coloração hematoxilina-eosina. E: Maior aumento da figura anterior mostrando o epitélio e os dutos da glândula infralabial. Ver lista de abreviaturas para o nome das estruturas.




Figura 22

Figura 22. Desenho esquemático da cabeça em vista lateral mostrando a localização das principais glândulas e músculos cefálicos. A: *Rhadinaea decorata*; B: *Rhadinaea hannsteini*. C: *Rhadinaea montecristi*. Ver lista de abreviaturas para o nome das estruturas.



Figura 23

Figura 23. Desenho esquemático da cabeça em vista lateral mostrando a localização das principais glândulas e músculos cefálicos. A: *Hypsiglena torquata*; B: *Tretanorhinus variabilis*. C: *Trimetopon pliolepis*. Ver lista de abreviaturas para o nome das estruturas.

**Figura 24.** *Tomodon dorsatus.* **A:** Cabeça dissecada mostrando a localização das principais glândulas cefálicas. Coloração, solução saturada de alcian blue e vermelho de alizarina. **B:** Corte sagital mostrando as principais glândulas. Parafina, coloração hematoxilina-eosina. **C:** Reação histoquímica conjugada do alcian blue, pH 2.5 e PAS em corte sagital da mandíbula mostrando a positividade da glândula infralabial ao método. **D:** Reação histoquímica conjugada do alcian blue, pH 2.5 e PAS mostrando a porção anterior da glândula supralabial. **E:** Detalhe em maior aumento da figura C mostrando a positividade da glândula infralabial à reação histoquímica conjugada do alcian blue, pH 2.5 e PAS. Ver lista de abreviaturas para o nome das estruturas.





Figura 25. Otimização dos estados do caráter "glândulas infralabiais divididas em duas porções (il1 e il2)" sobre a hipótese filogenética de Zaher et al. (manuscrito em preparação). Os quadrados pequenos nas pontas dos ramos indicam as espécies analisadas.

## 131

Figura 25



Figura 26. Otimização dos estados do caráter "glândulas de Duvernoy" sobre a hipótese filogenética de Zaher et al. (manuscrito em preparação). Os quadrados pequenos nas pontas dos ramos indicam as espécies analisadas.



Figura 27. Otimização dos estados do caráter "músculo *levator anguli oris* associado às glândulas infralabiais" sobre a hipótese filogenética de Zaher et al. (manuscrito em preparação). Os quadrados pequenos nas pontas dos ramos indicam as espécies analisadas.

Figura 27



Figura 28. Otimização dos estados do caráter "dieta" dos dipsadineos sobre a hipótese filogenética de Zaher et al. (manuscrito em preparação). Os quadrados pequenos nas pontas dos ramos indicam as espécies analisadas.



Figura 29. *Sibynomorphus mikanii* (embrião 1, 10 dias após a ovipostura, MZUSP 18714). A: Fotografia do embrião em vista lateral. B: Fotografia do embrião em vista dorsal. C: Corte histológico transversal da cabeça na altura da cavidade nasal. Parafina, coloração hematoxilina-eosina. D: Corte histológico transversal da cabeça na altura dos olhos. Parafina, coloração hematoxilina-eosina. Ver lista de abreviaturas para o nome das estruturas.





Figura 30. *Sibynomorphus mikanii* (embrião 2, 25 dias após a ovipostura, MZUSP 18715). A: Fotografia geral do embrião. B: Detalhe da cabeça do embrião em vista lateral. C: Corte histológico transversal da cabeça na altura dos olhos. Parafina, reação histoquímica do alcian blue, pH 2.5 e PAS. O inserto mostra um detalhe em maior aumento da região mandibular. A seta indica o espessamento do epitélio que reveste o mesênquima. D: Corte sagital da cabeça mostrando a lâmina dental do dentário. E: Corte sagital da cabeça em uma região mais lateral em relação ao corte anterior (Fig. 26D) mostrando uma lâmina distendida ao longo do terço anterior da mandíbula. F: Detalhe da lâmina no terço anterior da mandíbula. (D-F) Parafina, coloração hematoxilina-eosina. Ver lista de abreviaturas para o nome das estruturas.





Figura 31. Sibynomorphus mikanii (embrião 3, 32 dias após a ovipostura, MZUSP 18716).
A: Fotografia geral do embrião. B: Detalhe da cabeça do embrião em vista lateral. C: Corte histológico sagital da cabeça. Parafina, coloração hematoxilina-eosina. O inserto mostra detalhes dos primórdios das glândulas supralabiais. D: Corte transversal da cabeça na altura dos olhos. Parafina, coloração hematoxilina-eosina. O inserto mostra um detalhe em maior aumento da glândula supralabial. E: Corte transversal em uma altura posterior aos olhos mostrando as glândulas labiais. Parafina, reação histoquímica do alcian blue, pH 2.5 e PAS.
F: Detalhe da região mandibular mostrando a glândula infralabial e o músculo *levator anguli oris*. Parafina, reação histoquímica do alcian blue, pH 2.5 e PAS. Ver lista de abreviaturas para o nome das estruturas.





Figura 32. Sibynomorphus mikanii (embrião 4, 41 dias após a ovipostura, MZUSP 18717). A: Fotografia geral do embrião. B: Detalhe da cabeça do embrião em vista lateral. C: Corte histológico sagital da cabeça. Parafina, coloração hematoxilina-eosina. D: Maior aumento da figura anterior mostrando a glândula infralabial com seu duto voltado para a região anterior da boca. Parafina, coloração hematoxilina-eosina. E: Corte transversal da cabeça no nível dos olhos mostrando a glândula supra e infralabial com seus respectivos dutos. Parafina, reação histoquímica conjugada do alcian blue, pH 2.5 e PAS. O inserto mostra em maior aumento os dutos da porção lateral e ventromedial da glândula infralabial. F: Corte transversal da cabeça na região anterior da boca na altura da cavidade nasal mostrando a glândula supra e infralabial com seus respectivos dutos. O inserto mostra o duto da glândula infralabial em maior aumento. Ver lista de abreviaturas para o nome das estruturas.





Figura 33. *Sibynomorphus mikanii* (embrião 41 dias após a ovoposição, MZUSP 18717). (A-D) Corte histológico transversal da região posterior da cabeça na altura do canto da boca. A: Disposição das glândulas labiais e músculo *levator anguli oris*. Parafina, reação histoquímica do alcian blue pH 2.5 e coloração nuclear com hematoxilina. B: Dutos das glândulas labiais se abrindo no interior da boca. Parafina, reação histoquímica conjugada do alcian blue pH 2.5 e PAS. C: Duto da glândula supralabial se abrindo na região labial. Parafina, coloração hematoxilina-eosina. D: Duto da glândula rictal se abrindo no canto da boca, enquanto que a glândula supralabial se dispõe em uma posição mais lateral. Parafina, coloração hematoxilinaeosina. Ver lista de abreviaturas para o nome das estruturas.



Figura 34. *Atractus pantostictus*. MEV. A: Vista medial da maxila. B: Detalhe de um dente maxilar em vista medial mostrando a crista (seta) desde o ápice até a região mediana do dente. C: Vista lateral da maxila mostrando as cristas laterais (setas) em todos os dentes. D: Vista lateral do palatino e pterigoide mostrando a presença dos dentes nestes ossos. E: Vista medial do palatino evidenciando as cristas mediais em todos os dentes (setas). F: Detalhe em vista lateral dos dentes do pterigoide mostrando as cristas laterais. Ver lista de abreviaturas para o nome das estruturas.





Figura 35. *Atractus pantostictus*. MEV. A: Vista medial da mandíbula. B: Vista medial dos dentes do dentário. C: Vista lateral da mandíbula mostrando as cristas (setas) nos dentes do dentário. D: Detalhe em maior aumento evidenciando as cristas (setas) nos dentes do dentário. E: Vista anterior dos dentes mostrando sua superfície lisa. Ver lista de abreviaturas para o nome das estruturas.



Figura 35

Figura 36. Adelphicos quadrivirgatum. MEV. (A-D) Osso maxilar. A: Vista medial. B: Dentes maxilares em vista medial. C: Vista posterior dos dentes maxilares evidenciando as cristas auxiliares na região basal. O inserto mostra o último e penúltimo dente maxilar, ambos com cristas na superfície medial (setas) e cristas auxiliares na superfície posterior. D: Detalhe das cristas auxiliares na região basal dos dentes. (E-H) Osso dentário. E: Vista dorsal do osso dentário. F: Vista medial dos dentes do dentário. G: Vista posterior mostrando as cristas auxiliares na região basal e as cristas laterais na região apical dos dentes (setas). H: Detalhe das cristas auxiliares na região posterior. Ver lista de abreviaturas para o nome das estruturas.





Figura 37. *Geophis nasalis*. MEV. (A-D) Osso maxilar. A: Vista lateral. B: Dentes maxilares em vista lateral mostrando as cristas laterais (seta) na porção apical. C: Maior aumento mostrando as cristas laterais (setas). D: Vista posterior mostrando o último e penúltimo dente maxilar, onde podem ser observadas as cristas auxiliares na região basal da superfície posterior e as cristas laterais (setas) na superfície lateral. (E-H) Osso dentário. E: Vista lateral do osso dentário. F: Vista lateral mostrando as cristas laterais. G: Vista posterior mostrando a crista lateral e as cristas auxiliares na região posterior dos dentes. H: Detalhe das cristas auxiliares na região posterior. Ver lista de abreviaturas para o nome das estruturas.









