

UFRRJ

**INSTITUTO DE BIOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA ANIMAL**

DISSERTAÇÃO

**Análise da Microestrutura de Escamas de Quatro Espécies de Serpentes
Xenodontinae em Associação à Ocupação de Diferentes Microhabitats**

Ramon Brum de Moraes e Silva

2009



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO INSTITUTO
DE BIOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA ANIMAL**

**Análise da Microestrutura de Escamas de Quatro Espécies de Serpentes
Xenodontinae em Associação à Ocupação de Diferentes Microhabitats**

RAMON BRUM DE MORAES E SILVA

*Sob a Orientação do Professor Dr.
Oscar Rocha-Barbosa*

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências**, no Curso de Pós-Graduação em Biologia Animal, área de concentração Ecomorfologia.

Seropédica, RJ
Março de 2009

597.96

A586a

T

Silva, Ramon Brum de Moraes e,
1977-

Análise da microestrutura de
quatro espécies de serpentes
Xenodontinae em associações à
ocupação de diferentes microhabitats
/ Ramon Brum de Moraes e Silva -
2009.

53f. : il.

Orientador: Oscar Rocha-Barbosa
Dissertação (mestrado) -
Universidade Federal Rural do Rio
de Janeiro, Programa de Pós-
Graduação em Biologia animal.

Bibliografia: f. 22-25

1. Cobra - Identificação -
Teses. 2. Cobra - Análise - Teses.
3. Cobra - Habitat - Teses. I.
Barbosa, Oscar Rocha, 1957-. II.
Universidade Federal Rural do Rio
de Janeiro. Programa de Pós-
Graduação em Biologia Animal. III.
Título.

Bibliotecário: _____

Data: __/__/____

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE BIOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BILOGIA ANIMAL**

RAMON BRUM DE MORAES E SILVA

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências** no Curso de Pós-Graduação em Biologia Animal, área de Concentração em Ecomorfologia.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM ____/____/2009

**Oscar Rocha-Barbosa, Dr., UERJ
(Orientador)**

Jacenir Reis dos Santos Mallet, Dra., FIOCRUZ

Ricardo Tadeu Santori, Dr., UERJ

DEDICATÓRIA

Dedico esta obra as duas maiores obras que, junto com minha amada esposa, já produzi, meus filhos gêmeos **Caio Ribeiro Brum** e **Raí Ribeiro Brum**, os melhores presentes que eu poderia receber na vida. É por eles que trabalho duro e não paro de estudar, pois, quando penso neles, me sinto capaz de superar qualquer obstáculo. Quando estou exausto revigoram minhas forças, quando estou triste me alegam, quando estou estressado acalmam meu coração, quando sinto que não vou conseguir me fazem acreditar, quando penso em desistir me fazem seguir em frente, quando acho que tudo conspira contra mim me fazer perceber que é apenas uma fase passageira, quando me sinto desprezado fazem-me sentir amado.

Por isso, a eles dedico esse trabalho como tenho dedicado tudo que faço na minha vida desde o momento em que foram concebidos e tenho certeza que um dia eles entenderão o motivo de tanta dedicação.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a **Deus** por ter colocado em meu caminho sempre as pessoas certas, por me dar essa família maravilhosa e me dar amigos preciosos.

À minha amada esposa **Cibelle Ribeiro Gomes**, pela família maravilhosa e pelo apoio em todas as minhas decisões. Agradeço pela paciência que teve comigo e pelas palavras de conforto quando eu, desesperado, me via dividido entre mestrado, trabalho e família.

Aos meus pais **Gilson de Moraes e Silva** e **Helena Brum Moraes e Silva**, que me deram uma boa educação e sempre me ensinaram que com respeito as pessoas, honestidade e força de vontade podemos alcançar os objetivos que almejamos.

Aos meus irmãos **Rodrigo Brum de Moraes e Silva** (o mais velho) e **Romário Brum de Moraes e Silva** (o mais novo), pelas grandes aventuras que tivemos na infância e por toda convivência que me fizeram ser hoje essa pessoa alegre, que acredita nos sonhos e que nunca perde as esperanças.

Ao meu orientador, a quem tenho muita estima e admiração, o **Prof. Dr. Oscar Rocha Barbosa**, por acreditar em meu potencial, por se mostrar sempre disposto a me ajudar e por compartilhar comigo de sua grandiosa sapiência.

Ao **Prof. Dr. Ricardo Tadeu Santori**, que me acolheu quando disse que pretendia trabalhar na área de zoologia e por ter me apresentado ao meu orientador quando eu disse que queria fazer mestrado.

Ao **Prof. Dr. Marcelo Guerra Santos**, por ter compreendido minha decisão de trabalhar com zoologia e por ter me ajudado a ingressar nesse caminho.

À professora **Prof. Dra. Jacenir Reis dos Santos Mallet**, pelos ensinamentos sobre microscopia eletrônica, que irão facilitar em muito meus trabalhos futuros, por ter se mostrado uma pessoa amiga, sempre disposta dar auxílio no que for de seu alcance e pelos importantes conselhos que farão de mim um profissional melhor.

Aos meus grandes amigos da graduação **Alessandro Augusto Simão, Eduardo da Costa Alves, Jorge Mansur Medina, Paulo Ricardo e Fabiana Aleixo**, pelas horas de descontração, por acreditarem que eu era capaz (às vezes até mais que eu) e principalmente pela amizade verdadeira que nem o tempo nem a distância podem apagar.

Aos essenciais amigos e colaboradores **Mariana Fiúza de C. Loguercio, Humberto Moura Neto e Gustavo Aveiro Lins**, por terem me ajudado no que precisei, sempre dando suporte necessário para que eu conseguisse completar minha dissertação.

Aos meus amigos da Pós-Graduação **Thatiana da Paz Ribeiro, Ana Paula Martinez de Abreu, José Antônio Batista, Emerson Ribeiro Garcia, Luis Henrique, Joice Lobo, Luciana Roboredo, Fernanda Avelino, Fernando Pinto, Raquel Montesinus** e todos os outros que me ajudaram a superar as dificuldades durante o curso.

Ao Laboratório de Zoologia de Vertebrados Tetrapoda (LAZOVERTE) – IBRAG – UERJ e toda equipe que trabalha com afincos e prolas da ciência.

Ao Setor de Herpetologia do **Instituto Butantan** de São Paulo, por ter disponibilizado as espécies de serpentes necessárias para o estudo.

Ao **Laboratório de Ultraestrutura Celular Herta Meier** da UFRJ e a **Noêmia Rodrigues Gonçalves**, que sempre me atendeu com muito boa vontade e me explicava, com toda a sua experiência, todos os passos que se sucediam durante as seções de microscopia.

A todo **corpo docente** da PPGBA, pela dedicação e pelo bom trabalho realizado com as turmas do curso de Biologia Animal.

Ao coordenador do curso de Biologia Animal, **Prof. Dr. Francisco Gerson de Araújo**, por estar sempre empenhado em melhorar o curso e a senhora **Agra Mendonça Cardoso** por estar sempre presente e nos orientando nos momentos de dúvida, meu muito obrigado.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	1
1.1 Breve comentário sobre as espécies estudadas.....	2
1.2 Objetivos gerais.....	7
1.3 Objetivos específicos.....	7
2 MATERIAL E MÉTODOS	8
3 RESULTADOS	12
4 DISCUSSÃO	18
5 CONCLUSÃO	21
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	22
7 ANEXOS	26
ANEXO A – Capa da revista onde foi publicado International Journal of Morphology.....	26
ANEXO B – Página onde foi publicado o resumo.....	27
ANEXO C – Manuscrito do artigo aceito para publicação.....	28
ANEXO D – Resposta de aceite do artigo para publicação.....	41

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** *Sibynomorphus mikani* fazendo postura. Foto: Guiseppe Puerto.....3
- Figura 2.** *Atractus pantostictus*. Foto: Guiseppe Puerto.....4
- Figura 3.** *Imantodes cenchoa*. Foto: Guiseppe Puerto.....5
- Figura 4.** *Helicops modestus*.Foto: Guiseppe Puerto.....6
- Figura 5.** Foto ilustrativa de três tubos contendo escamas retiradas de uma serpente caninana (*Spilotes pullatus*). Os frascos estão identificados, na seqüência da esquerda para direita, como contendo escamas dorsais, laterais e ventrais.....9
- Figura 6.** Imagem de uma placa de alumínio de 2cm² numerada na região central da sua margem superior onde foram coladas cinco partes de tecido contendo escamas.....10
- Figura 7.** Imagem de uma placa de alumínio de 2cm², após o processo de metalização, numerada na região central da sua margem superior onde foram coladas seis escamas.....11
- Figura 8.** Fotomicrografia da superfície de uma escama lateral de *Sibynomorphus mikani* (terrestre), em aumento de 7500X, mostrando as espículas (A) enfileiradas e as microcovas (B) sobre as camadas seguintes.....12
- Figura 9.** Fotomicrografia da superfície de uma escama lateral de *Imantodes cenchoa* (arbórea), em aumento de 5000X, mostrando espículas (A) e microcovas (B).....13

- Figura 10.** Fotomicrografia da superfície de uma escama lateral de *Sibynomorphus mikani* (terrestre), em aumento de 10000X, mostrando as espículas (A) que se projetam sobre as camadas inferiores.....13
- Figura 11.** Fotomicrografia da superfície de uma escama lateral de *Helicops modestus* (aquática), em aumento de 1500X, mostrando as espículas voltadas para a direção caudal da escama.....14
- Figura 12.** Fotomicrografia da superfície ventral de uma escama de *Imantodes cenchoa* (arbórea), em aumento de 7500X, mostrando, em destaque, as microcovas (A) de dimensões aproximadamente uniformes.....14
- Figura 13.** Fotomicrografia da superfície de uma escama ventral de *Atractus pantostictus* (fossória), mostrando as espículas fundidas às camadas posteriores em aumento de 7500X.....15
- Figura 14.** Fotomicrografia da superfície de uma escama dorsal de *Atractus pantostictus* (fossória), em aumento de 2000X, mostrando uma borda sem microestruturas aparentes.....16
- Figura 15.** Fotomicrografia da superfície de uma escama dorsal de *Helicops modestus* (aquática), mostrando suas espículas menores e denticuladas, e as microcovas rasas, em aumento de 7500X.....17

RESUMO

MORAES-e-SILVA, Ramon Brum de. **Análise da Microestrutura de Escamas de Serpentes Xenodontinae em Associação à Ocupação de Diferentes Microhabitats**. 2009. Xp Dissertação (Mestrado em Biologia Animal, Ecomorfologia). Instituto de Biologia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2009.

A morfologia dos organismos pode relacionar-se com o ambiente. Contudo, muitas serpentes são tão semelhantes em seus padrões morfológicos que se torna difícil distinguir divergências adaptativas a olho nu. Diversos autores sugerem que as microornamentações das escamas de répteis têm significância funcional. Nosso trabalho comparou variações na micromorfologia da superfície das escamas de diferentes espécies de serpentes da subfamília Xenodontinae com microhabitats distintos, a saber: *Sibynomorphus mikani* (terrestre), *Imantodes cenchoa* (arbórea), *Helicops modestus* (aquática) e *Atractus pantostictus* (fossória). Foram retiradas da região mediana do corpo das serpentes escamas dorsais, laterais e ventrais. Após isso, foram pulverizadas com ouro e analisadas através da microscopia eletrônica de varredura (MEV). As espécies apresentaram microestruturas similares, como microcovas e espículas quase sempre direcionadas para a região caudal das escamas. Porém, diferenças na forma e no padrão microestrutural foram singulares em cada espécie. *Sibynomorphus mikani* e *I. cenchoa* mostraram espículas grandes e enfileiradas que sobrepõem as camadas subseqüentes na superfície das escamas. Em espécies com longas denticulações sobrepostas sobre as bordas posteriores, é esperada maior resistência friccional da direção posterior para a anterior das escamas. Tal disposição pode favorecer a locomoção desses animais em ambientes que requerem mais atrito para a locomoção. Em *H. modestus*, as espículas são menores e mais afastadas das fileiras posteriores, sugerem uma diminuição da força de resistência à água durante a natação. As microcovas, mais rasas, observadas nesta espécie, podem reter substâncias impermeabilizantes, como já verificado em outras serpentes Colubridae aquáticas. As espículas fundidas às camadas posteriores nas escamas de *A. pantostictus* formam uma superfície mais regular e sugerem neste tipo de locomoção fossória, ajudar na locomoção, reduzindo o atrito entre escama e o solo. Os dados analisados reforçam a idéia da importância funcional das microestruturas, contribuindo na adaptação dessas serpentes aos seus respectivos microhabitats.