Figura 38. *Ninia atrata*. (A-B) Microscopia eletrônica de varredura do osso maxilar direito. A: Vista lateral. B: Vista ventral. (C-D) Microscopia eletrônica de varredura do osso dentário direito. C: Vista medial. D: Vista ventral. Ver lista de abreviaturas para o nome das estrurutras.

Figura 39. *Ninia sebae*. MEV. (A-D) Osso maxilar. A: Vista lateral. B: Vista dorsal. C: Detalhe dos dentes em vista lateral evidenciando as cristas (setas) laterais. D: Detalhe em vista posterolateral mostrando as cristas laterais. (E-H) Osso dentário. E: Vista ventral. F: Vista lateral. O inserto mostra detalhes da superfície dos dentes. G: Vista posterolateral mostrando pequenas cristas auxiliares na porção posterior dos dentes. H: Maior aumento da figura anterior mostrando as cristas auxiliares na porção posterior do dente. Ver lista de abreviaturas para o nome das estruturas.



Figura 39

Figura 40. *Dipsas albifrons*. MEV. (A-C) Osso maxilar. A: Vista medial. B: Detalhe dos dentes em vista medial evidenciando as cristas na superfície medial (setas) e as cristas auxiliares na superfície posterior dos dentes. C: Detalhe em maior aumento mostrando as cristas auxiliares na superfície posterior do dente. (D-F) Osso dentário. D: Vista medial. E: Detalhe dos dentes em vista medial mostrando as cristas mediais (setas) e as cristas auxiliares na porção posterior. F: Detalhe em maior aumento mostrando as cristas auxiliares na porção posterior. Ver lista de abreviaturas para o nome das estruturas.





Figura 41. *Dipsas indica*. MEV. (A-B) Osso maxilar. A: Vista lateral. B: Vista posterior dos dentes maxilares evidenciando as cristas auxiliares. (C-D) Osso dentário. C: Vista medial. D: Detalhe dos dentes em vista medial evidenciando as cristas na porção medial (setas) e as cristas auxiliares na região posterior dos dentes. E: Detalhe em maior aumento mostrando a crista na porção medial (seta) e as cristas auxiliares na porção posterior do dente. F: Vista lateral dos dentes mostrando um número menor de cristas quando comparados à vista medial. Ver lista de abreviaturas para o nome das estruturas.



Figura 41

Figura 42. *Sibynomorphus mikanii*. MEV. (A-D) Osso maxilar. A: Vista lateral evidenciando a forma dos dentes, bem como as cristas laterais (setas). B: Detalhe em vista lateral mostrando a crista lateral (seta) desde o ápice até a região mediana dos dentes. C: Vista medial da maxila mostrando a presença das cristas mediais (setas). D: Vista posterior do último e penúltimo dente maxilar mostrando a presença das cristas auxiliares. (E-F) Osso dentário. E: Vista lateral. F: Detalhe dos dentes em vista lateral mostrando as cristas laterais e as cristas auxiliares na superfície posterior. Ver lista de abreviaturas para o nome das estruturas.





Figura 43. *Sibynomorphus neuwiedi*. MEV. (A-C) Osso maxilar. A: Ossos maxilar e ectopterigóide. B: Detalhe da região anterior do osso maxilar mostrando os dentes. C: Maior aumento indicando as cristas auxiliares na superfície posterior do dente. (D-E) Osso dentário. D: Dentes do dentário. E: Detalhe mostrando as cristas auxiliares no dente do dentário. Ver lista de abreviaturas para o nome das estruturas.




Figura 44. Sibon nebulatus. (A-D) Microscopia eletrônica de varredura do osso maxilar direito. A: Vista lateral. B: Detalhe dos dentes mostrando as cristas laterais (setas). C: Detalhe da região basal da superfície posterior dos dentes mostrando a presença das cristas auxiliares. D: Detalhe evidenciando as cristas auxiliares na região posterior do dente. (E-H) Microscopia eletrônica de varredura do osso dentário direito. E: Vista lateral. F: Vista póstero-lateral. G: Vista póstero-medial. H: Detalhe da porção basal posterior de um dente evidenciando as cristas auxiliares. Ver lista de abreviaturas para o nome das estruturas.





**Figura 45.** *Leptodeira annulata* (MZUSP 16953). Microscopia eletrônica de varredura do osso maxilar esquerdo. A: Vista ventral. B: Vista lateral da porção anterior do osso evidenciando a superfície lisa dos dentes e a presença das cristas laterais na porção apical (seta). C: Dente pós-diastemal com um sulco estreito e profundo ocupando cerca de 2/3 de sua superfície anterior. Notar que há uma crista na porção anterior dos dentes distendendo-se desde a região apical até o início do sulco. D: Vista posterior do osso mostrando o dente pós-diastemal com uma crista posterior que se distende desde a região apical até a basal. E: Detalhe em maior aumento da crista presente na porção apical e anterior do dente. Ver lista de abreviaturas para o nome das estruturas.





Figura 46. Leptodeira annulata (MZUSP 16953). (A-C) Microscopia eletrônica de varredura do osso dentário esquerdo. A: Vista lateral mostrando o decréscimo de tamanho dos dentes no sentido caudal. B: Vista lateral dos dentes evidenciando a superfície lisa e a crista lateral (seta) na região apical. C: Vista ventral mostrando a superfície dorsal dos dentes. (D-E) Osso pterigóide. D: Vista ventral. E: Vista ventral dos dentes evidenciando as cristas laterais na região apical. (F-G) Osso palatino. F: Vista medial. G: Vista medial dos dentes mostrando as cristas mediais na superfície apical. Ver lista de abreviaturas para o nome das estruturas.





**Figura 47.** *Imantodes cenchoa* (MZUSP 15940). Microscopia eletrônica de varredura do osso maxilar direito. A: Vista ventral. B: Vista lateral da porção anterior do osso evidenciando a superfície lisa dos dentes e a presença das cristas laterais na porção apical (seta). C: Vista posterior do osso mostrando o dente pós-diastemal com uma crista posterior que se distende desde a região apical até a basal. D: Dentes pós-diastemais com um sulco largo e pouco profundo ocupando cerca de 2/3 de sua superfície anterior. Notar que há uma crista na porção anterior dos dentes (setas) distendendo-se desde a região apical até um pouco abaixo da região mediana dos dentes. Ver lista de abreviaturas para o nome das estruturas.



Figura 47

## Figura 48



Figura 48. Imantodes cenchoa (MZUSP 15940). Microscopia eletrônica de varredura do osso dentário direito. A: Vista dorsal. B: Vista lateral da porção anterior do osso evidenciando a superficie dos dentes e a presença das cristas laterais na porção apical (seta). C: Vista dorsal dos dentes mostrando a superficie lisa, sem as cristas auxiliares, mesmo na região basal posterior dos dentes. D: Vista lateral da porção posterior do osso mostrando o decréscimo no tamanho dos dentes e a presença das cristas na região apical (setas). Ver lista de abreviaturas para o nome das estruturas.

Figura 49. Tomodon dorsatus (MZUSP 14591). Microscopia eletrônica de varredura do osso maxilar esquerdo. A: Vista lateral. B: Detalhe em vista lateral mostrando as cristas laterais se estendendo desde o ápice até a base dos dentes. C: Detalhe do dente posterior sulcado em vista lateral mostrando a crista anterior (seta). D: Vista ventral.
E: Vista posterior mostrando a crista (seta) desde o ápice até a base do dente. Ver lista de abreviaturas para o nome das estruturas.





Figura 50. Tomodon dorsatus (MZUSP 14591). Microscopia eletrônica de varredura do osso dentário esquerdo. A: Vista lateral. B: Detalhe em vista lateral mostrando as cristas laterais (setas) que se distendem desde o ápice até a base dos dentes. C: Vista posterior mostrando as cristas laterais (setas). D: Vista medial mostrando cristas menos evidentes. E: Vista medial da região posterior mostrando o decréscimo no tamanho dos dentes e a presença das cristas laterais (setas). Ver lista de abreviaturas para o nome das estruturas.



Figura 50



Figura 51. Otimização dos estados do caráter "dentes alargados na região posterior do maxilar" sobre a hipótese filogenética de Zaher et al. (manuscrito em preparação). Os quadrados pequenos nas pontas dos ramos indicam as espécies analisadas.

Figura 51

## Apêndice I

# Unusual labial glands in snakes of the genus *Geophis* Wagler, 1830 (Serpentes: Dipsadinae)

Leonardo de Oliveira<sup>1,2</sup>, Ana Lúcia da Costa Prudente<sup>3</sup> and Hussam Zaher<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo, Avenida Nazaré 481, Ipiranga 04263-000, São Paulo, Brazil.

<sup>2</sup> Programa de Pós Graduação em Zoologia, UNESP, Rio Claro, SP, Brazil.

<sup>3</sup> Museu Paraense Emílio Goeldi, Caixa Postal 399, Belém, PA, 66077-530, Brazil.