Palavras-chave: Escamas, MEV, Microestrutura, Serpentes.

ABSTRACT

MORAES-e-SILVA, Ramon Brum de. **Analysis of the Microstructure of Xenodontinae Snake Scales Associated to Different Habitat Occupation Strategies**. 2009. Xp. Dissertation (Master Science in Biology, Ecomorphology) Instituto de Biologia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica , RJ, 2009.

The morphology of many organisms seems to be related to the environment they live in. Nonetheless, many snakes are so similar in their morphological patterns that it becomes quite difficult to distinguish any adaptive divergence that may exist. Many authors suggest that the microornamentations on the scales of reptiles have important functional value. Here, we examined variations on the micromorphology of the exposed *oberhautchen* surface of dorsal, lateral, and ventral scales from the midbody region of Xenodontinae snakes: *Sibynomorphus mikani* (terricolous), *Imantodes cenchoa* (arboreal), *Helicops modestus* (aquatic) and *Atractus pantostictus* (fossorial). They were pulverized with gold and analyzed by scanning electron microscopy (SEM). All species displayed similar microstructures, such as small pits and spinules, which are often directed to the scale caudal region. On the other hand, there were some singular differences in scale shape and in the microstructural pattern of each species. *S. mikani* and *I. cenchoa* have larger spinules arranged in a row which overlap the following layers on the scale surface. Species with large serrate borders are expected to have more frictional resistance from the caudal-cranial direction. This can favor life on environments which require more friction, facilitating locomotion. In *H. modestus*, the spinules are smaller and farther away from the posterior rows, which should help reduce water resistance during swimming. The shallower small pits found in this species can retain impermeable substances, as in aquatic Colubridae snakes. The spinules adhering to the caudal scales of *A. pantostictus* seem to form a more regular surface, which probably aid their fossorial locomotion, reducing scale-ground friction. Our data appear to support the importance of functional microstructure, contributing to the idea of snake species' adaptation to their preferential microhabitats.

Key words: Microstructure, Scales, SEM, Snakes.

1 INTRODUÇÃO

A morfologia dos organismos está geralmente associada aos seus ambientes, presumivelmente porque as expressões genéticas estão inseridas na população ou a nível individual adequando os organismos às condições locais (Aubret *et al.*, 2004). Os estudos dos efeitos da morfologia sobre o desempenho são fundamentais para inferir sobre os hábitos de um organismo (Wainwright, 1991). A abordagem ecomorfológica busca o entendimento do papel da arquitetura do organismo na sua interação com o ambiente, através de comportamentos e ações relevantes a sua sobrevivência (Wainwright & Reilly, 1994).

O desempenho nas tarefas relevantes para a sobrevivência veio como consequência dada pela fisiologia, e das adaptações morfológicas que influenciam na habilidade dos organismos em interagir com o ambiente na obtenção de recursos (Lauder, 1990). Estudos sobre as relações entre ecologia e morfologia (ecomorfologia) dos animais podem explicar alguns pontos da seleção natural baseado na divisão de recursos como espaço e alimento em uma comunidade (Ribas *et al.*, 2004).

Contudo, muitas serpentes e outros Squamata são tão parecidos em seus padrões morfológicos que se torna difícil distinguir divergências adaptativas, pois são imperceptíveis a olho nu. A microscopia eletrônica de varredura (MEV) vem a ser uma ferramenta de grande importância na descoberta de tais diferenças, pois permite a análise das microestruturas existentes nesses animais.

A superfície das escamas dos répteis frequentemente apresenta uma microornamentação de cristas, tubérculos ou espinhos (entre outras estruturas) (Storer *et al.*, 1995). A epiderme dos répteis está organizada em uma seqüência de camadas distintas originadas a partir de um extrato germinativo (Calamante *et al.*, 2005). Segundo Rubial (1968), a camada mais externa é chamada “*oberhäuchen*” queratinizada, que seria a interface entre o animal e o ambiente, constituídas de células microscopicamente esculpidas criando as características morfológicas das escamas dos répteis. As variações dos caracteres, tais como os padrões das células epidérmicas e as esculturas das superfícies celulares, dão lugar a uma diversidade de estruturas (microestruturas ou microornamentações) de complexidade variável (Calamante *et al.*, 2005). Inúmeros estudos têm

sugerido uma significância funcional para as microornamentações encontradas (Manderson, 1966; Porter, 1967; Steward & Daniel, 1973; Gans & Baic, 1977; Smith *et al.*, 1982; Renous *et al.*, 1985; Arnold, 2002, Gower, 2003) ou simplesmente descrevem a microanatomia (Arroyo & Cerdas, 1985; Chiasson & Lowe, 1989; Velloso *et al.*, 2005). As microestruturas também têm sido utilizadas como ferramentas taxonômicas (Hogue & Santos 1953; Dowling, 1972; Stewart & Daniel, 1975) e nos estudos ontogenéticos e/ou evolutivos de Squamata (Peterson, 1985; Harvery 1993, 1995).

A subordem Serpentes é uma das maiores e mais diversas entre os répteis, apresentando taxa com diferentes graus de especialização para a ocupação de uma igual diversidade de nichos. Cada ambiente apresente níveis específicos de complexidade que exercem uma pressão sobre a morfologia através de fatores físicos, tais como: temperatura, pressão gravitacional, umidade, por exemplo, (Ricklefs & Miles, 1994).

Xenodontinae é uma subfamília de serpentes Colubridae que têm ocorrência em todo o continente americano sendo especialmente diversificados na América do Sul (Cadle, 1984a, 1985; Zaher, 1999; Franco & Ferreira, 2002) Das 294 espécies de serpentes registradas para o Brasil, 194 (cerca de 50%) pertencem a essa subfamília (Franco & Ferreira, 2002). França & Araújo (2007) mostraram que os Xenodontinae têm grande importância ecológica, principalmente na região central do Brasil aonde a riqueza de espécies chega a ultrapassar 75% do número total de Colubridae e soma mais da metade do número total de espécies existentes dentre todas as famílias e subfamílias conhecidas.

1.1 Breve apresentação sobre a biologia das espécies estudadas:

Sibynomorphus mikani (fig. 1) é uma espécie de hábito terrícola e noturno, alimenta-se preferencialmente de moluscos da família Veronicellidae (Laporta-Ferreira *et al.*, 1986; Salomão & Laporta-Ferreira, 1994). São ovíparas (Amaral, 1970), e sua distribuição geográfica abrange todo o Sudeste do Brasil (Peters & Orejas-Miranda, 1970).



Figura 1. Espécie: *Sibynomorphus mikani* (Schegel, 1837) fazendo postura. Foto: Giuseppe Puorto.

Classe: Reptilia

Ordem: Squamata

Subordem: Serpentes

Superfamília: Colubroidea

Família: Colubridae

Subfamília: Xenodontinae

Tribo: Dipsadini

Gênero: *Sibynomorphus*

Atractus pantostictus (fig. 2) é uma serpente de hábito fossório, muito provavelmente de hábitos noturnos, alimenta-se de minhocas e pequenos vermes subterrâneos. É ovípara. Sua distribuição geográfica abrange o Paraguai e Sul do Brasil (Peters & Orejas-Miranda, 1970).



Figura 2. *Atractus pantostictus* (Boulenger, 1885). Foto: Guiseppe Puerto.

Classe: Reptilia

Ordem: Squamata

Subordem: Serpentes

Superfamília: Colubroidea

Família: Colubridae

Subfamília: Xenodontinae

Tribo: Dipsadini

Gênero: *Atractus*

Imantodes cenchoa (fig. 3) é uma serpente de hábito arbóreo e noturno, alimenta-se de anfíbios e lagartos (Greene, 1997). É ovípara. Sua distribuição geográfica abrange o Istmo Tehuantepla, México, América Central e do Sul até o Paraguai e Bolívia (Peters & Orejas-Miranda, 1970).



Figura 3. *Imantodes cenchoa* (Linnaeus, 1758). Foto: Guiseppe Puerto.

Classe: Reptilia

Ordem: Squamata

Subordem: Serpentes

Superfamília: Colubroidea

Família: Colubridae

Subfamília: Xenodontinae

Tribo: Dipsadini

Gênero: *Imantodes*

Helicops modestus (fig. 4) é uma serpente de hábito aquático e noturno, se alimenta basicamente de peixes (Amaral, 1970; Dixon & Soini, 1977; Strüssman, 1992; Martins, 1994; Marques, 1998; Alborea, 1999). São vivíparas (Amaral, 1970). Sua distribuição geográfica é no Sul e região central do Brasil (Peters & Orejas-Miranda, 1970).



Figura 4. *Helicops modestus* (Günther, 1861). Foto: Guiseppe Puerto.

Classe: Reptilia

Ordem: Squamata

Subordem: Serpentes

Superfamília: Colubroidea

Família: Colubridae

Subfamília: Xenodontinae

Tribo: Dipsadini

Gênero: *Helicops*

1.2 Objetivos gerais:

- Verificar a existência de variações na microestrutura da superfície das escamas de serpentes Xenodontinae, que ocupam diferentes microhabitats (terrestre, arbóreo, aquático e fossório).
- Ressaltar a relevância das microestruturas nos estudos sobre adaptação destas espécies para a exploração de seus respectivos nichos.

1.3 Objetivos específicos:

- Analisar, comparativamente, os dados obtidos, a fim de se verificar a existência de relações ecomorfológicas entre as microestruturas das escamas das espécies estudadas, e sua contribuição na adaptação ao microhabitat o qual vive cada uma dessas serpentes, objeto de estudo.

Nossa hipótese é de que existam diferenças significativas nas microestruturas das escamas das espécies estudadas e que tais diferenças possam explicar seu melhor desempenho locomotor, nos diferentes microhabitats, ou seja, arbóreo, terrestre, aquático ou fossório.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas quatro espécies pertencentes à subfamília Xenodontinae e que vivem em microhabitats distintos: *Sibynomorphus mikani* (Schlegel, 1837) (12 fêmeas e 7 machos; terrícola); *Atractus pantostictus* (Boulenger, 1885) (9 fêmeas e 11 machos; fossória); *Imantodes cenchoa* (Linneaus, 1758) (11 fêmeas e 6 machos; arbórea); *Helicops modestus* (Günther, 1861) (16 fêmeas e 11 machos; aquática). Todos os animais utilizados eram adultos e sem qualquer tipo de malformação ou problemas externos aparente. O material estudado é proveniente da coleção herpetológica do Setor de Herpetologia do Instituto Butantan de São Paulo. As serpentes estavam fixadas em solução de formaldeído a 2,5%.

Foram escolhidas serpentes da mesma subfamília (Xenodontinae) na tentativa de se evitar efeitos de fatores filogenéticos, que poderiam influenciar nas características das microestruturas estudadas nas escamas das espécies, objeto do estudo.

Para o estudo da microestrutura foram selecionados cinco indivíduos adultos (2 machos e 3 fêmeas) de cada espécie, os quais foram retiradas escamas dorsais, laterais e ventrais da região mediana do corpo. Depois de retiradas, as escamas foram colocadas em tubos numerados e devidamente identificados por espécime e por espécie (fig. 5). Posteriormente, nos tubos foi adicionado água destilada e sabão líquido neutro para limpeza das escamas. Cada tubo foi agitado manualmente por cerca de 1 minuto para que pudessem ser eliminadas prováveis impurezas. Em seguida as escamas foram retiradas, enxaguadas em água destilada e colocadas para secar, em temperatura ambiente.



Figura 5. Foto ilustrativa de três tubos contendo escamas retiradas de uma serpente caninana (*Spilotes pullatus*). Os frascos estão identificados, na seqüência da esquerda para direita, como contendo escamas dorsais, laterais e ventrais.