\* Correspondence to: Hussam Zaher, Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo, Avenida Nazaré 481, Ipiranga 04263-000, São Paulo, Brazil. Email: hussam.zaher@gmail.com. Phone number: (55-11) 2065-8115

Short Title: Oral glands in Geophis

## Abstract

Geophis belongs to the goo-eating dipsadine assemblage of snakes that are known to feed exclusively on earthworms, snails, and slugs. Although the unusual feeding strategies of the goo-eating dipsadines are well known (but poorly documented), little attention has been paid to their internal anatomy. Here, we describe a new and noteworthy morphological and histochemical condition of the infralabial glands in three species of Geophis (G. brachycephalus, G. nasalis and G. semidoliatus), all earthworm feeders. Their infralabial glands are constituted of two distinct parts: an anterolateral portion composed of mucous and seromucous cells that stretches from the tip of the dentary to the corner of the mouth, and a tubular posteromedial portion that is exclusively seromucous. The anterolateral portion receives fibers of the *levator anguli oris* muscle that attaches on its posterodorsal extremity while the posteromedial portion of the gland extends posteriorly to the corner of the mouth where it receives fibers of the adductor externus medialis muscle. Furthermore, the posteromedial portion of the infralabial gland is constituted by large acini filled with secretion that is PAS positive. These acini release their secretion directly into a large lumen located in the middle of the glandular portion. In the three species examined, the supralabial glands show a traditional configuration, being constituted of mucous and seromucous cells and retaining an enlarged portion in its caudal region that resembles a Duvernoy's gland. The presence in *Geophis* of an expanded lumen in part of the infralabial gland that is compressed by an adjacent muscle suggests a more specialized role for the secretion produced by these glands that may not be related to envenomation but rather to prey transport and mucus control.

**Keywords:** Dipsadidae, goo-eaters, adductor muscles, lumen, supralabial glands, infralabial glands.

## Introduction

In snakes, the labial (infralabial and supralabial glands), venom, and Duvernoy's glands are among the best-known oral glands (Taub, 1966). Venom glands are present only in advanced snakes (Caenophidia) with a front-fanged venom delivery system (displayed by some Atractaspididae, all Elapidae and Viperidae), while Duvernoy's glands are present in a number of endoglyptodont colubroidean snakes (*sensu* Zaher et al., 2009) without a front-fanged system (Vidal, 2002; Kardong, 2002). Infralabial and supralabial glands seem to occur

in all snakes that have been studied to date (Smith and Bellairs, 1947; Kochva, 1978; Underwood, 2002).

The usual classification of reptile oral glands is based on the types of secretion granules, and depends on the distinct histochemical composition of these granules (Gabe and Saint-Girons, 1969; Kochva, 1978). Although there is still uncertainty regarding the relationship between cell types recognized by histologists and their secretion, it is clear that mucous cells secrete mucins and that all venom glands contain serous cells of some type (Underwood, 1997).

Venom glands are generally surrounded by muscles that act as compressors during the bite (Haas, 1973), have a lumen (a large encapsulated reservoir where the secretion may be stored), and release venom through a single duct that connects directly with the fang, constituting a high-pressure system (Kardong and Lavin-Murcio, 1993; Jackson, 2003). The venom and Duvernoy's glands are considered homologous and a component of the venom-delivery system in snakes, which are usually constituted of serous cells and associated with toxin production (Taub, 1966; Kochva, 1987; Jackson, 2003; Fry et al., 2008). Infralabial and supralabial glands, on the other hand, lack any association with adjacent muscles and are composed of a row of small glands and their short, individual ducts, which are predominantly constituted of mucous cells with the function of producing mucous secretion mainly for lubrication (Kochva, 1978).

In Neotropical snakes of the subfamily Dipsadinae Bonaparte, 1838 particularly in "goo-eater" snakes, the Duvernoy's glands seem to be reduced or absent while infralabial glands are well developed and constituted predominantly of seromucous cells (Taub, 1967a; Fernandes, 1995; Oliveira et al., 2008). This fact is probably related to their highly specialized feeding behavior (Gans, 1972), which is mainly shown in dipsadine snakes that feed on snails (Savitzky, 1983; Sazima, 1989). Additionally, Zaher (1999) pointed out that snakes of the genus *Geophis* Wagler, 1830 show a posterior expansion of the infralabial glands that tends to be surrounded by fibers of the *adductor mandibulae externus medialis pars posterior* muscle that probably act as a "*compressor glandulae*." Similarly, the goo-eating genera *Atractus*, *Sibynomorphus*, *Sibon*, *Dipsas*, *Ninia*, and *Adelphicos* show distinct instances of muscle attachments into their often hypertrophied infralabial glands. Preliminary observations revealed a series of noteworthy specializations related to oral glands and head muscles of goo-eating snakes that stimulated a research program focused on the topic (Zaher, 1996; Zaher, 1999; Antoniazzi et al., 2005; Oliveira et al., 2008).

Goo-eaters constitute a putative and specious group of Dipsadinae snakes, whose species feed mostly on soft and viscous invertebrates (generally mollusks such as slugs and snails, and annelids) (Cadle and Greene, 1993). Initially, the goo-eater snakes were represented by seven genera of dipsadine snakes (Atractus Wagler, 1828; Adelphicos Jan, 1862; Geophis Wagler, 1830; Ninia Girard, Baird and Girard, 1853; Sibon Fitzinger, 1826; Sibynomorphus Fitzinger, 1843; and Dipsas Laurenti, 1768) (sensu Cadle and Greene, 1993). Later, other genera were added, such as Chapinophis Campbell & Smith, 1998; Chersodromus Reinhardt, 1860; Tropidodipsas Günther, 1858; Omoadiphas Köhler, McCranie & Wilson, 2001; and Plesiodipsas Harvey, 2008 (Wallach, 1995, Campbell and Smith, 1998; McCranie and Castañeda, 2004). Although monophyly of the group and relationships between genera of the dipsadine subfamily remain poorly elucidated, the genus Geophis seems to be more closely related to the goo-eating dipsadine genus Atractus (Grazziotin et al., 2012), and thus represented a natural candidate for expanding our comparisons previously started with the similarly fossorial Atractus (Oliveira et al., 2008). The genera Adelphicos, Chersodromus, and Ninia traditionally associated to the clade Geophis/Atractus, seem to be only distantly related to the latter (Pyron et al., 2011; Grazziotin et al., 2012; Zaher et al., in prep.).

*Geophis* is a genus consisting of over forty species distributed from northern Mexico to northwestern Colombia and northern Ecuador in South America, for which only a few species are well represented in museum collections (Downs, 1967; Wilson and Townsend, 2007). These are small, leaf-litter, semifossorial or fossorial snakes that feed mainly on earthworms, and eventually on leeches and slugs (Downs, 1967; Campbell and Murphy, 1977; Seib, 1985; Campbell et al., 1983; Savage and Watling, 2008). However, apart from several reports on stomach contents available in the literature (e.g., Seib, 1985), almost nothing is known of the feeding behavior of *Geophis*, except for their predilection to annelids.

This study is part of a series of publications that aim to investigate the morphological and functional aspects of the oral glands and associated structures in the goo-eating dipsadine clade of Neotropical snakes (Oliveira et al., 2008; Zaher et al., in prep.). Here, we describe the anatomical, histological and histochemical features of the labial glands and related musculature in three species of the genus *Geophis – G. brachycephalus* (Cope, 1871), *G. nasalis* (Cope, 1868), and *G. semidoliatus* (Duméril, Bibron and Duméril, 1854) – and compare them with the goo-eating genera *Atractus reticulatus* (Boulenger, 1885), *Dipsas indica* Laurenti, 1768 and *Sibynomorphus mikanii* (Schlegel, 1837) described in our first contribution of the series (Oliveira et al., 2008). Both morphological and histochemical

features of the infralabial glands of *Geophis* described herein suggest a specialized role that may be related more specifically to mucus control and prey transport rather than immobilization of their viscous preys.

### Materials and methods

#### Muscular and glandular morphology

We dissected the head muscles and glands of two individuals of *G. brachycephalus*, two of *G. nasalis*, and one of *G. semidoliatus* that were kindly made available for study. Our study was restricted to only three species due to the scarcity of representatives of most species of *Geophis* in scientific collections. Only a few specimens were thus made available for dissection and histological preparation. However, we believe our sample illustrated accurately the morphological condition of the labial glands and associated muscles in *Geophis*. All dissections were performed under a stereomicroscope Olympus SZX 12 equipped with a *camera lucida*. Specimens used in this study belong to the following collections: Museum of Natural History, University of Kansas, Lawrence (KU); National Museum of Natural History, Washington (USNM); Museum of Vertebrate Zoology, University of California, Berkeley (MVZ).

McDowell (1972) and Groombridge (1979) provided important studies on the morphology of the palate, which also offered some information on the soft tissue anatomy of the floor of the mouth, and here we follow their terminology. Glandular terminology follows Taub (1966), Kochva (1978), and Underwood (2002). The terminology for the *adductores externi* muscles is still in dispute among authors (see Rieppel, 1980; McDowell, 1986; Zaher, 1994a, b). Here, we follow the terminology of Zaher (1994b, 1996).

## Histology and histochemistry

All histological sections were performed on specimens belonging to scientific collections. Heads were skinned from the nostril to the neck and removed from the specimens at the level of the first cervical vertebra. Specimens and their head skin were thus returned to their jar in the collection. Although dissections were carefully performed, we consider that some of the more detailed anatomical aspects of the epithelium of the mouth may have been irreparably damaged. This seems to be the case for the openings of the main ducts belonging to the infralabial glands since these were not found in the available histological sections (see results below).