Para a observação em MEV (microscópio eletrônico de varredura), foram confeccionadas placas de alumínio de 2cm² nas quais as escamas foram fixadas sobre pedaços de fita dupla-face que estavam coladas sobre a superfície das placas ou simplesmente coladas com cola de secagem rápida (fig. 6). As placas apresentavam quadrantes numerados para que se pudesse identificar a qual espécie pertencia cada escama e de que região do corpo da serpente a escama havia sido retirada. Este método permitiu observar um maior número de escamas por sessão de MEV (entre 5 a 6 escamas por sessão).

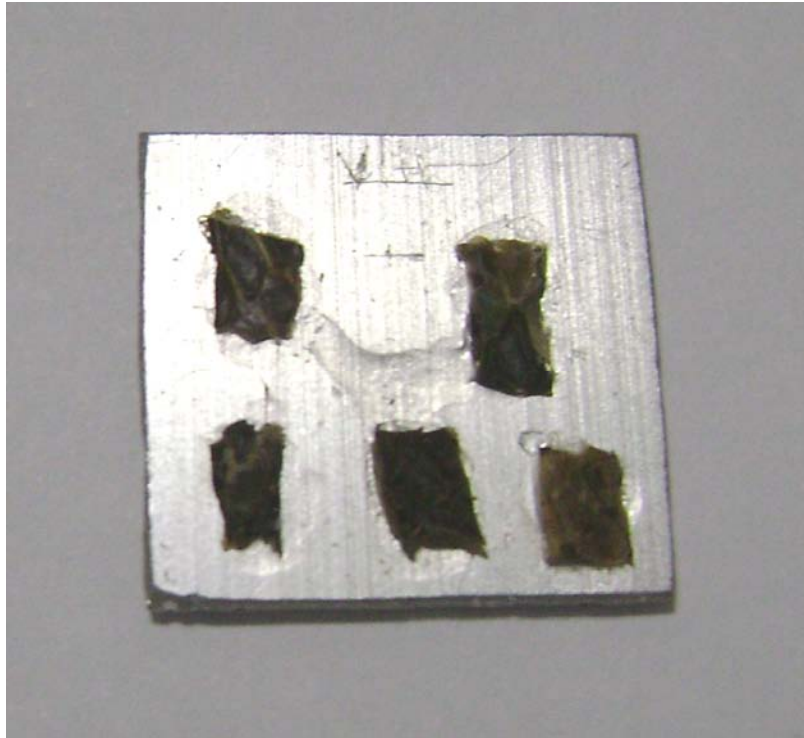


Figura 6. Imagem de uma placa de alumínio de 2cm² numerada na região central da sua margem superior onde foram coladas cinco partes de tecido contendo escamas.

Após ser limpo e devidamente aderido para ulterior observação, o material foi pulverizado com ouro (fig. 7). Posteriormente, as escamas foram observadas ao MEV e fotografadas sob diferentes aumentos. Foram observados aspectos como: o formato das microestruturas do contorno e o da superfície externa das escamas. O procedimento de pulverização e observação ao MEV foi realizado no Laboratório de Ultraestrutura Celular Herta Meier da Universidade Federal do Rio de Janeiro.



Figura 7. Imagem de uma placa de alumínio de 2cm², após o processo de metalização, numerada na região central da sua margem superior onde foram coladas as escamas.

3 RESULTADOS

Não foram encontradas diferenças intraespecíficas significativas entre as microestruturas encontradas nas escamas ventrais, dorsais e laterais, tão pouco, entre indivíduos machos e fêmeas. A microestrutura da superfície das escamas revelou estruturas comuns entre as espécies pesquisadas, como espículas e covas (fig. 8).

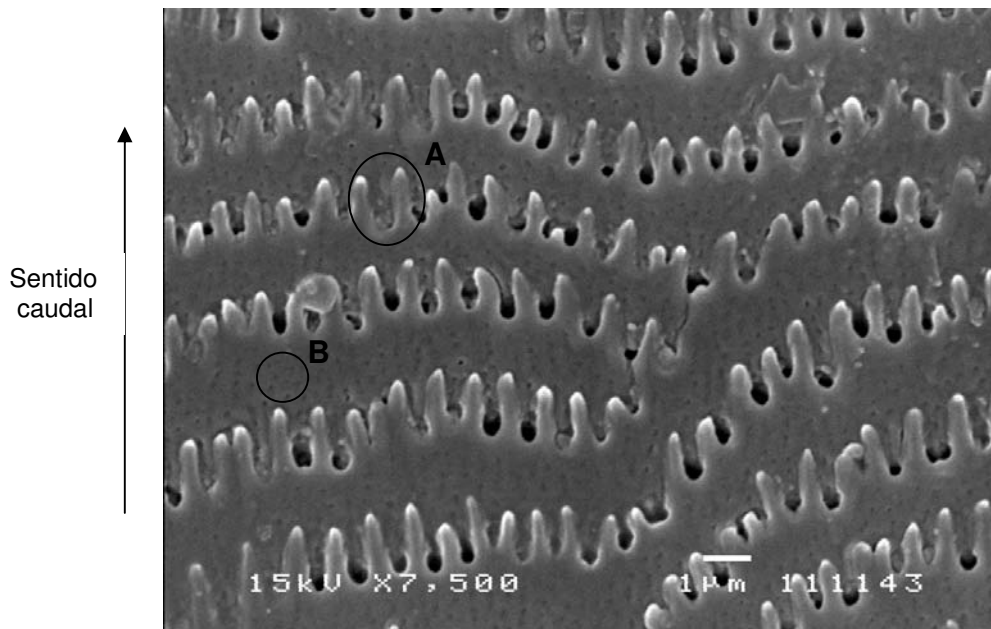


Figura 8. Fotomicrografia da superfície de uma escama lateral de *Sibynomorphus mikani* (terrestre), em aumento de 7500X, mostrando as espículas (A) enfileiradas e as microcovas (B) sobre as camadas seguintes.

A maioria das escamas apresentou superfície recoberta com fileiras de placas alongadas, que se sobrepõem umas as outras, como as fileiras de telhas de um telhado (fig. 9). Um grande número de espículas projeta-se sobre as placas seguintes a partir da borda inferior das placas superiores (fig. 10). As espículas estão sempre orientadas na direção caudal da escama (fig. 11), no entanto, na maioria das fotografias, a direção caudal está voltada para a parte superior da

imagem. O grande número de covas presentes na superfície das escamas também é freqüente e o tamanho é relativamente uniforme (fig. 12).

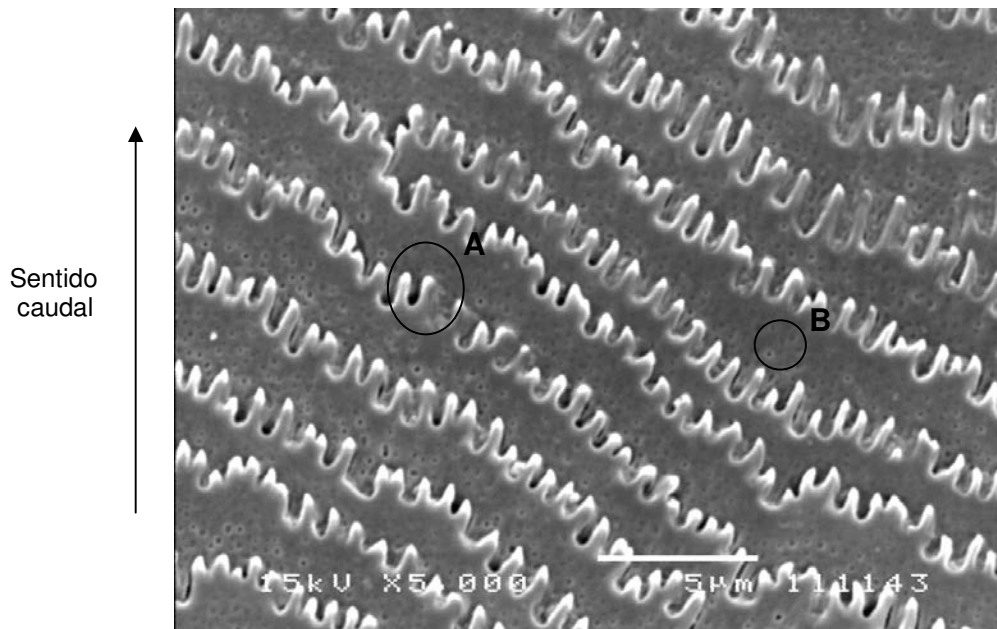


Figura 9. Fotomicrografia da superfície de uma escama lateral de *Imantodes cenchoa* (arbórea), em aumento de 5000X, mostrando espículas (A) e microcovas (B).

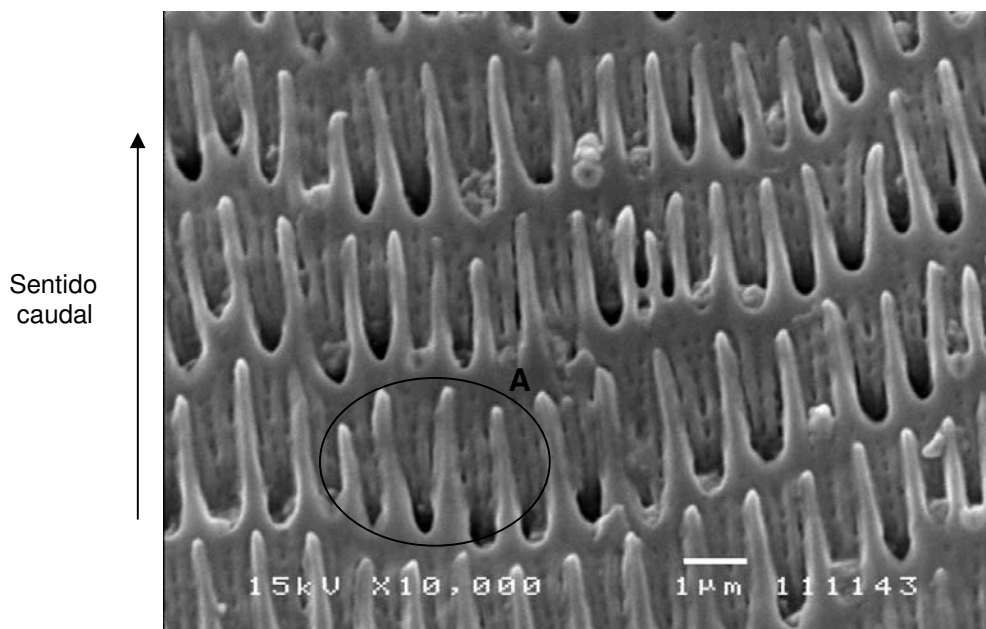


Figura 10. Fotomicrografia da superfície de uma escama lateral de *Sibynomorphus mikani* (terrestre), em aumento de 10000X, mostrando as espículas (A) que se projetam sobre as camadas inferiores.

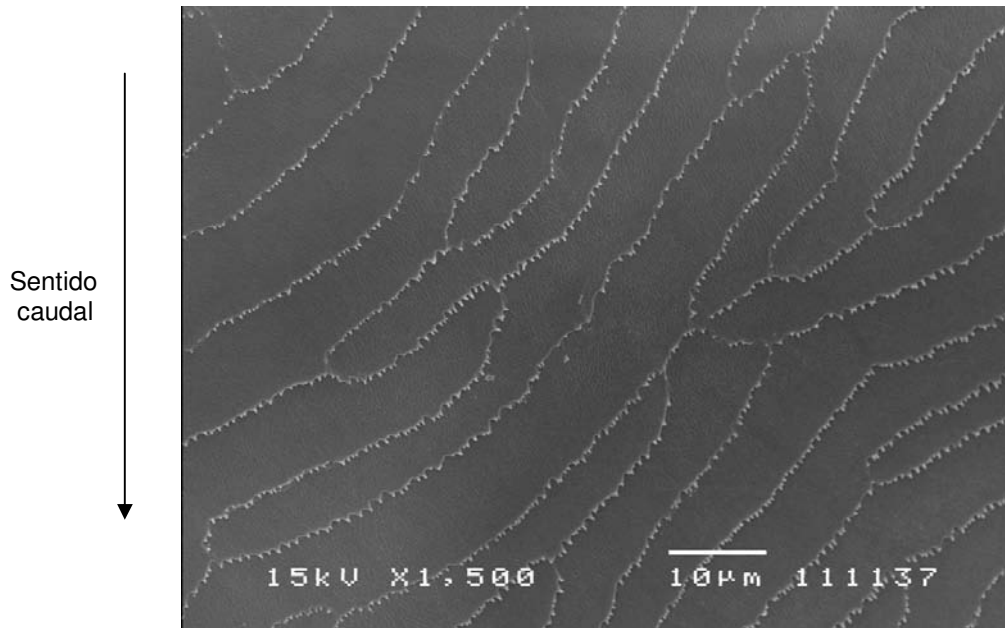


Figura 11. Fotomicrografia da superfície de uma escama lateral de *Helicops modestus* (aquática), em aumento de 1500X, mostrando as espículas voltadas para a direção caudal da escama.