After removal of the skin and disarticulation of the neck, the entire heads were submitted to decalcification in 4.13% aqueous EDTA, pH 7.2, renewed every other three days, constantly stirred for 60 days. The decalcified heads were then divided sagittally into two halves, dehydrated in ethanol, embedded in paraffin, and submitted to serial sagittal or transversel sectioning. The sections (7  $\mu$ m) were performed in a Microm HM 340 E microtome with disposable steel blades. The sections were submitted to hematoxylin-eosin (HE) staining, for the general study of the tissues, and to Mallory trichrome staining (Junqueira et al., 1979), for identification of the collagen and muscular fibers and epithelia.

Sections were still subjected to the following histochemical staining procedures (according to Bancroft and Stevens, 1996): periodic acid-Schiff (PAS), alcian blue pH 2.5, combined PAS and alcian blue pH 2.5 (Pearse, 1985; Kiernan, 2001), and bromophenol blue. PAS and alcian blue were applied for identification of neutral and acid mucosubstances, respectively, and bromophenol blue for identification of proteins.

Photographs were taken on a DFC425 digital camera in a Leica M205a stereoscopic microscope and a Leica M2500 microscope using Leica Application Suite software (Version 3.8).

## Results

# Supralabial glands

## General morphology

In all three species examined (*G. brachycephalus*, *G. nasalis*, *G. semidoliatus*), the supralabial glands were located in the lateral portion of the head, running laterally to the maxillae from the posterior portion of the rostral gland to the anterior edge of the muscle *levator anguli oris* (LAO) (Fig. 1A, B, C). These glands were whitish, like the anterolateral portion of the infralabial glands, and their acini were barely visible during dissection. No muscle fibers were associated with the supralabial glands. In *G. brachycephalus* and *G. nasalis*, the anterior region of the supralabial glands was thin and elongated, while the posterior portion showed an enlargement, just below the orbit (Fig. 2A, B, C).

## Histology and histochemistry

In *G. brachycephalus* (Fig. 3H, I), the supralabial gland was constituted predominantly of seromucous cells, although some mucous cells were observed intermingled among the seromucous cells, being very similar to the anterolateral portion of the infralabial gland.

In *G. nasalis*, the secretory epithelium of the supralabial gland was composed predominantly of acini with a narrow lumen and composed by cells that reacted positively to both alcian blue (pH 2.5) and PAS, characterizing their mucous condition (Fig. 4I, J). Only a small part of the acini from the supralabial gland was constituted of seromucous cells that reacted negatively to alcian blue (pH 2.5), but were strongly positive to PAS. These seromucous acini were mostly concentrated in the dorsal region of the gland (Fig. 4I, K). The supralabial glands showed many short ducts that opened into the epithelium along the mouth.

In *G. semidoliatus*, the supralabial gland was constituted by both mucous and seromucous cells arranged in acini (Fig. 5D). The seromucous cells were polygonal, with basal and rounded nuclei and stained more intensively with hematoxylin-eosin than mucous cells (Fig. 5D). The granules in the cytoplasm of the seromucous cells were rounded and reacted positively to PAS (Fig. 5E). Mucous cells were also rounded and their cytoplasm stained weakly with hematoxylin-eosin (Fig. 5D). The granules in the cytoplasm of the seromucous cells in the cytoplasm of the seromucous cells were reacted strongly to alcian blue (pH 2.5) and were smaller than those of seromucous cells (Fig. 5E).

## Infralabial glands

## General morphology

In all three species examined, the infralabial glands were constituted by an anterolateral and a posteromedial portion. Both portions were tightly associated but distinguished, during dissection, by their color and acini size (Fig. 1A, B, C; 2A, B, C; 6). The anterolateral portion of the infralabial gland (il1) extended along the internal lip margin, just under the infralabial scales, from the tip of the dentary bone to the level of the corner of the mouth (Fig. 1A, B, C). A series of small ducts extending from this portion of the gland opened into the mouth along the lip located medially to the infralabial scales. Additionally to the series of small ducts, the ill also presented a single large, anteroposteriorly directed duct that opened in the anteriormost region of the mouth, at the level of the tip of the dentary. In preserved specimens, the ill was whitish and showed small acini that were difficult to observe during dissection (Fig. 2B, C). The posteromedial portion of the infralabial gland (il2) extended ventrally to the anterolateral portion as a striped and elongated structure along the anterior region of the mouth. Just before the level of the corner of the mouth, the il2 enlarged while extending caudally until approaching or reaching the anterior portion of the muscle adductor mandibulae externus superficialis (AES) (Fig. 1A, B, C). This portion of the gland showed a darker color, with larger, more globular lobules than those of the ill, being more

visible during dissections (Fig. 2B, C). The il2 of the gland lacked the small ducts connected to the mouth, typical of an infralabial gland, its secretion being discharged through a single, large duct that was medially positioned and anteroposteriorly oriented.

### *Histology and histochemistry*

In all species studied, both portions of the infralabial gland were wrapped in a thin layer of connective tissue where muscle fibers from the LAO and *adductor mandibulae externus medialis pars posterior* (AEM; *sensu* Zaher 1994b) were inserted (Fig. 3A, B; 4A, B; 5A). The ill exhibited narrower acini than the il2 (Fig. 3A; 4A). The basic differences among infralabial glands of the three species were mainly related to the number and disposition of mucous and seromucous cells.

In G. brachycephalus, most acini from the ill were constituted of seromucous cells, positive to PAS and negative to alcian blue (pH 2.5) (Fig. 3C). The mucous acini (alcian blue positive) were mostly concentrated in the central region of the gland and were observed delivering secretion into a single duct that extends longitudinally along the entire ill (Fig. 3C, D). Both seromucous and mucous cells were polygonal, with basal and rounded nuclei. In seromucous cells, the secretory granules were larger than those from mucous cells and stained only with PAS, while in mucous cells the small secretory granules were intensely stained with alcian blue (pH 2.5) and PAS (Fig. 3E). The duct was covered with cells similar to the seromucous cells from acini, although with a more columnar shape, and only the apical region of these cells stained positively for alcian blue (pH 2.5) (Fig. 3D). The il2 consisted of acini with an enlarged lumen that contained large amounts of secretions (Fig. 3C, G). Cells lining the acini in the il2 showed basal and rounded nuclei, with a smaller cytoplasm than the one present in seromucous cells of the ill (Fig. 3F, G). The acini from the former region converged toward the middle of the gland, opening directly into an enlarged lumen (Fig. 3C, F). The lumen was covered with seromucous cells, with basal and rounded nuclei and a cytoplasm that was found to be lower than the one observed in the cells lining the acini (Fig. 3F). The secretion found in the central lumen of the gland and in the acini of the il2 was PASpositive, and contained large numbers of vesicle-like structures (Fig. 3G). These structures showed a broad range in size, from very small (smaller than the nucleus of the cells) to large structures (equivalent in size to a few seromucous cells). The largest structures were mostly concentrated close to the epithelium of the acini. There was also a gradient with respect to positivity to PAS, with smaller vesicles being positive to the method, while the larger ones were frequently negative (Fig. 3F).

In G. nasalis, the ill was constituted by acini made up of mucous cells that stained to hematoxylin-eosin and positive to alcian blue (pH 2.5), and seromucous cells strongly positive to hematoxylin-eosin and bromofenol blue (Fig. 4C, D, E). The seromucous cells were restricted to the peripheral region of the gland (Fig. 4D). As in G. brachycephalus, the ill also presented a large duct that extended along its medial surface, reaching the anterior portion of the mouth at the level of the anterior tip of the dentary. According to the available histological sections, the duct opened anterolaterally to the tip of the dentary (Fig. 4F), although we failed to find the opening through a thorough inspection of the region under the microscope. The duct was constituted of mucous cells, with columnar cytoplasm and flattened and basal nuclei (Fig. 4F). In addition to this main duct, we also observed a series of short ducts that were mainly arranged perpendicularly to the gland and opened between the infralabial scales and the oral epithelium. More posteriorly, at the level of insertion of the LAO into the gland, the ducts surrounded the muscle bundle to reach the oral epithelium (Fig. 4G). The internal spaces of the acini that formed the il2 were significantly wider than the spaces present in the acini of the ill. The secretion produced by the cells that formed the il2 was discharged directly into the lumen formed in the central region of the gland (Fig. 4A, B). Cells from this glandular portion showed basal and rounded nuclei and rounded granules in their cytoplasm. These granules were seromucous in nature, reacting strongly to hematoxylineosin and to bromofenol blue, but negatively to alcian blue (pH 2.5) (Fig. 4C, D, E). Both ill and il2 portions were positive to PAS, although the il1 showed a stronger positive reaction than the il2.

The infralabial gland of *G. semidoliatus* was very similar to the gland of *G. brachycephalus*. Seromucous cells with basal and rounded nuclei and granules that reacted positively to PAS constituted the ill. In this glandular portion, acini were formed exclusively by mucous cells (alcian blue positive) or by both mucous and seromucous cells. The il2 was constituted of acini with enlarged spaces that were totally filled with secretion (Fig. 5A, B, C). Within this glandular portion, we observed the presence of an extended lumen occupying the entire central region, and directly receiving the discharges from the acini (Fig. 5A). The granules in the cytoplasm of the cells were rounded and reacted positively to PAS (Fig. 5C). Several rounded vesicle-like structures were observed in the middle of the secretion in the large internal spaces of the acini and in the large lumen of the gland (Fig. 5A, B, C). The largest vesicular structures were mostly concentrated close to the epithelium of the acini (Fig. 5B) and reacted variably to PAS (Fig. 5C).

Muscles associated with the infralabial glands

The muscle LAO was a thin, triangular sheet of muscle that originated behind the eyes, on the dorsolateral ridge of the parietal and postorbital bone. The LAO was well developed and clearly distinct from the AES, from its origin to its insertion site. Fibers of this muscle were always directed dorsoventrally, running laterally to the harderian gland and converging ventrally to form a fusiform bundle at the level of the corner of the mouth that attached to the dorsal and posterior surfaces of the posterior third of the ill (Fig. 1A, B, C; 2B). More anterolateral fibers of the LAO also attached to the rictal fold in the three species studied. The site of origin of the LAO varied in the three species studied, being more restricted (less developed dorsally) in G. nasalis. In G. brachycephalus, the posterior half of the LAO originated below the fibers of the AES while the anterior half was visible in lateral view. The LAO of G. brachycephalus appeared to form two slightly distinct bundles on its more ventrolateral region, with the posterior half attaching on the posterodorsal wall of the ill while fibers of the anterior portion attached to the rictal fold. In G. nasalis, the majority of fibers of the LAO originated anteriorly to the AES, with the exception of the most posterior ones that were disposed laterally to the anteriormost part of the AES. All fibers converged ventrally and were attached to the rictal fold and posterodorsal surface of the ill. In G. semidoliatus, the LAO extended as a lateral bundle that overlapped the AES posteriorly, covering the latter almost completely. The fibers converged ventrally to form a narrow bundle at the level of the rictal fold, attaching to the latter and to the posterodoral surface of the il1.

The infralabial gland was also involved by the fibers of the AEM. The AEM originated along the anterolateral edge of the quadrate, from the anterodorsal corner of the bone to the lateral epicondyle, inserting on the whole lateral surface of the compound bone, from the level of the articular to the posterior foramen of the surangular. The more lateral fibers of the AEM that were just adjacent to the extended posterior portion of il2 were tightly attached through their fascia to the wall of the gland, in a bipennate arrangement that suggested a function as compressors of the gland (Fig. 2B, C).

## Discussion

Although Taub (1967a,b) pointed out that snake infralabial glands are generally mucous, he also acknowledged the serous nature of these glands in dipsadines, suggesting that they might be viewed as analogous to the Duvernoy's glands of other "Colubridae." Several other authors also recorded seromucous cells in infralabial glands of a diverse number of colubroidean snakes (Gabe and Saint-Girons, 1969; Kochva, 1978; Baccari et al., 2002). In

dipsadine snakes, they have been most evident, particularly in the infralabial glands of gooeating snakes, as exemplified by *Atractus reticulatus*, *Dipsas indica*, and *Sibynomorphus mikanii* (Laporta-Ferreira & Salomão, 1991; Oliveira et al., 2008).

Our results indicate that the infralabial glands of at least three species of Geophis show a new and noteworthy specialization that was previously unreported among snakes. In addition to being predominantly composed of seromucous cells, these glands are divided in two independent, anterolateral (il1) and posteromedial (il2) portions that are both anatomically and histochemically distinct from each other (Fig. 6). While the ill is constituted of both mucous and seromucous cells, the il2 is constituted exclusively of seromucous cells. Each portion receives fibers of the LAO and AEM, respectively, acting independently as compressors of each portion of the gland. Each portion also shows a single large duct that runs longitudinally along the central region of the glandular portion. Both ducts seem to open independently around the anterior region of the mouth, anterolaterally to the tip of the dentary (Fig. 3C). The large single duct of the ill is not responsible for discharging all the secretion produced by the acini of that portion, since a fraction of that secretion is discharged through a series of smaller, typical infralabial ducts disposed along the lip of the mouth. On the other hand, secretion from the acini composing the il2 seems to be stored inside a large lumen formed along the posterior region of its single large duct, and is discharged only through that duct since no other openings were found in the gland. In that sense, the two portions of the infralabial gland seem to represent morpho-functionally independent units that are compressed by distinct muscular bundles (LAO and AEM, respectively) and discharge their secretions separately.

Oliveira et al. (2008) described the presence of several morphological and histological features in the infralabial glands and adjacent muscles of *D. indica*, *S. mikanii*, and *A. reticulatus* that are strickingly similar to the condition described in *Geophis* (Table 1). *Dipsas indica*, *S. mikanii*, and *A. reticulatus* and the three species of *Geophis* share the presence of seromucous infralabial glands and a well developed and distinct muscle LAO, and lack Duvernoy's glands. Further, in *Geophis* and *A. reticulatus*, the LAO attaches in the posteromedial region of the ill. Similarly to *Geophis*, we also observed in *Dipsas* and *Sibynomorphus* the presence of an infralabial gland divided in two distinct portions (ill and il2), with an enlarged il2 showing a large central duct and a ill corresponding to a thin stretch of glandular tissue (Zaher et al., in prep.). *Atractus reticulatus* differs from the three other goo-eating genera by retaining a single infralabial gland of *Atractus* and the presence

of a series of small ducts opening in along the lip and below the infralabial scales supports the hypothesis that it is homologous to the ill of *Geophis*, *Dipsas*, and *Sibynomorphus*. *Geophis*, *Dipsas*, and *Sibynomorphus* also show a large median duct of the il2 that opens in the epithelium of the floor of the mouth, without any close functional connection with the series of dentary teeth.

As in *Dipsas*, *Sibynomorphus*, and *Atractus*, the ill in the three species of *Geophis* analyzed has a more conventional cellular condition, being of a mixed glandular type (Gabe and Saint Girons, 1969; Baccari et al., 2002; Oliveira et al., 2008). Indeed, mucous cells primarily constitute the ill of *G. nasalis*, while seromucous cells are restricted to the peripheral areas. Conversely, the ill of *G. brachycephalus* and *G. semidoliatus* are constituted predominantly of seromucous cells, while mucous cells are restricted to the central area of the gland, just around the main duct.

In addition to the differences in the distribution of cellular types between the two portions of the infralabial gland of *Geophis*, there are also differences in the composition of their glandular acini. In all three species of *Geophis* the il2 shows larger acini than the il1. The secretion present in the acini of the il2 shows distinct vesicle-like structures of unknown function. These vesicles are absent from the secretion of the acini of the anteromedial portion, suggesting that they are specific of the il2. The lack of vesicles in *G. nasalis* is probably related to the fact that, in this species, the acini of the il2 were practically empty at the moment of their fixation.

Similar microvesicles have already been reported inside the secretory cells of venom glands and freshly extracted venom from *Crotalus durissus terrificus* (Carneiro et al., 2007). We confirmed the presence of vesicles in *Geophis* only inside the acini and lumen of the gland, never inside the cells. Vesicles in *Geophis* show a wide range in size and are not surrounded by membranes, while microvesicles in *C. d. durissus* are uniform in size and surrounded by membranes (Carneiro et al., 2007). The presence of vesicles in the lumen of the gland indicates that they are carried along with the secretion from the gland. However, like microvesicles, their function is still unknown. The large acini and vesicles, typical of the il2 of *Geophis*, are lacking in *D. indica*, *S. mikanii*, and *A. reticulatus*, suggesting that these structures are uniquely derived in *Geophis*, among goo-eating snakes (Table 1).

Lumina are cavities used for the storage of large amounts of secretion produced by cells that can be released as one single, massive discharge. In snakes, lumina inside oral glands are known only in venom glands of viperids, elapids and in the genus *Atractaspis*, and in Duvernoy's glands of *Dispholidus* and *Elapomorphus* (Kochva, 1978; Salomão and

Ferrarezzi, 1993). Venom glands of elapids show small lumina and the venom is stored mainly in the secretion granules inside the cells (Kochva, 1987). The large amount of secretion observed within the lumen of the infralabial glands, mainly in *G. brachycephalus* and *G. nasalis*, suggests that the lumen acts as a storage compartment for secretion in these snakes, a condition never reported before for any infralabial gland in snakes. Additionally, the secretory epithelium was relatively high and the presence of granules of secretion inside the cells indicate that part of the secretion may be stored inside the cells either, a condition that is analogous to the one present in venom glands of elapids. A lumen is also lacking in the il2 of *Dipsas* and *Sibynomorphus* (Table 1).

In snakes, oral glands are known to be associated with adjacent muscles that act as compressors of the gland. Among them are mainly the venom glands of vipers, elapids, and atractaspidids, and the Duvernoy's glands in a few colubroidean genera (e.g., *Dispholidus, Mehelya* and *Brachyophis*) (Kochva and Wollberg, 1970; Underwood and Kochva, 1993). On the other hand, labial glands in snakes are only rarely associated with adjacent muscles (Haas, 1973; Zaher, 1999). Snakes of the genus *Geophis* share with *Enulius* and *Enuliophis* a posterior expansion of the infralabial gland that tends to be embraced by the more lateral fibers of the AEM (Zaher, 1999: 34). We confirm Zaher's (1999) observation in the three species of *Geophis* examined, this condition being unique among snakes so far. The general morphology of the infralabial glands and their relationship with adjacent muscles are quite uniform among the three species of *Geophis*. However, the general pattern of these glands was distinct from the pattern found in the infralabial glands of *Dipsas, Sibynomorphus*, and, especially, *Atractus*, a genus closely related to *Geophis* and whose species also feed on earthworms (Table 1; Antoniazzi et al., 2005; Oliveira et al., 2008; Grazziotin et al., 2012).