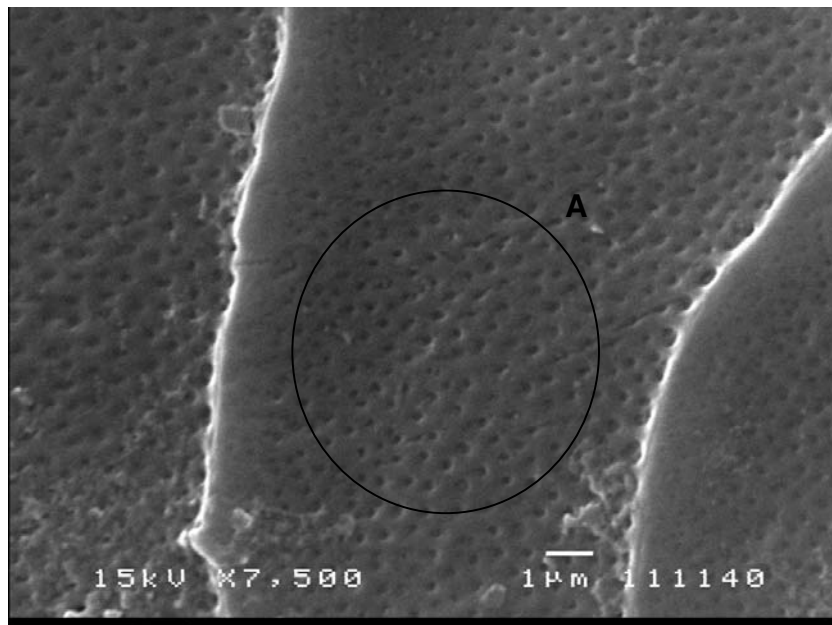


Figura 12. Fotomicrografia da superfície ventral de uma escama de *Imantodes cenchoa* (arbórea), em aumento de 7500X, mostrando, em destaque, as microcovas (A) de dimensões aparentemente uniformes.

Os resultados mostram que em *Sibynomorphus mikani* e *Imantodes cenchoa* (figs. 8 e 9) as espículas são grandes e agudas, semelhantes aos “dentes” de um pente, e as microcovas presentes nas superfícies que intercalam as espículas são abundantes.

As escamas da espécie *Atractus pantostictus* apresentaram um padrão microestrutural singular. As espículas são evidentes, mas parecem estar fundidas às placas posteriores, formando uma superfície mais uniforme, sem denticulações expostas (fig. 13). As covas não foram observadas nas escamas desta espécie.

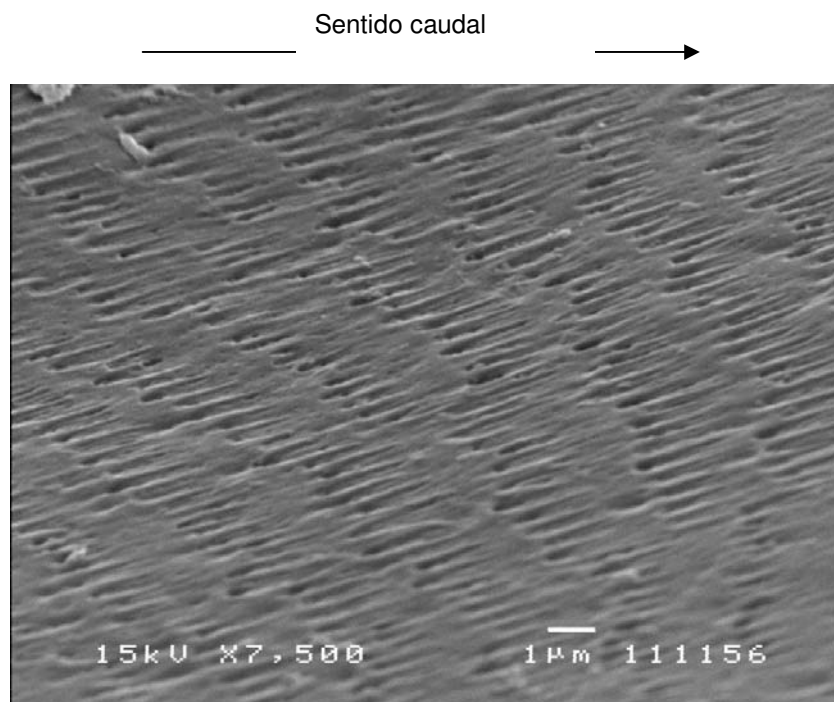


Figura 13. Fotomicrografia da superfície de uma escama ventral de *Atractus pantostictus* (fossória), mostrando as espículas fundidas às camadas posteriores em aumento de 7500X.

Os contornos de todas as escamas analisadas são lisas, ou seja, sem qualquer tipo de protuberâncias ou depressões. Entretanto, nas escamas dorsais de *Atractus pantostictus*, detectou-se a existência de uma área totalmente lisa na superfície, contornando a microornatentação do corpo da escama (fig. 14). Este fato ocorreu apenas nesta espécie.

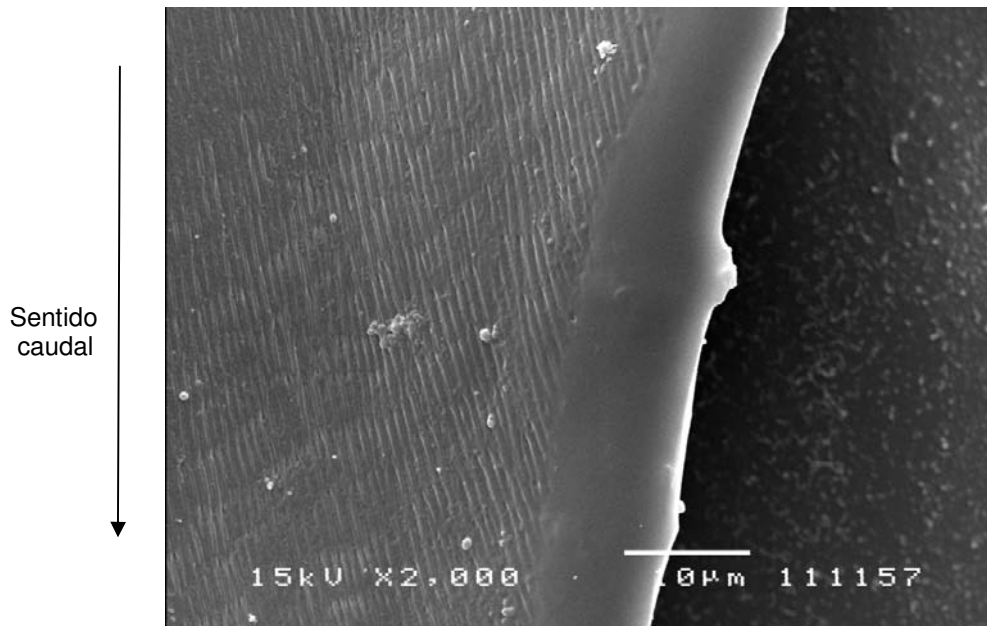


Figura 14. Fotomicrografia da superfície de uma escama dorsal de *Atractus pantostictus* (fossória), em aumento de 2000x, mostrando uma borda sem microestruturas aparentes.

Nas serpentes da espécie *Helicops modestus*, as placas encontram-se bem mais afastadas entre uma aborda e outra do que nas demais espécies estudadas. Além disso, observando a superfície das placas, foi possível perceber que as covas ali presentes aparentam ser mais rasas do que as covas presentes em *S. mikani* e *I. cenchoa*. Outro dado importante, é que em *H. modestus* as espículas presentes na borda das placas parecem ser menores em comparação com as outras espécies (fig. 15).

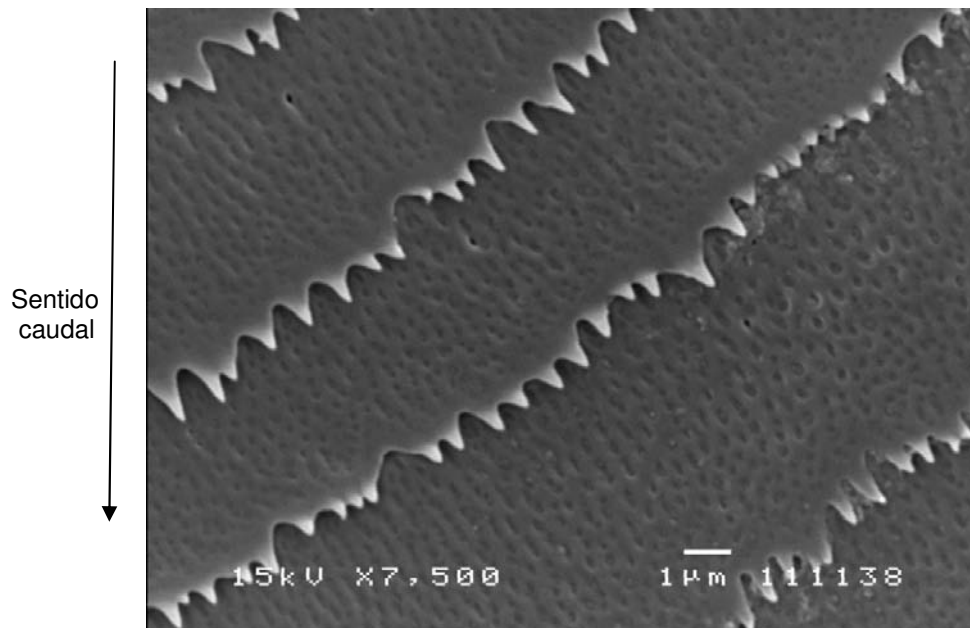


Figura 15. Fotomicrografia da superfície de uma escama dorsal de *Helicops modestus* (aquática), mostrando suas espículas menores e denticuladas, e as microcovas rasas, em aumento de 7500X.

4 DISCUSSÃO

As microornamentações dos Squamata podem ser facilmente estudadas utilizando-se a microscopia eletrônica de varredura (MEV) (Arnold, 2002). De acordo com este autor, as variações de microornamentações encontradas em animais de habitats diversos fornecem uma oportunidade de explorar essas variações num contexto histórico e funcional. Espículas e covas podem trazer vantagens para o aumento do atrito em répteis que vivem em rochas, como alguns Squamata. Estruturas como as cristas longitudinais características dos Squamata ápodes ou de membros curtos podem facilitar na locomoção em superfícies inclinadas (Smith *et al.*, 1982).

As especializações locomotoras das serpentes refletem diferenças em sua morfologia, associadas com diferentes modos de predação e com as propriedades dos substratos sobre os quais se movem (Pough *et al.*, 1999). Em lagartixas e *Anolis* as microestruturas aparentemente deram origem às cerdas digitais que cobrem a superfície inferior das extremidades de seus dedos e artelhos e que ajudam esses animais a subirem em superfícies verticais (Storer *et al.*, 1995). Gower (2003) não descarta a idéia de que as variações nas microestruturas das escamas correspondem a diferentes condições ambientais. Assim, no estudo das variedades microestruturais, deve-se levar em conta os reflexos das pressões seletivas ocasionadas pelas peculiaridades de cada ambiente.

Analisando a microestrutura em escamas de serpentes Uropeltidae, Gower (2003) propôs que uma microornamentação mais “lisa” e regular pode oferecer vantagens na vida subterrânea, possivelmente reduzindo a força de adesão dos solos úmidos sobre as escamas dessas serpentes. Stewart e Daniel (1973) relataram que as escamas lisas observadas em *Anniella pulchra* (um lagarto fossório) podem garantir mais eficiência na locomoção através do solo, pela diminuição do atrito. Superfícies relativamente lisas podem ajudar a reduzir a fricção, especialmente em espécies de hábitos fossoriais (Calamante *et al* 2005). Essa idéia está em concordância com o trabalho de Gans e Baic, (1977) no qual os autores afirmam que fricção reduzida promove a eficiência da ondulação lateral. Além disso, a baixa superfície de aderência pode diminuir o local de desgaste da pele e a contaminação por detritos ambientais (Hazel *et al* 1999). As microestruturas das escamas na espécie *A. pantostictus* parecem estar arranjadas de forma a

auxiliar na diminuição do atrito durante a locomoção sob o solo. As espículas fundidas à camada inferior da carreira seguinte formam uma superfície menos irregular, portanto, mais lisa se comparada à superfície das escamas de *I. cenchoa*, *S. mikani* e *H. modestus*.

Adicionalmente ou alternativamente, em espécies que possuem longas denticulações sobrepostas sobre as bordas posteriores das escamas, é esperado que haja uma maior resistência friccional da direção caudal para a direção cranial das escamas (Gower, 2003).

Nas espécies *Sibynomorphus mikani* e *Imantodes cenchoa*, nota-se uma variação na concentração e no tamanho das espículas, assim como nos espaços entre elas. Ambas têm hábito noturno, mas diferem entre si em relação ao nicho preferencial: *S. mikani* vive no solo (terrestre) e *I. cenchoa* na copa das árvores (arborícola). Comparando com outras espécies da mesma subfamília nossos resultados sugerem uma estrita relação entre a variação do padrão das espículas e o hábitat preferencial dessas espécies (Velloso *et al.*, 2005). As similaridades encontradas entre *S. mikani* e *I. cenchoa* podem estar relacionadas com a capacidade de se locomoverem em ambientes que requerem um maior grau de atrito. De acordo com Hazel *et al.* (1999), o arranjo microestrutural ordenado pode funcionar para obter o sucesso na missão de conseguir as características friccionalis de adaptação. Espículas grandes e agudas como as encontradas em *I. cenchoa* poderiam aumentar o poder de fixação da escama na superfície vertical durante a escalada no tronco de uma árvore, por exemplo. Da mesma forma a microornamentação das escamas de *S. mikani* pode promover uma melhora da eficiência durante a locomoção no solo. Para Hazel *et al.* (1999), o raio de curvatura das espículas induz o atrito da frente para trás e serve como um efetivo bloqueio do movimento para trás.

Price (1982) encontrou similaridades morfológicas na microornamentação das escamas em serpentes de habitats aquático e arbóreo, e aquático e fossório, concluindo que as microornamentações têm função mais taxonômica do que adaptativa. Martínez e Hernández (1999) propõem que os padrões encontrados nas escamas das espécies de serpentes Colubridae *L. a. annulata*, de hábito arbóreo, e *L. a. ashmeadii*, de hábito terrícola, estão em concordância com as conclusões de Price (1982) de que as microestruturas das escamas dorsais não estão relacionadas com o hábitat preferencial de cada espécie. Porém, Martínez e Hernández (1999), no mesmo trabalho, afirmam que as espículas encontradas nas escamas de *L. a. annulata* são maiores do que as encontradas em *L. a. ashmeadii*. Mesmo quando a forma microestrutural é similar, o padrão de distribuição e a organização são diferentes, o que proporciona uma

microestrutura própria de cada serpente (Arroyo & Cerdas, 1985). Talvez as diferentes características derivadas possam ser “escolhidas” pela seleção natural se elas promovem uma vantagem no desempenho, em situações particulares (Arnold, 2002).

A microornamentação da superfície das escamas das serpentes *H. modestus*, provavelmente pode ajudar na ocupação do ambiente aquático, por esta espécie. Espículas menores, de aspecto serrilhado, em fileiras sobrepostas bem mais afastadas umas das outras, possivelmente auxiliariam na diminuição da força de resistência provocada pelo movimento na água. Da mesma forma, as covas muito rasas na superfície das escamas, sugerem um aumento do desempenho hidrodinâmico da serpente.

Chiasson e Lowe (1989) sugeriram que as covas presentes sobre a superfície das escamas, de serpentes aquáticas da família Colubridae, podem reter substâncias impermeabilizantes, especulação esta baseada na descoberta de ácidos graxos presentes na cobertura das escamas dessas serpentes. Segundo Hazel *et al.* (1999), o sistema contínuo de microporos penetrando através da pele da serpente pode funcionar como um sistema de liberação de uma mistura lipídica para a lubrificação antiadesiva. É provável que esses ácidos graxos (ou similares) também possam ser encontrados nas escamas de *H. modestus*, mas somente trabalhos posteriores trariam respostas para esta hipótese.

Para Žižka (2002), as observações de diferenças nos padrões vistos em escamas de serpentes Colubridae, através de um número limitado de espécies, indicaram que existem modelos específicos para cada espécie, embora os efeitos do ambiente não devam ser desprezados. De acordo com Velloso *et al.* (2005), a observação de padrões microestruturais extremamente divergentes em serpentes permite concluir que, durante a evolução, surgiram modificações não apenas em aspectos visíveis, mas também, em microestruturas e que tais alterações permitiram aos organismos uma adaptação ótima ao nicho ambiental no qual vivem. Existem muitos registros a respeito dos possíveis efeitos do ambiente e do habitat ocupado sobre a morfologia das escamas de serpentes (Price 1982). Stewart & Daniel (1973) ressaltam que as diferenças nas microornamentações poderiam dar uma interpretação funcional. As investigações da significância adaptativa em casos de divergências morfológicas podem fornecer idéias de novos complexos adaptativos dentro da evolução (Williams & Peterson, 1982).

5 CONCLUSÃO

Concluimos que as espículas observadas nas escamas *Sibynomorphus mikani* e *Imantodes cenchoa* apresentaram um aspecto relativamente similar. Isso parece ter uma importância significativa em serpentes como estas, de hábitos respectivamente terrícolas e arbóreos, já que estas requerem maior atrito para locomoção.

Por outro lado, nas espécies de hábitos aquáticos e fossórios, *Helicops modestus* e *Atractus pantostictus*, observou-se padrões microestruturais que podem favorecer a vida em ambientes onde o atrito excessivo prejudicaria a locomoção do animal.

As quatro espécies apresentaram diferenças significativas nas microestruturas existentes na superfície das escamas. Levando a crer que essas diferenças talvez sejam, realmente, resultado pressões sofridas pelo ambiente e que tais mudanças atuaram influenciando no modo de vida, determinando assim os espaços nos ecossistemas mais favoráveis a sobrevivência desses animais. As contribuições dos estudos das microestruturas podem fornecer dados de grande importância para responder uma série de questões referentes à adaptação dos Squamata, aos mais variados habitats.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALBOREA, A. B. P., 1999. **Padrões de atividade em serpentes não peçonhentas de interesse médico *Helicops modestus* (Colubridae: Xenodontinae) e *Liophis miliaris* (Colubridae: Xenodontinae) e sua relação com a Epidemiologia.** Dissertação de Mestrado, Centro de Pós-Graduação, Pesquisa e Extensão da Universidade Guarulhos-CESPE-UnG. Guarulhos, SP. 70p.
- AMARAL, A. F., 1970. **Serpentes do Brasil – Iconografia colorida.** Melhoramentos. São Paulo 246p.
- ARNOLD, E. N. 2002. History and function of scale microornamentation in lacertid lizards. **Journal of Morphology.** 252:145-169.
- ARROYO, O. & CERDAS, L., 1985. Microestructura de las escamas dorsales de nueve especies de serpientes costarricenses(Viperidae). **Revista de Biología Tropical** 34 (1) 123-126.
- AUBRET, F.; SHINE, R. & BONNET, X., 2004. Evolutionary biology: adaptive developmental plasticity in snakes. **Nature** 431: 261-262.
- CADLE, J. E. 1984a. Molecular systematic of Neotropical xenodontine snakes: I. South American xenodontines. **Herpetologica** 40: 21-30.
- CADLE, J. E. 1985. The Neotropical colubrid snake fauna (Serpentes: Colubridae): lineage components and biogeography. **Systematic Zoology** 34: 1-120.
- CALAMANTE, C.; RUIZ GARCÍA, J. ; ALVAREZ, B. 2005. **Morfología de la Oberhäuchen de *Typhlops brongersmianus* (Squamata. Serpentes).** Universidad Nacional Del Nordeste – Comunicaciones Científicas y Tecnológicas resumen: B-061.
- CHIASSON, R.B. & LOWE, C.H., 1989. Ultrastructural scale patterns in *Nerodia* and *Thamnophis*. **Journal of Herpetology** 23: 109-118.
- DIXON, J. R. & SOINI,P., 1977. The reptiles of the upper Amazon basin, Iquitos region, Peru. II. Crocodilians, turtles and snakes. **Milwaukee Public Museum Publications in Biology and Geology** 12: 1-71.
- DOWLING, H. P., I. GILBOA, D. E. GENNARO & J. F. GENNARO, 1972. Microdermatoglyphics: a new tool reptile taxonomy. **Herpetological Review** 4: 200.

- FRANÇA, F.G. R. & ARAÚJO, A. F. B., 2007. Are there co-occurrence patterns that structure snake communities in Central Brazil? **Revista Brasileira de Biologia** 67(1): 33-40.
- FRANCO, F. L. & FERREIRA, T. G. 2002. Descrição de uma nova espécie de *Thamnodynastes Wagler*, 1830 (Serpentes, Colubridae) do nordeste brasileiro, com comentários sobre o gênero. **Phyllomedusa** 1(2): 57-74.
- GANS C. & BAIC D., 1977. Regional specialization of reptilian scales surfaces: relation of texture and biologic role. **Science** 195: 1348-1350.
- GOWER, D. J., 2003. Scale microornamentation of uropeltid snakes. **Journal of Morphology** 258(2): 249-268.
- GREENE, H. W., 1997. **Snakes: The evolution of mystery in nature**. University of California Press, Berkley, Los Angeles, London 351p.
- HARVERY, M. B. 1993. Microstructure, ontogeny, and evolution of scale surface in xenosaurid lizards. **Journal of Morphology** 216: 161-177.
- HARVERY, M. B. & GUTBERLET JR., R. L., 1995. Microstructure, Evolution, and Ontogeny of Scales in Cordylid and Gerrhosaurid Lizards. **Journal of Morphology**. 226: 121-139.
- HAZEL, J.; STONE, M.; GRACE, M. S. & TSUKRUK, V.V. 1999. Nanoscale design of snake skin for reptation locomotions via friction anisotropy. **Journal of Biomechanics** 32(5): 477-484.
- HOGUE, A. R. & SANTOS P. S., 1953. Submicroscopic structure of “stratum corneum” of snakes. **Science** 118: 410-411.
- LAPORTA-FERREIRA, I. L.; SALOMÃO, M. G. & SAWAYA, P., 1986. Biologia de *Sibynomorphus* (Colubridae – Dipsadinae) – Reprodução e hábitos alimentares. **Revista Brasileira de Biologia** 46(4) 739-799.
- LAUDER, G. V., 1990. Functional morphology and systematic: Studying Functional Patterns in an Historical Context. *Annual Review of Ecology, evolution, and Systematics*. V.21, p.317-340.
- MANDERSON, P. F., 1966. Histological changes in the epidermis of the tokay (Gecko *gecko*) during the sloughing cycle. **Journal of Morphology** 119: 39-50.
- MARQUES, O. A. V., 1998. **Composição faunística, história natural e ecologia de serpentes da mata atlântica, na região da Estação Ecológica Juréia-itatins, São Paulo, SP**. Teses de Doutorado do Departamento de Zoologia do Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo – USP. 135p.