Supralabial glands, on the other hand, are poorly developed in *Geophis*, which also seems to lack Duvernoy's or venom glands. Although considered homologous, the venom and Duvernoy's glands present a series of morphological and functional differences between them (Kardong, 2002). The synonymyzation of the terms Duvernoy's glands with venom glands was proposed by Fry et al (2003), but the use of the term remains in dispute among authors (Weinstein et al., 2010, 2012; Fry et al., 2012). Taub (1967b) pointed out that *Geophis multitorques* has Duvernoy's glands with some mucous cells intermingled with the serous cells. Although *G. brachycephalus* and *G. nasalis* retain a posterior enlargement of the supralabial gland, our observations indicate that it cannot be considered a Duvernoy's gland since it is constituted by the same cell types present in the anterior portion of the gland, being impossible to distinguish both portions from each other. Moreover, we could not verify the

existence of a single duct in the posterior portion nor an association between any duct with posterior maxillary teeth, which could indicate the presence of Duvernoy's gland. Our results agree with those previously described by others authors, which indicate that goo-eating dipsadine snakes lack Duvernoy's glands (Fernandes, 1995; Harvey et al., 2008; Oliveira et al., 2008).

This work emphasizes the wide morphological variation existing in labial glands of snakes. The presence of an expanded lumen within infralabial glands associated with the adjacent muscles, features never related before in an infralabial gland, suggest additional roles for the secretion of these glands, in addition to the already well-known lubrication role. The absence of Duvernoy's glands associated with extensive morphological variation in the infralabial glands may indicate an alternative way encountered by these snakes to handle the processes of capture and ingestion of the soft and viscous invertebrates (e.g., earthworms, snails, slugs, leeches) in which these snakes are known to prey (Downs, 1967; Seib, 1985; Cadle and Greene, 1993).

Although the presence of a lumen and an associated compressor muscle in the il2 may suggest a venomous condition of the infralabial gland in *Geophis*, this hypothesis is unlikely since the main glandular duct of the il2 is not functionally related to a specialized tooth but rather opens loosely on the epithelium of the floor of the mouth. Such unusual glandular complex is more likely to function as a highly specialized, protein-secreting system directed to the control of mucous secretion and assistance in the ingestion of their elongate, flexible and highly viscous preys. Similarly, the distinct il2 of *Dipsas* and *Sibynomorphus* also discharges its proteic secretion through a duct that opens on the epithelium of the mouth and may share the same adaptive purpose as the one hypothesized for *Geophis*.

## **Author contributions**

HZ conceived the research. LO, AP, and HZ designed the research. LO, AP, and HZ analyzed the data and wrote the paper. LO and AP prepared the figures.

## Acknowledgments

We would like to thank Elazar Kochva for his comments and help in interpretating the histological sections. We are deeply indebted to W. Ronald Heyer (USNM), Linda Trueb, Bill Duellman (KU), Jim McGuire and Carol L. Spencer (MVZ) for allowing the dissection and loan of specimens under their care, to Marta M. Antoniazzi and Carlos Jared for providing support and allowing the use of their histological facilities at the Laboratório de Biologia

Celular of the Instituto Butantan, and Juan Camilo Arredondo for his help with the schematic drawing. LO is supported by a scholarship from Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP; grant number 2008/57102-1). Funding for this project was provided by Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (BIOTA/FAPESP; grant number 11/50206-9) to HZ and Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq; grants number 308950/2011-9; 562171/2010-0; 565046/2010-1; 303545/2010-0) to AP and HZ. The authors declare that no competing interests exist.

## References

- Antoniazzi MM, Oliveira L, Zaher H, Jared C. 2005. Morphological characterization of the infralabial glands of "goo-eater" snakes (Colubridae: Dipsadinae). In: Abstracts of Fifth World Congress of Herpetology, Stellenbosch, South Africa, p. 119.
- Baccari GC, Ferrara D, Di Matteo L, Minucci S. 2002. Morphology of the salivary glands of three Squamata species: *Podarcis sicula sicula, Tarentola mauritanica* and *Coluber viridiflavus*. Acta Zool (Stockholm) 83:117-124.
- Bancroft JD, Stevens A. 1996. Theory and practice of histological techniques. 4ed. Churchill Livingstone. New York. 766p.
- Cadle JE, Greene HW. 1993. Phylogenetic patterns, biogeography, and the ecological structure of Neotropical snake assemblages. In: Ricklefs, R.E., Schluter, D. (Eds.), Species Diversity in Ecological Communities: Historical and Geographical Perspective. University of Chicago Press, Chicago, pp. 281–293.
- Campbell JA, Ford LS, Karges JP. 1983. Resurrection of *Geophis anocularis* Dunn with comments on its relationship and natural history. Trans Kansas Ac Sci 86:38-47.
- Campbell JA, Murphy JB. 1997. A new species of *Geophis* (Reptilia, Serpentes, Colubridae) from the Sierra de Coalcomán, Michoacán, Mexico. J Herpetol 11(4):397-403.
- Campbell JA, Smith EN. 1998. A new genus and species of colubrid snake from the Sierra de Las Minas of Guatemala. Herpetologica 54 (2):207-220.
- Carneiro SV, Fernandes W, Sant'Anna SS, Yamanouye N. 2007. Microvesicles in the venom of *Crotalus durissus terrificus* (Serpentes, Viperidae). Toxicon 49:106-110.
- Downs FL. 1967. Intrageneric relationships among colubrid snakes of the genus *Geophis* Wagler. Miscellaneous Publications Museum of Zoology, University of Michigan, 131:1-193.
- Fernandes R. 1995. Phylogeny of the Dipsadine Snakes. Ph. D. Dissertation. University of Texas at Arlington, Arlington, Texas, USA. 115p.

- Fry BG, Wüster W, Ramjan SFR, Jackson T, Martelli P, Kini M. 2003. Analysis of Colubroidea snake venoms by liquid chromatography with mass spectrometry: evolutionary and toxinological implications. Rapid Commun Mass Spectrom 17:2047-2062.
- Fry BG, Scheib H, van der Weerd L, Young B, McNaughtan, Ramjan SFR, Vidal N, Poelmann RB, Norman JA. 2008. Evolution of an arsenal: structural and functional diversification of the venom system in the advanced snakes (Caenophidia). Moll Cell Prot 7. 2:215-246.
- Fry BG, Casewell NR, Wüster W, Vidal N, Young B, Jackson TNW. 2012. The structure and functional diversification of the Toxicofera reptile venom system. Toxicon 60:434-448.
- Gabe M, Saint-Girons H. 1969. Donnéss histologiques sur les glandes salivaires des Lépidosauriens. Mem Mus Nat Hist Nat. 58:1-112.
- Gans, C. 1972. Feeding in *Dipsas indica* and Dunn's paradox. Am Zool 12(4):730.
- Grazziotin FG, Zaher H, Murphy RW, Scrocchi G, Benavides MA, Ya-Ping Z, Bonatto SL. 2012. Molecular phylogeny of the New World Dipsadidae (Serpentes: Colubroidea): a reappraisal. Cladistics 2012 (1):1-23.
- Groombridge BG. 1979. Variations in morphology of the superficial palate of henophidian snakes and some possible systematic implications. J Nat Hist 13:447-475.
- Harvey MB, Fuenmayor GR, Portilla JRC, Rueda-Almonacid JV. 2008. Systematics of the enigmatic dipsadine snake *Tropidodipsas perijanensis* Alemán (Serpentes: Colubridae) and review of morphological characters of Dipsadini. Herpetological Monographs 22:106-132.
- Haas G. 1973. Muscles of the jaws and associated structures in the Rhynchocephalia and Squamata. In Biology of the Reptilia 4: 285-490. Gans C, Parsons TS. (Eds.). London and New York: Academic Press.
- Jackson K. 2003. The evolution of venom-delivery systems in snakes. Zool J Linn Soc 137:337-354.
- Junqueira LCU, Bignolas G, Brentani R. 1979. Picrosirius staining plus polarization microscopy, a specific method for collagen detection in tissue sections. Histochem J 11:447-455.
- Kardong KV, Lavin-Murcio PA. 1993. Venom delivery of snakes as high-pressure and lowpressure systems. Copeia 1993:644-650.
- Kardong KV. 2002. Colubrid snakes and Duvernoy's "venom" glands. J Toxicol Toxin Rev 21(1&2):1-19.