- MARTÍNEZ, D. R.; HERNÁNDEZ, M., 1999. Contribuicion al conocimiento Del gênero *Leptodeira* (Serpentes, Colubridae) in Venezuela. *Acta Biol. Venez.* 19(3): 11-18.
- MARTINS, M., 1994. **Historia natural e ecologia de um taxocenose de serpentes de mata na região de Manaus, Amazônia Central, Brasil.** Tese de Doutorado, Universidade de Campinas, Campinas, São Paulo. 99p.
- PETER, J. A. & OREJAS-MIRANDA, B., 1970. **Catalogue of the Neotropical Saquamata. Parte I. Snakes.** Reprint of United States National Museum Bulletin 297: 1-347.
- PETERSON, J. A. 1985. The microstructure and evolution of scale surfaces in xantusiid lizards. *Herpetologica* 41: 298-324.
- PORTER, W. P. 1967. Solar radiation through the living body walls of vertebrates, with emphasison desert reptiles. *Ecological Monographs* 37: 273-296.
- POUGH, F. H. ; JANIS, C. M. & HEISER, J. B. 2003. **A Vida dos Vertebrados.** 3ª ed. Atheneu Editora São Paulo, 307p.
- PRICE, R.M., 1982. Dorsal snake scale microdermatoglyphics: ecological indicator or taxonomic tool? *Journal of Herpetology* 16(3): 294-306.
- RIBAS, S. C.; VELOSO, A. L. R.; TEIXEIRA-FILHO, P.; ROCHA-BARBOSA, O.; EVANGELISTA, E. & SANTOS, E. A. dos, 2004. Structure of Claws and toes of two tropidurid lizardspecies of Restinga from Soustheastern Brazil: adaptations to the vertical use of the habitat. *Revista Chilena de História natural* 77: 599-606.
- RENOUS, S.; GRASC, J. P. & DIOP, A. 1985. Microstructure of the tegumentary surface of the Squamata (Reptilia) in relation to their spatial position and their locomotion. *Fortschritte der Zoologie* 30: 487-489.
- RICKLEFS, R.E. & MILES, D.B., 1994. **Ecological and evolutionary inferences from morphology: an ecological perspective.** In: Wainwright, P.C.; Reilly, S.M. (eds.). *Ecological morphology: integrative organismal biology.* Chicago University Press, Chicago, 13-41 p.
- RUBIAL, R. 1968. The ultrastructure of the surface of lizard scales. *Coipea* 4: 698-703.
- SALOMÃO, M. D. G. & LAPORTA-FERREIRA, I. L.; 1994. The role of secretions from the supralabial, infralabial, and duvernoys glands of the slug-eating snake *Sibynomorphus mikani* (Colubridae, Dipsadinae) in the immobilization of molluscan prey. *Journal of Herpetology* 28: (3) 369-371.

- SMITH, H.M.; DUVALL, D.; GRAVES, B. M.; JONES, R.E. & CHISZAR, D. 1982. The Function of Squamate Epidermatoglyphics. **Bulletin of the Philadelphia Herpetological Society** 30: 3-8.
- STEWART, G.R. & R.S DANIEL, 1973. Scanning electron microscopy of scales from different body regions of three lizard species. **Journal of Morphology** 139: 377-388.
- STEWART, G.R. & R.S DANIEL, 1975. Microornamentation of lizard scales: some variations and taxonomic correlations. **Herpetologica** 31; 117-130.
- STORER, T. I.; USINGER, R. L.; STEBBINS, R. C.; NYBAKKEN, J.W. 1995. **Zoologia geral**. 6 ed. Editora Nacional, 646p.
- STRÜSSMAN, C., 1992. **Serpentes do Pantanal de Paconé, Mato Grosso: Composição faunística, história natural e ecologia comparada**. Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual de Campinas. 125p.
- TEIXEIRA-FILHO, P.; ROCHA-BARBOSA, O.; PAES, V.; RIBAS, S. C. & DE ALMEIDA, J. R., 2001. Ecomorphological relationship in six lizards species of Restinga da Barra de Maricá, Rio de Janeiro, Brasil. **Revista Chilena de Anatomía** 19(1): 45-50.
- VELLOSO A. L. R.; LOUGUERCIO M. F. C. & ROCHA-BARBOSA O., 2005. Muito além dos nossos olhos. **Ciência hoje** 212(36): 61-63.
- WAINWRIGHT, P. C., 1991. Ecomorphology: Experimental functional anatomy for ecological problems. **American Zoologist** v.31, p. 680-693.
- WAINWRIGHT, P. C. & REILLY, S. M., 1994. Ecological morphology: Integrative Organismal Biology. **Chicago University Press, Chicago** 10(5):217-218.
- WILLIAMS, E. E. & PETERSON, J. A., 1982. Convergent and Alternative Designs in the Digital Adhesive Pads of Scincid Lizards. **Science** 215: 1509-1511.
- ZAHER, H. 1999. Hemipenial morphology of the South American Xenodontinae snakes, with a proposal for a monophyletic Xenodontinae and a reapraisal of Colubroid hemipenes. **Bulletin of the American Museum of Natural History** 240: 1-168.
- ŽIŽKA, K. 2002. Possibilities of RCH-microscopy in the reptilian research. **Folia Zoologica** 51(3): 249-252.

7 ANEXOS

Anexo A – Capa da revista onde foi publicado o resumo, *Análise da microestrutura de escamas de serpentes Xenodontinae em associação à ocupação de diferentes microhabitats*.



Anexo B – Página onde foi publicado o resumo. Texto na parte superior da segunda coluna.

ANALYSIS OF THE SEMINAL VARIABLE IN A POPULATION OF INFERTILE MEN. Pasqualotto FF, Pasqualotto, E. B.; Moreira, C. J.; Giron, P.A.; Polesso, H.; Tomazi, T. & Basegio, V. M. University of Caxias do Sul - Brazil. Center of Biological Sciences and Health. Department of Biomedical Sciences. Medical Graduation, Brazil.

The espermograma is the basic rock of the evaluation of the infertile man; however it cannot be considered a fertility test because in up to 25% of the infertility cases the spermograma is considered normal and the tests of spermatoc function are altered. And amongst the most common causes of masculine infertility, such as: production or inadequate excretion of spermatozoids, low espermatic motility, spermatoc infection, antibodies anti-spermatozoids, varicocele, blockage of the genital tract, criptorquidia, alterations of the ejaculatory channel, hormonal alterations, it is believed that the spermatoc morphology is the characteristic that presents greater predictive value for pregnancy. The objective of our study was to evaluate 373 seminal analysis of men submitted to the inquiry of masculine infertility in the northeast region of the state of the Rio Grande Do Sul, Brazil and to compare them with the standards established for the World Health Organization referring to the main seminal characteristics: concentration, motility and spermatoc morphology. There had been evaluated, retrospectively, 373 consecutive handbooks of patients who had been directed for evaluation of the infertility in the period of September of 2002 the May of 2005 at the Conception Center for Human Reproduction, in the city of Caxias do sul. The average age of the men was 38,6 years with 4,9 years above or below the average. The seminal variable were evaluated in accordance with the criteria of the OMS: oligozoospermia: concentration inferior to 20 million spermatozoids/ml, astenozoospermia: motility inferior to 10% and teratozoospermia: morphology modified in more than 30% of the spermatozoids. The patients had been divided in 8 groups: azoospermia (without spermatozoids), oligoastenoteratozoospermia (spermatozoids in low concentration, with little motilidade and of abnormal forms), astenoteratozoospermia (abnormal spermatozoids with little motilidade and forms), oligoteratozoospermia (spermatozoids in low concentration and of abnormal forms), teratozoospermia (spermatozoids of abnormal forms), oligoastenozoospermia (spermatozoids in low concentration and with little motilidade), astenozoospermia (spermatozoids with little motilidade), oligozoospermia (spermatozoids in low concentration), and normozoospermia (normal spermatozoids). There had been found: azoospermia (n = 36, 9.65%), oligoastenoteratozoospermia (n = 61, 16.35%), astenoteratozoospermia (n = 55, 14.74%), oligoteratozoospermia (n = 25, 6.7%), teratozoospermia (n = 62, 16.62%), oligoastenozoospermia (n = 9, 2.4%), astenozoospermia (n = 15, 4.02%), oligozoospermia (n = 13, 3.5%), and normozoospermia (n = 93, 24.93%). In such a way, 54.41% of the patients (n = 203) present reduction of the number of normal spermatozoids, 28.95% (n = 108) patient presented reduction in the concentration of spermatozoids and 37.51% of the patients (n = 140) presented reduction of the spermatoc motility. This study demonstrates that amongst studied causes for male infertility the isolated criteria that more is modified is the spermatoc morphology, confirming what was expected. Moreover, one fourth of the infertile patients presents a normal seminal analysis, demonstrating that, probably in these cases of normozoospermia, the alterations occur only in the function of the spermatozoid.

Key words: Seminal variables; Spermatozoids.

ANALYSIS OF THE MICROSTRUCTURE OF XENODONTINAE SNAKE SCALES IN ASSOCIATION TO DIFFERENT STRATEGIES ON HABITAT OCCUPATION. Ramon Brum de Moraes e Silva¹ & Oscar Rocha-Barbosa¹. 1- Instituto de Biologia Roberto Alcantara Gomes, Departamento de Zoologia, Laboratório de Zoologia de Vertebrados (Tetrapoda), Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Brazil.

The morphology of many organisms seems to be related to the environment they live in. Nonetheless, many snakes are so similar on their morphological patterns that it becomes really difficult to distinguish any adaptive divergence that may exist. Many authors suggest that the microornamentations on the scales of reptiles have important functional value. Here, we examined variations on the micromorphology of the exposed oberhautchen surface of dorsal, lateral, and ventral scales from the midbody region of Xenodontinae snakes: *Sibynomorphus mikani* (terrestrial), *Imantodes cenchoa* (arboreal), *Helicops modestus* (aquatic) e *Atractus pantostictus* (fossorial). Later, they were metalized and analyzed through SEM. All species displayed similar microstructures, such as small pits and spinules which are often directed to the scale caudal region. On the other hand, there were some singular differences on the shape and microstructural pattern of the scales of each species. *S. mikani* and *I. cenchoa* have larger spinules arranged in line which overlap the following layers on scale surfaces. Species with large dentate borders are expected to have more frictional resistance from the caudal-cranial direction of the scales. This can favor life on environments which require more friction, facilitating locomotion. In *H. modestus*, the spinules are smaller and farther away from the posterior lines, which must help on reducing water resistance during swimming. The shallower small pits found in this species can retain impermeable substances, like on aquatic Colubridae snakes. The spinules adhered to the caudal scales of *A. pantostictus* seem to form a more regular surface, which must aid their fossorial locomotion, reducing scale-ground friction. Our data seem to reinforce the idea of the functional microstructural importance, contributing to the snakes adaptation to their preferential microhabitats.

Financial Support: FAPERJ, PROCIENCIA/UERJ.

Key words: Scales, Snake; SME.

ANALYSIS QUANTITATIVE OF THE MENISCOTIBIAL LIGAMENT IN HUMAN CORPSES. Cunha, M.G.A.T.; Alves, J.N.; Rodrigues, M.S.; Silva, M.A.S.; Trajano, E.T.L.; Ferreira, T.A.; Bezerra, F.S. Human Anatomy Institute. Universidade Severino Sombra - Vassouras, RJ, Brazil.

The meniscotibial ligament, also called coronary of the knee, is constituted by capsular fibers that have proximal origin in the lateral border of the meniscus and distal origin in the lateral border of the tibial condyle. Some authors consider its fibers as being capsule portion; however for Georges *et al.* (1984), the related ligament is below of the capsule, it's fixing the meniscus to the tibial plateau. In this work the meniscotibial ligament in tibio-femoral joints fixed in

Anexo C – Manuscrito do artigo aceito para publicação.

**ANALYSIS OF THE MICROSTRUCTURE OF XENODONTINAE SNAKE SCALES
ASSOCIATED TO DIFFERENT HABITAT OCCUPATION STRATEGIES**

OSCAR ROCHA-BARBOSA^{1,2} and RAMON BRUM DE MORAES E SILVA^{1,2}

¹Laboratório de Zoologia de Vertebrados (Tetrapoda), Departamento de Zoologia, Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rua São Francisco Xavier 524, Maracanã, 20550-013, Rio de Janeiro, Brazil. ² Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, UFRRJ, Brazil.