- Kiernan JA. 2001. Histological and histochemical methods- Theory and Practice. 3ed. Oxford University Press. London. 213-220.
- Kochva E, Wollberg M. 1970. The salivary glands of Aparallactinae (Colubridae) and the venom glands of *Elaps* (Elapidae) in relation to the taxonomic status of this genus. Zool J Linn Soc 49:217-224.
- Kochva E. 1978. Oral glands of the reptilia. In: Gans C. Biology of the Reptilia. v. 8. London, New York. Academic Press. 782 p.
- Kochva E. 1987. The origin of snakes and evolution of the venom apparatus. Toxicon 25:65-106.
- Laporta-Ferreira IL, Salomão MG. 1991. Morphology, physiology and toxicology of the oral glands of a tropical cochleophagous snake, *Sibynomorphus neuwiedi* (Colubridae-Dipsadinae). Zool Anz 227:198-208.
- McCranie JR, Castañeda FE. 2004. A new species of snake of the genus *Omoadiphas* (Reptilia: Squamata: Colubridae) from the Cordillera Nombre de Dios in northern Honduras. Proc Biol Soc Washington 117:311-316.
- McCranie JR. 2006. A description of the first male of the colubrid snake genus *Omoadiphas*, with an expanded definition of the genus. Caribb J Sci 42(2):271-272.
- McDowell SB. 1972. The evolution of the tongue of snakes, and its bearing on snake origins. *In*: T. H. Dobzhansky, M. K. Hecht & W. C. Steere (eds.), Evolutionary Biology, vol. 6. New York: Appleton-Century-Crofts, 191-273.
- McDowell SB. 1986. The architecture of the corner of the mouth of colubroid snakes. J Herpetol 20:353-407.
- Oliveira L, Jared C, Prudente ALC, Zaher H, Antoniazzi MM. 2008. Oral glands in dipsadine "goo-eater" snakes: morphology and histochemistry of the infralabial glands in *Atractus reticulatus*, *Dipsas indica*, and *Sibynomorphus mikanii*. Toxicon 51(2008):898-913.
- Pearse AG, 1985. Histochemistry: Theoretical and applied. Vol. 2. 4ed. Churchill Livingstone, Edinburg. 684-687.
- Pyron RA, Burbrink FT, Colli GR, de Oca ANM, Vitt LJ, Kuczynski CA, Wiens JJ. 2011. The phylogeny of advanced snakes (Colubroidea), with discovery of a new subfamily and comparison of support methods for likelihood trees. Mol Phylogenet Evol 58:329-342.
- Rieppel O. 1980. The trigeminal jaw adductors of primitive snakes and their homologies with lacertilian jaw adductors. J Zool (London) 190:447-471.

- Salomão MG., Ferrarezzi H. 1993. A morphological, histochemical and ultrastructural analysis of the Duvernoy's glands of elapomorphine snakes: the evolution of their venom apparatus and phylogenetic implications. *In* III Congresso Latino Americano de Herpetologia: 43. Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas, Campinas.
- Savage JM., Watling JI. 2008. Not so rare snakes: a revision of the *Geophis sieboldi* group (Colubridae: Dipsadinae) in lower Central America and Colombia. Zool J Linn Soc 153:561-599.
- Savitzky AH. 1983. Coadapted character complexes among snakes: fossoriality, piscivory, and durophagy. Amer Zool 23:397-409.
- Sazima I. 1989. Feeding behavior of the snail-eating snake, *Dipsas indica*. J Herpetol 23:464-468.
- Seib RL. 1985. Feeding ecology and organization of Neotropical snake faunas. (Ph.D. Diss.), Univ. California, Berkley; x+229pp.
- Smith M, Bellairs A d'A. 1947. The head glands of snakes, with remarks on the evolution of the parotid gland and teeth of the opisthoglypha. J Linn Soc Lond (Zool.) 41:351-368.
- Taub AM. 1966. Ophidian cephalic glands. J Morphol 118:529-542.
- Taub AM. 1967a. Systematic implications from the labial glands of the Colubridae. Herpetologica 23:145-148.
- Taub AM. 1967b. Comparative studies on Duvernoy's gland of colubrid snakes. Bull Am Mus Nat Hist 138:1-50.
- Underwood G, Kochva E. 1993. On the affinities of the burrowing asps *Atractaspis* (Serpentes: Atractaspididae). Zool J Linn Soc 107:3:64.
- Underwood G. 1997. An overview of venomous snake evolution. Symp Zool Soc Lond 70: 1-13. *In*: Thorpe RS, Wüster W, Malhotra E. (Eds.), Venomous snake. Ecology, evolution and snakebite. The Zoological Society of London. Clarendon Press, Oxford.
- Underwood G. 2002. On the rictal structures of some snakes. Herpetologica 58:1-17.
- Vidal N. 2002. Colubroid systematics: evidence for an early appearance of the venom apparatus followed by extensive evolutionary tinkering. J Toxicol Toxin Rev 21(1&2):21-41.
- Wallach V. 1995. Revalidation of the genus *Tropidodipsas* Günther, with notes on the Dipsadini and Nothopsini (Serpentes: Colubridae). J Herpetol 29(3):476-481.

- Weinstein SA, Smith TL, Kardong K. 2010. Reptile venom glands: form, function and future. *In* Mackessy SP (Ed.), CRC Handbook of venoms and toxins of reptiles. CRC, Taylor Francis, Boca Raton, pp. 65-91. 521.
- Weinstein SA, Keyler DE, White J. 2012. Replies to Fry et al. (Toxicon 2012, 60/4, 434-448).
   Part A. Analyses of squamate reptile oral glands and their products: A call for caution in formal assignment of terminology designating biological function. Toxicon 60:954-963.
- Wilson LD, Townsend JH. 2007. A checklist and key to the snakes of the genus *Geophis* (Squamata: Colubridae: Dipsadinae), with commentary on distribution and conservation. Zootaxa 1395:1-31.
- Zaher, H. 1994a. Phylogénie des Pseudoboini et évolution des Xenodontinae sud-américains (Serpentes, Colubridae). (Ph. D. Dissertation) Muséum National d'Histoire Naturelle de Paris; vol. 1, 12+205pp.
- Zaher H. 1994b. Comments on the evolution of the jaw adductor musculature of snakes. Zool J Lin Soc 111:339-384.
- Zaher H. 1996. A musculatura associada à glândula infralabial de *Dipsas neivai*: um novo sistema de inoculação de veneno relacionado à malacofagia (Serpentes: Dipsadinae). In: Resumos do XXI Congresso Brasileiro de Zoologia, vol. 940, p. 201.
- Zaher H. 1999. Hemipenial morphology of the South American Xenodontinae snakes, with a proposal for a monophyletic Xenodontinae and a reappraisal of Colubroid hemipenes. Bull Am Mus Nat Hist 240:1-168.
- Zaher H, Grazziotion FG, Cadle JE, Murphy RW, Moura-Leite JC, Bonatto SL. 2009. Molecular phylogeny of advanced snakes (Serpentes, Caenophidian) with an emphasis on South American Xenodontines: A revised classification and descriptions of new taxa. Pap Avul Zool 49(11):115-153.

## Figures

Fig. 1. Schematic drawing of the skinned heads of *Geophis brachycephalus* (A), *Geophis nasalis* (B) and *Geophis semidoliatus* (C), showing the location of the cephalic glands and head muscles. Abbreviations: aem2, muscle *adductor externus medialis*; aep, muscle *adductor externus profundus*; aes, muscle *adductor externus superficialis*; il1, anterolateral portion of the infralabial gland; ap.aes, *aponeurosis* of the *adductor mandibulae externus superficialis*; hg, harderian gland; lao, muscle *levator anguli oris*; ng, nasal gland; il2, posteromedial portion of the infralabial gland; qml, quadrato-maxillary ligament; sl, supralabial gland.


Fig. 2. (A-B) Geophis brachycephalus. A: Lateral view of the dissected head showing oral glands and superficial muscles. B: Lateral view with a higher magnification, showing both anterolateral (il1) and posteromedial (il2) portions of the infralabial gland; the muscle *levator anguli oris* (lao) attaches to the anterolateral portion while the muscle *adductor mandibulae externus medialis* (aem2) attaches to the posteromedial portion. C: Ventrolateral view of the head of *Geophis nasalis* stained with alcian blue and alizarin red, showing both anterolateral (il1) and posteromedial gland (sl) with an enlarged posterior portion. Abbreviations: d, dentary; f, frontal; hg, harderian gland; ncm, muscle *neurocostomandibularis*; ng, nasal gland; p, parietal; pfr, prefrontal; pg, muscle *pterygoideus*; qml, quadrato-maxillary ligament; sl, supralabial gland.

## Figure 02







Fig. 3. Geophis brachycephalus. A: Sagittal section of the head stained with H&E, showing both anterolateral (il1) and posteromedial (il2) portions of the infralabial gland. B: Transverse section of the posterior portion of the head stained with H&E, showing the posteromedial portion (il2) embraced by the muscle adductor mandibulae externus medialis (aem2). C: Sagittal section of the mandibular region showing the anterolateral portion (il1) with its duct (d-il1) and the posteromedial portion (il2) with a lumen (lu) in its center; the arrows numbered as 1 and 2 point to the main ducts belonging to the anterolateral and posteromedial portions of the infralabial gland, respectively. D: Sagittal section with a higher magnification, showing acini opening into the duct (d-il1); the arrows point to the apical portion of the cytoplasm of cells lining the ducts that reacted positively to alcian blue, pH 2.5. E: Details of the seromucous (sm) and mucous cells (m) in the anterolateral portion of the infralabial gland; F: Detail of the lumen (lu) of the posteromedial portion of the gland, full of secretion; G: Sagittal section with a higher magnification of the posteromedial section evidencing acini full of secretion and vesicles (v). (C-G) Sections stained by conjugated reaction of the methods alcian blue, pH 2.5 and PAS. H: Transverse section of the maxillary region stained with H&E, showing supralabial gland (sl) constituted by seromucous (sm) and mucous cells (m) and its short duct opening in the oral cavity (oc). I: Detail of the seromucous (sm) and mucous cells (m) in the supralabial gland. Abbreviations: cp, compound bone; dt, dentary teeth; mx, maxilla; om, oral mucosa.



Fig. 4. Geophis nasalis. A: Sagittal section of the head stained with H&E, evidencing both anterolateral (ill) and posteromedial (il2) portions of the infralabial gland and their associated muscles. B: Detail of the muscle adductor mandibulae externus medialis (aem2) attached to the posteromedial portion (il2). C: Sagittal section stained with H&E, showing contrast between anterolateral (il1) and posteromedial (il2) portions. D: Sagittal section stained by a reaction of bromofenol blue, showing seromucous cells in both portions of the infralabial gland. E: Sagittal section stained by conjugated reaction of alcian blue (pH 2.5) and PAS, showing mucous cells only in the anterolateral portion of the gland (il1). F: Sagittal section stained with H&E, showing a duct (d-ill) distending into the anterolateral portion of the infralabial gland (il1). G: Transverse section of the posterior region of the infralabial gland stained with H&E, showing a duct (d-ill) of the anterolateral portion (ill) of the infralabial gland opening under a infralabial scale, and illustrating the relationship between both anterolateral (il1) and posteromedial (il2) portions and between the anterolateral portion and the muscle levator anguli oris (lao). H: Transverse section stained with H&E, showing the relationship between the posteromedial portion (il2) and the muscle adductor mandibulae externus medialis (aem2). I: Sagittal section stained with a conjugated reaction of alcian blue (pH 2.5) and PAS, showing the supralabial gland (sl) and the anterolateral portion (ill) of the infralabial gland. J: Sagittal section stained with alcian blue (pH 2.5), showing the presence of acid mucous in mucous cells of the supralabial gland (sl). K: Sagittal section stained with PAS, showing a strong positive reaction in seromucous (sm) and mucous cells (m) and demonstrating the presence of neutral mucous.





Fig. 5. *Geophis semidoliatus*. A: Sagittal section of the mandibular region showing the posteromedial portion (il2) with a lumen (lu) and the association between the gland and muscle *adductor mandibulae externus medialis* (aem2); section stained by a conjugated reaction of alcian blue, pH 2.5, and PAS methods. B: Sagittal section of the posteromedial portion (il2) of the gland stained with H&E and shown in a higher magnification, evidencing acini full of secretion and vesicles (v). C: Sagittal section of the posteromedial portion of the gland stained by a conjugated reaction using alcian blue, pH 2.5, and PAS methods. B: Sagittal section of the posteromedial portion of the gland stained by a conjugated reaction using alcian blue, pH 2.5, and PAS methods and shown in a higher magnification, evidencing acini full of secretion of the supralabial gland stained with H&E, showing its general structure. E: Sagittal section of the supralabial gland showing seromucous cells positive to PAS and mucous cells with intensive reaction to alcian blue; stained by a conjugated reaction using alcian blue, pH 2.5, and PAS methods.

# Figure 05



Fig. 6. Schematic drawing of the infralabial gland in *Geophis*, representing major morphological structures. **Abbreviations:** aem2, muscle *adductor mandibulae externus medialis*; d-il1, duct of the anterolateral portion of the infralabial gland; d-il2, duct of the posteromedial portion of the infralabial gland; il1, anterolateral portion of the infralabial gland; il2, posteromedial portion of the infralabial gland; lao, muscle *levator anguli oris*; lu, lumen; oc, oral cavity; v, vesicles.





2	n	n
2	υ	9

	In this paper			Other sources		
	Geophis brachycephalus	Geophis nasalis	Geophis semidoliatus	Atractus reticulatus	Dipsas indica	Sibynomorphus mikanii
Infralabial gland divided in a lateral (il1) and a medial (il2) portion	present	present	present	absent	present	present
Muscle levator anguli oris distinct and well developed	present	present	present	present	present	present
Muscle adductor mandibulae externus medialis associated with the infralabial gland	present	present	present	absent	absent	absent
Lumen in the medial portion (il2) of the infralabial gland	present	present	present	absent	absent	absent
Vesicle-like structures in the medial portion (il2) of the infralabial gland	present	present	present	absent	absent	absent
Attachment of the muscle levator anguli oris on the tip of dentary	absent	absent	absent	absent	present	present
Attachment of the muscle levator anguli oris on the posterior portion of infralabial gland	present	present	present	present	absent	absent
Mandibular duct of the medial infralabial gland that opens in the epithelium of the mouth	present	present	present	absent	present	present
Duvernoy gland	absent	absent	absent	absent	absent	absent

<sup>1</sup>Oliveira et al. (2008)

<sup>2</sup> Zaher et al. (manuscript in prep.)

Table 1. Major morphological characteristics observed in the infralabial glands at Geophis' species and comparison with other results about dipsadine snakes.

#### **Apêndice II**

#### Apêndice II – Lista de material utilizado neste estudo\*.

Adephicos quadrivirgatum: USNM 570415 (M; H), MVZ 169619 (M; MEV), MVZ 169658 (M; H).

Atractus pantostictus: MZUSP 15561 (H), MZUSP 15562 (H), MZUSP 18517 (M; MEV). Atractus reticulatus: IBSP 77781 (H), IBSP 76413 (H).

Atractus zebrinus: s/n (H).

Chersodromus liebmanni: USNM 109920 (H; M).

Coniophanes fissidens: USNM 561024 (H; M).

Dipsas albifrons: MZUSP 17885 (H), MZUSP 17233 (H), s/n (MEV).

Dipsas bucephala:, IBSP 73451 (H), MZUSP 17885 (H), MZUSP 18518 (M; MEV).

*Dipsas indica:* MZUSP 16695 (H)

Dipsas neivai (D. variegata): IBSP 74123 (H), MZUSP 14665 (H), MZUSP 15706 (H).

Geophis brachycephalus: KU 35878 (H; M).

Geophis nasalis: MVZ 148267 (H; M; MEV), MVZ 148181 (H; M).

Geophis semidoliatus: USNM 224839 (H; M).

Hypsiglena torquata: MVZ 129353 (H; M).

Imantodes cenchoa: MZUSP 15944 (H), MZUSP 15702 (H), MZUSP 16953 (M; MEV).

Leptodeira annulata: MZUSP 16948 (H), MZUSP 16958 (H), MZUSP 15940 (M; MEV). Ninia hudsoni: MZUSP 8344 (H).

Ninia sebae: MVZ 159410 (H; M), MVZ 165226 (M; MEV), USNM 109854 (H; M).

Rhadinaea decorata: USNM 110354 (M).

Rhadinaea hannsteini: MVZ 170304 (M).

Rhadinaea montecristi: KU 62119 (M).

Sibon nebulatus: MZUSP 9316 (H), s/n (M; MEV).

Sibynomorphus mikanii: MZUSP 17886 (H), MZUSP 14663 (M), MZUSP 17882 (H), MZUSP 18522 (MEV), MZUSP 18714 (E), MZUSP 18715 (E), MZUSP 18716 (E), MZUSP 18717 (E).

Sibynomorphus neuwiedi: MZUSP 17225 (H), MZUSP 17227 (H), MZUSP 18521 (M; MEV).

Tomodon dorsatus: MZUSP 17881 (H), MZUSP 14591 (M, MEV).

Tretanorhinus variabilis: KU 35545 (M). Trimetopon pliolepis: KU 268960 (M). Tropidodipsas sartorii: MZUSP 561067 (H; M). Urotheca elapoides: USNM 110765 (H; M).

\* As siglas na frente dos números da coleção indicam o procedimento realizado em cada um dos exemplares: (E) estudo dos embriões; (H) histologia e histoquímica; (M) morfologia geral (dissecção); (MEV) microscopia eletrônica de varredura dos dentes.

### Apêndice 3

Espécies	Μ	H	MEV	Ε
Adelphicos quadrivirgatum	3	2	1	
Atractus pantostictus	1	2	1	
Atractus reticulatus		2		
Atractus zebrinus		1		
Chersodromus liebmanni	1	1		
Coniophanes fissidens	1	1		
Dipsas albifrons		2	1	
Dipsas bucephala	1	2		
Dipsas indica		1	1	
Dipsas neivai		3		
Geophis brachycephalus	1	1		
Geophis nasalis	2	2	1	
Geophis semidoliatus	1	1		
Hypsiglena torquata	1	1		
Imantodes cenchoa	1	2	1	
Leptodeira annulata	1	2	1	
Ninia atrata			1	
Nina hudsoni		1		
Ninia sebae	3	3	1	
Rhadinaea decorata	1			
Rhadinaea hannsteini	1			
Rhadinaea montecristi	1			
Sibon nebulatus	1	1	1	
Sibynomorphus mikanii	1	2	1	4
Sibynomorphus neuwiedi	1	2	1	
Tomodon dorsatus	1	1	1	
Tretanorhinus variabilis	1			
Trimetopon pliolepis	1			
Tropidodipsas sartorii	1	1		
Urotheca elapoides	1	1		

Apêndice 3 – Listagem com a quantidade de exemplares utilizados para cada uma das técnicas.

M = morfologia geral; H = histologia e histoquímica; MEV = microscopia eletrônica de varredura; E = estudo dos embriões.