(1 Figure)

Key words: scales, microstructure, snakes, Xenodontinae, SEM.

Palavras-chave: escamas, microestrutura, serpentes, Xenodontinae, MEV.

Running Title: Analysis of the microstructure of Xenodontinae snakes

Correspondence to:

Oscar Rocha-Barbosa, Ph.D.

Universidade do Estado do Rio de Janeiro

LAZOVERTE - Laboratório de Zoologia de Vertebrados -Tetrapoda

PHLC sl. 522a – Departamento de Zoologia, IBRAG

Rua São Francisco Xavier, 524 Maracanã

20550-013 Rio de Janeiro, RJ – Brasil

Abstract

The morphology of many organisms seems to be related to the environment they live in. Nonetheless, many snakes are so similar in their morphological patterns that it becomes quite difficult to distinguish any adaptive divergence that may exist. Many authors suggest that the microornamentations on the scales of reptiles have important functional value. Here, we examined variations on the micromorphology of the exposed *oberhautchen* surface of dorsal, lateral, and ventral scales from the midbody region of Xenodontinae snakes: *Sibynomorphus mikani* (terricolous), *Imantodes cenchoa* (arboreal), *Helicops modestus* (aquatic) and *Atractus pantostictus* (fossorial). They were metallized and analyzed through scanning electron microscopy. All species displayed similar microstructures, such as small pits and spinules, which are often directed to the scale caudal region. On the other hand, there were some singular differences in scale shape and in the microstructural pattern of each species. *S. mikani* and *I. cenchoa* have larger spinules arranged in a row which overlap the following layers on the scale surface. Species with large serrate borders are expected to have more frictional resistance from the caudal-cranial direction. This can favor life on environments which require more friction, facilitating locomotion. In *H. modestus*, the spinules are smaller and farther away from the posterior rows, which should help reduce water resistance during swimming. The shallower small pits found in this species can retain impermeable substances, as in aquatic Colubridae snakes. The spinules adhering to the caudal scales of *A. pantostictus* seem to form a more regular surface, which probably aid their fossorial locomotion, reducing scale-ground friction. Our data appear to support the importance of functional microstructure, contributing to the idea of snake species' adaptation to their preferential microhabitats.

ANÁLISE DA MICROESTRUTURA DE ESCAMAS DE SERPENTES XENODONTINAE EM ASSOCIAÇÃO À OCUPAÇÃO DE DIFERENTES MICROHABITATS - A morfologia de muitos organismos parece estar relacionada ao ambiente em que eles vivem. No entanto, muitas serpentes são tão similares nos seus padrões morfológicos que se torna difícil distinguir qualquer divergência adaptativa existente. Muitos autores sugerem que as microornamentações nas escamas de répteis possuem importante valor funcional. Neste trabalho, examinamos variações na micromorfologia da superfície *oberhautchen* exposta das escamas ventrais, laterais e dorsais da região medial de serpentes Xenodontinae: *Sibynomorphus mikani* (terrestre), *Imantodes cenchoa* (arbórea), *Helicops modestus* (aquática) e *Atractus pantostictus* (fossorial). Estas foram metalizadas e analisadas por microscopia eletrônica de varredura. Todas as espécies apresentaram microestruturas similares, tais como microcovas e espículas, que estão normalmente orientadas para a região caudal da escama. Por outro lado, houve algumas diferenças singulares em relação ao formato da escama e padrão microestrutural da cada espécie. *S. mikani* e *I. cenchoa* possuem espículas grandes arrumadas em linhas que sobrepõem as camadas seguintes da superfície da escama. Em espécies que possuem longas denticulações sobrepostas sobre as bordas posteriores das células, é esperado que haja uma maior resistência friccional da direção posterior para anterior das escamas. Isso pode favorecer a vida em ambientes que precisam de maior atrito, facilitando a locomoção. Em *H. modestus*, as espículas são menores e mais afastadas das linhas posteriores, o que pode reduzir o atrito com a água durante a natação. As microcovas mais rasas encontradas nesta espécie podem reter substâncias impermeáveis, como nas serpentes Colubridae aquáticas. As espículas que aderem às escamas caudais de *A. pantostictus* parecem formar uma superfície mais regular, o que provavelmente auxilia na locomoção fossorial, reduzindo o atrito com o solo. Nossos dados parecem corroborar a importância da microestrutura funcional, contribuindo para a hipótese de adaptação das espécies de serpentes aos seus microhabitats preferenciais.

Introduction

The morphology of organisms is generally well matched to the environment, supposedly because expression of their genes is tailored at the population or at the individual level to suit local conditions (Aubret *et al.*, 2004). Teixeira-Filho *et al.* (2001) associated the use of different microhabitats, terrestrial occupation and occupation of smooth bromeliad leaf surfaces to variations in claw curvature of lizard species inhabiting *restinga* habitats. However, many snakes and other Squamata are so similar in their morphological patterns that it becomes difficult to distinguish adaptive divergences, since they are imperceptible to the naked eye.

Electron microscopy thus becomes a very important tool in uncovering such differences, for it allows the analysis of microstructures present in squamates. Several recent studies have suggested a functional significance for microornamentation (Manderson, 1966; Porter, 1967; Steward and Daniel, 1973; Gans and Baic, 1977; Smith *et al.*, 1982; Renous, *et al.*, 1985; Gower, 2003) or have simply described microanatomy (Arroyo and Cerdas, 1985; Chiasson and Lowe, 1989; Velloso *et al.*, 2005). Microstructures have also been used as tools in taxonomy (Hogue and Santos 1953; Dowling *et al.*, 1972; Stewart and Daniel, 1975) and in ontogenetic and/or evolutionary studies of squamates (Peterson, 1985; Harvery 1993; Harvery and Gutberlet Jr, 1995).

Studies on the relationship between ecology and morphology (i.e., ecomorphology) of animals may account for some natural selection issues based on the partitioning of resources, such as space and food in a given community (Ribas *et al.*, 2004).

This work aimed to verify the existence of microstructure variation on the surface of scales of Xenodontinae snakes occupying different microhabitats (terricolous, arboreal, aquatic and fossorial), to search for the existence of ecomorphological relations between the species studied and their environment.

Material and Methods

Eighty-three adult specimens of four species of snakes of subfamily Xenodontinae were analyzed: nineteen adult specimens of *Sibynomorphus mikani* (Schlegel, 1837) (12 females and 7 males; terricolous); twenty adult specimens of *Atractus pantostictus* (Boulenger, 1885) (9 females and 11 males; fossorial); seventeen adult specimens of

Imantodes cenchoa (Linnaeus, 1758) (11 females and 6 males; arboreal) and twenty-seven adult specimens of *Helicops modestus* (Günther, 1861) (16 females and 11 males; aquatic). All of them consisted of museum specimens from the Alphonse Richard Hoge collection at the Instituto Butantan (IB).

In an attempt to avoid errors derived from phylogenetic factors, the species chosen all belong to the same subfamily (Xenodontinae).

Dorsal, lateral and ventral scales were taken from the mid-region of the body of five adult individuals (males, 2 scales, and females, 3 scales) of each species. The scales were placed in numbered tubes and duly identified for each species. Distilled water and neutral soap were added to the tubes. Each tube was manually shaken for about 1 minute to remove any probable impurities. Scales were then removed, washed and left to dry at room temperature for about 5 minutes.

Aluminum plates of 2 cm² were fashioned, to which scales were affixed with double-faced adhesive tape. The plates featured numbered quadrats to identify the species and the body part from which scales were removed, for each snake. This method allowed observation of a greater number of scales per session of scanning electron microscopy (from 5 to 6 scales per session).

The material was metallized using a Balzers® FL-9496 metallizer. Scales were later analyzed and photographed under a scanning electron microscope (SEM) under various magnifications. Aspects such as border microstructure and format of scale surfaces were observed.

Results

The borders of all scales analyzed were smooth, i.e., without any type of protuberance or depression. However, on the dorsal scales of *Atractus pantostictus*, a totally smooth area was detected on the border surface, following the contour of the scale body microornamentation (Fig. 1A). This pattern was observed only in this species.

Microstructure of scale surfaces revealed structures common to all the species investigated, such as spinules and pits, but the way in which these structures were disposed provided microstructural models that expressed particularities of scale microanatomy for each species studied.

Most scales have a surface covered with rows of elongated plates, which overlap like roof tiles. A great number of spinules project over the next plates of the upper plates' lower border. Spinules are always oriented toward scale caudal direction. The great number of pits present on the surface of the scales is also frequent.

In *S. mikani* the spinules, large and pointed (Fig 1B), resemble the teeth of a comb. The pits on the surface of the scales are similar to those found on the snake *Imantodes cenchoa* (Fig. 1C).

Atractus pantostictus presented scales with a singular microstructural pattern. Spinules are evident, but seem to be fused to the posterior plates, forming a more uniform surface, without exposed denticulations (Fig. 1D). The pits were not observed in scales of this species.

In the snake *H. modestus*, plate borders were a good deal more distant from one another than in the other species studied. In addition, observing the surface of the plates it was possible to see that the pits present seem to be shallower than the pits in *S. mikani* and *I. cenchoa*. Another important datum is that in *H. modestus* the spinules present at the border of plates are much smaller (characterizing a serrated border) than in the other species (Fig. 1E).

Discussion

The locomotory specializations of snakes reflect differences in their morphology, associated to different modes of predation and the properties of the substrates on which they move (Pough *et al.*, 2003). Spinules and pits may help to increase attrition in reptiles that live on rocks, such as some squamates. Structures such as longitudinal ridges characteristic of limbless squamates or short legs may facilitate locomotion on inclined surfaces (Smith *et al.*, 1982). This entitles us to suppose that environmental pressures have a significant influence not only on the animal's macrostructure, but on its microstructure as well.

Stewart and Daniel (1973) have reported that the smooth scales observed in the fossorial lizard *Anniella pulchra* may confer greater efficiency to ground locomotion, by reducing attrition. The microstructures on the scales of *Atractus pantostictus* seem to be arranged so as to aid in reducing attrition during ground locomotion. The spinules fused to the lower layer of the next row form a less irregular and thus smoother surface when compared to

the scales of *I. cenchoa*, *S. mikani* and *H. modestus*. Reduced friction promotes efficiency in lateral undulation (Gans and Baic, 1977).

Analyzing scale microstructure in snakes of family Uropeltidae, Gower (2003) proposed that a “smoother” and more regular microornamentation may confer advantages to underground living, possibly by reducing the adhesive force of moist soils on these snakes’ scales.

Additionally or alternatively, in species that have long denticulations overlapping the posterior borders of each spinule row, greater frictional resistance of scales from the posterior to the anterior direction is to be expected (Gower, 2003). These features should have significant importance in terricolous and arboreal snakes, since they require greater attrition for locomotion, in contrast to, e.g., aquatic snakes, in which excessive attrition hampers locomotion.

In *S. mikani* and *I. cenchoa* a variation in the concentration and size of spinules, as well as in the spaces between them, can be seen. Both belong to subfamily Xenodontinae and are nocturnal, but differ as to their preferred niche: *Sibynomorphus mikani* lives on the ground, while *I. cenchoa* inhabits tree tops. Comparing to other species in the same subfamily, our results suggest a strict relationship between spinule variation pattern and these species’ preferred habitats (Velloso *et al.*, 2005).

The similarities found between *S. mikani* and *I. cenchoa* may be related to their capacity to move in environments requiring a greater degree of attrition. Large spinules in scales, such as those found in *I. cenchoa* (Fig. 1C), could increase anchorage when climbing for instance a tree trunk, and the microornamentation on the scales of *S. mikani* (Fig.1B) may promote increased efficiency in ground locomotion.

Price (1982) found morphological similarities in the microornamentation of the scales of aquatic, arboreal, and fossorial snakes, and concluded that microornamentation has a more taxonomic than adaptive function. However, it is likely that small differences in microstructure conformation may bring great benefit to the occupation of distinct microhabitats, and during squamate evolution synapomorphies may have arisen giving the same solution to different adaptive problems. Even when the microstructural form is similar, the distribution and organization pattern differ, which gives a characteristic microstructure to each snake (Arroyo and Cerdas, 1985).

Gower (2003) does not discard the idea that variation in scale microstructure corresponds to different environmental conditions to which the organisms were exposed

during the acquisition of these microornamentations. The study of microstructural variation thus must take into account the effects of selective pressures brought about by the peculiarities of each environment.

Microornamentation in the scale surface of the snake *H. modestus* probably can help in its adaptation to the aquatic environment. Smaller spinules, of serrated aspect, disposed in overlying rows, much farther from one another, possibly help in diminishing the resistance generated by water movement, and the quite shallow pits on the scale surfaces suggest an improvement in the snake's hydrodynamic performance.

Chiasson and Lowe (1989) have suggested that the pits present on the scale surface of Asiatic aquatic Colubridae may contain impermeabilizing substances. These authors based themselves on the discovery of fatty acids present in the surface of these snakes' scales. It is likely that these fatty acids (or similar) may also be found in the scales of *H. modestus*, but only further studies can provide data to test this hypothesis.

Observation of widely diverging microstructural patterns allows us to conclude that, over the course of evolution, modifications arose not only in visible aspects, but also in microstructures, and that such alterations allowed optimal adaptation of organisms to their environmental niche (Velloso *et al.*, 2005). Stewart and Daniel (1973) underscore that differences in microornamentation allow a functional interpretation. Williams and Peterson (1982) state that the investigation of significant adaptation in cases of morphological divergences may provide ideas of new evolutionary adaptive complexes.

The four species studied presented several striking differences in the microscopic form of scales, suggesting that these differences may actually be the result of environmental selective pressures, and that such changes acted positively, influencing the life mode and determining the ecosystem spaces more favorable to these animals' survival. The contributions from the study of microstructure may provide important data to answer a series of questions related to the adaptation of squamates to the most diverse habitats.

Acknowledgements

FAPERJ (Proc. N° E-26/171.310/2001) for financial support. Prof. Gustavo Aveiro Lins (UERJ), Maria da Graça Salomão, Giuseppe Puerto and Valdir José Germano (IB) for

technical support. Humberto Moura-Neto, for help with the English translation.
PROCIÊNCIA/UERJ Program. CRBio 02085/84.

References

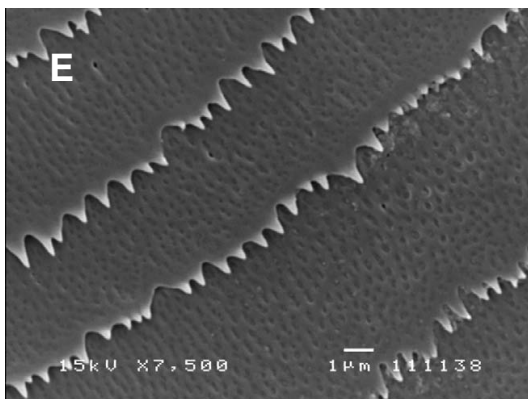
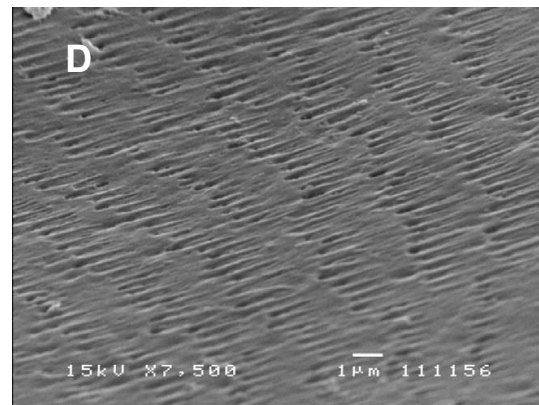
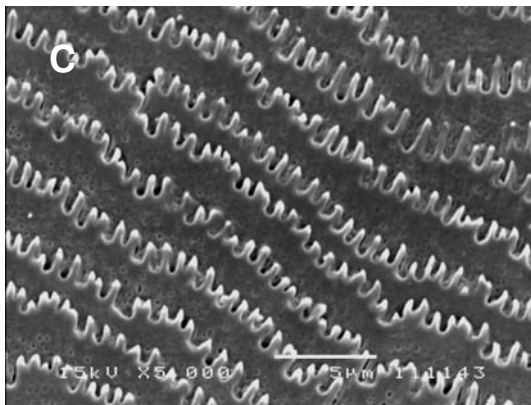
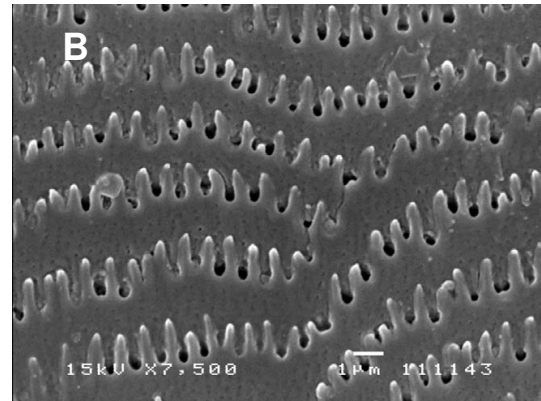
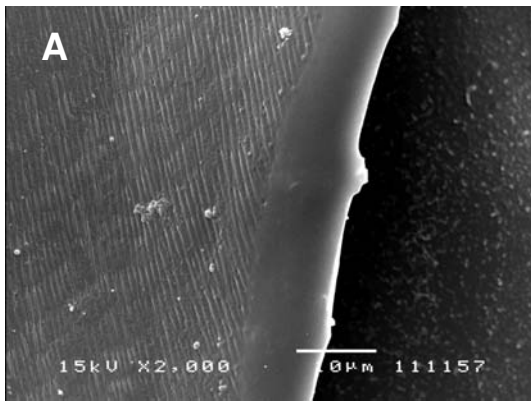
- ARROYO, O. and CERDAS, L., 1985. Microestructura de las escamas dorsales de nueve especies de serpientes costarricenses (Viperidae). *Rev. Biol. Trop.* Vol. 34 no.1, p.123-126.
- AUBRET, F.; SHINE, R. and BONNET, X., 2004. Evolutionary biology: adaptive developmental plasticity in snakes. *Nature*, vol. 431, p. 261-262.
- CHIASSON, RB. and LOWE, CH., 1989. Ultrastructural scale patterns in *Nerodia* and *Thamnophis*. *J. Herpetol.*, vol. 23, p. 109-118.
- DOWLING, HP., GILBOA, I., GENNARO DE. and GENNARO, JF., 1972. Microdermatoglyphics: a new tool reptile taxonomy. *Herpet. Rev.*, vol. 4, p. 200.
- GANS, C. and BAIC, D., 1977. Regional specialization of reptilian scales surfaces: relation of texture and biologic role. *Science*, vol. 195, p. 1348-1350.
- GOWER, DJ., 2003. Scale microornamentation of uropeltid snakes. *J. Morphol.*, vol.258, no. 2, p. 249-268.
- HARVERY, MB., 1993. Microstructure, ontogeny, and evolution of scale surface in xenosaurid lizards. *J. Morphol.*, vol. 216, p. 161-177.
- HARVERY, MB. and GUTBERLET JR., RL., 1995. Microstructure, Evolution, and Ontogeny of Scales in Cordylid and Gerrhosaurid Lizards. *J. Morphol.*, vol. 226, p. 121-139.
- HOGUE, AR. and SANTOS PS., 1953. Submicroscopic structure of "stratum corneum" of snakes. *Science*, vol. 118, p. 410-411.
- MANDERSON, PF., 1966. Histological changes in the epidermis of the tokay (*Gecko gecko*) during the sloughing cycle. *J. Morphol.*, vol. 119, p. 39-50.
- PETERSON, JA., 1985. The microstructure and evolution of scale surfaces in xantusiid lizards. *Herpetol.*, vol.41, p. 298-324.
- PORTER, WP., 1967. Solar radiation through the living body walls of vertebrates, with emphasis on desert reptiles. *Ecol. Monog.*, vol. 37, p. 273-296.
- POUGH, FH.; JANIS, CM. and HEISER, JB., 2003. *A Vida dos Vertebrados*. 3 ed. Atheneu Editora, São Paulo, p. 307.
- PRICE, RM., 1982. Dorsal snake scale microdermatoglyphics: ecological indicator or taxonomic tool? *J. Herpetol.*, vol. 16, no.3, p. 294-306.
- RIBAS, SC.; VELLOSO, ALR.; TEIXEIRA-FILHO, P., ROCHA-BARBOSA, O.; EVANGELISTA, H. and SANTOS, EA., 2004. Structure of claws and toes of two tropidurid lizard species

- of Restinga from Southeastern Brazil: adaptations to the vertical use of the habitat. *Rev. Chil. Hist. nat.*, vol. 77, p. 599-606.
- RENOUS, S.; GASC, J.-P. and DIOP, A., 1985. Microstructure of the tegumentary surface of the Squamata (Reptilia) in relation to their spatial position and their locomotion. *Fortschr Zool.*, vol. 30, p. 487-489.
- SMITH, HM., DUVALL, D., GRAVES, BM., JONES, RE. and CHISZAR, D., 1982. The Function of Squamate Epidermatoglyphics. *Bull. Phil. Herpet. Soc.*, vol. 30, p. 3-8.
- STEWART, GR. and DANIEL, RS., 1973. Scanning electron microscopy of scales from different body regions of three lizard species. *J. Morph.*, vol. 139, p. 377-388.
- STEWART, GR. and DANIEL, RS., 1975. Microornamentation of lizard scales: some variations and taxonomic correlations. *Herpet.*, vol. 31, p. 117-130.
- TEIXEIRA-FILHO, P.; ROCHA-BARBOSA, O.; PAES, V.; RIBAS, SC. and DE ALMEIDA, JR., 2001. Ecomorphological relationship in six lizards species of Restinga da Barra de Maricá, Rio de Janeiro, Brasil. *Rev. Chil. Anat.*, vol. 19, no. 1, p. 45-50.
- VELLOSO ALR.; LOUGUERCIO MFC. and ROCHA-BARBOSA O., 2005. Muito além dos nossos olhos. *Ciência hoje*, vol. 212, no. 36, p. 61-63.
- WILLIAMS, EE. and PETERSON, JA., 1982. Convergent and Alternative Designs in the Digital Adhesive Pads of Scincid Lizards. *Science*, vol. 215, p. 1509-1511.

Legend to the figure

Figure 1, (A) Surface of a dorsal scale of *Atractus pantostictus*, showing an border without apparent microstructures, magnified 2000x; (B) Surface of a lateral scale of *Sibynomorphus mikani* (terricolous), showing the spinules in rows and micropits over the next rows (7500X); (C) Surface of a lateral scale of *Imantodes cenchoa* (arboreal), showing spinules and micropits (5000X); (D) Surface of a ventral scale of *Atractus pantostictus* (fossorial), showing spinules fused to posterior layers (7500X); (E) Surface of a dorsal scale of *Helicops modestus* (aquatic), showing its smaller and serrated spinules, and the shallow micropits (7500X).

Figure 1



Anexo D – Resposta de aceite do artigo para publicação.

Oscar Rocha Barbosa

De: Brazilian Journal of Biology [bjb@bjb.com.br]

Enviado em: quarta-feira, 27 de fevereiro de 2008 10:09

Para: obarbosa@uerj.br

Assunto: Aceitação BJB-134/07

Prioridade: Alta

Prezado(a) Autor(a) Dr(a) **Oscar Rocha-Barbosa**

Pela presente, vimos informar-lhe que seu manuscrito intitulado "**ANALYSIS OF THE MICROSTRUCTURE OF XENODONTINAE SNAKE SCALES ASSOCIATED TO DIFFERENT HABITAT OCCUPATION STRATEGIES**" foi aceito em 25/02/2008 no Brazilian Journal of Biology.

Data prevista para publicação: maio de 2009, ou seja, volume 69.2

Atenciosamente.

Profa. Dra. Takako Matsumura Tundisi

Editora Chefe

Brazilian Journal of Biology