

CONTRIBUCION AL CONOCIMIENTO DEL GENERO *LEPTODEIRA*  
(SERPENTES, COLUBRIDAE) EN VENEZUELA.

CONTRIBUTION TO THE KNOWLEDGE OF THE GENUS *LEPTODEIRA*  
(SERPENTES, COLUBRIDAE) IN VENEZUELA.

Delia Rada de Martínez<sup>1</sup> y Max Hernández<sup>2</sup>

(1) Universidad Central de Venezuela, Facultad de Ciencias, Escuela de Biología, Apartado 21201, Caracas 1021, Venezuela. (2) Instituto Nacional de Higiene Rafael Rangel, División de Producción de Vacunas Bacterianas, Ciudad Universitaria, Los Chaguaramos, Caracas, Venezuela.

RESUMEN

*Leptodeira* es un género neotropical de colúbridos representado en Venezuela por: *Leptodeira annulata ashmeadii*, *L. annulata annulata*, *L. septentrionalis ornata* y *L. bakeri*. En este trabajo se estudió el cariotipo y hemipene de la primera especie y la microestructura de las escamas dorsales de todas las especies. Para el análisis cromosómico se realizaron cultivos de linfocitos sanguíneos, con 10% de suero de ternera y Concanavalina A; al quinto día se añadió Colchicina 10mg/ml por 24 horas, se fijó con Carnoy; se prepararon las láminas y se colorearon con Giemsa. Las metafases fueron fotografiadas con un microscopio Zeiss. Luego se determinó el tipo de cromosomas según Levan y Col., (1964). Se analizaron sólo ejemplares macho. Se realizaron esquemas de los hemipenes con cámara clara. Las escamas se fotografiaron con microscopio electrónico de barrido modelo S-500. Se obtuvo un número diploide de 36 cromosomas: 16 macro y 20 microcromosomas; los pares 1,2,3,4,5,7, y 8 son metacéntricos y el 6 telocéntrico. Los hemipenes son capitados, espinosos y con cálices. En el patrón microestructural de las escamas la queratina se dispone en forma de espinas en serie, siendo las de mayor tamaño las de *L. annulata annulata*. Las escamas presentan dos fosetas apicales en cuya superficie dorsal se observan las fibras de queratina muy juntas entre sí. El patrón cariotípico encontrado es el más frecuente entre las serpientes. Las características de los hemipenes concuerdan con las de la subfamilia Dipsadinae. La microestructura de las escamas es similar a la reportada por Price (1982) como el patrón "echinado".

ABSTRACT

*Leptodeira* is a neotropical genus of colubrid snake represented in Venezuela by 4 species *Leptodeira annulata ashmeadii*, *L. annulata annulata*, *L. septentrionalis ornata* y *L. bakeri*. The present work analyses the karyotype and the hemipenis of the first specie and the microstructure of the dorsal scales of the other species. For the chromosomal analysis there were made blood lymphocyte cultures, with 10% of calf serum and Concanavalin A; at the fifth day it was added Colchicine (10mg/ml) for 24 hours and then fixed with Carnoy, the slides were prepared and coloured with Giemsa. The metaphases were photographed with Zeiss microscope. The chromosomal type was determined by Levan and Col. (1964). There were analyzed only males. The hemipenis were drawn with camera lucida. The scales were photographed with an S-500 scanning electron microscope. A diploid number of 36 chromosomes was obtained, with 16 macro and 20 microchromosomes; the pairs 1,2,3,4,5,7 and 8 are metacentrics and 6 is telocentric. The hemipenis is capitated, spinous and calculated. In the microstructural pattern of the scales the queratin is disposed in spine series and the longest are of *L. annulata annulata*. The karyotypic pattern found is the most common in snakes. The hemipenial characteristics agree with the subfamily Dipsadinae. The microstructure of the scales is similar to the "echinate" pattern reported by Price (1982).

**Palabras clave:** Cariotipo, escamas, hemipenes, Colubridae, *Leptodeira*

**Keywords:** Karyotype, scales, hemipenis, Colubridae, *Leptodeira*.

## INTRODUCCION

Desde hace algún tiempo se han utilizado los cromosomas para tratar de interpretar los procesos evolutivos. En general, el cariotipo de los reptiles se caracteriza por presentar poca variación morfológica debido a una limitada variabilidad en los valores del DNA nuclear y a una evolución cariológica esencialmente génica (Morescalchi, 1970).

Singh (1974) observó que las serpientes presentan un estrecho rango de variación en sus cariotipos. Gorman (1973) considera que el número diploide de cromosomas de este grupo oscila entre 20 y 50, siendo el más frecuente 36 cromosomas (16 macro y 20 microcromosomas), el cual está presente en la Familia Viperidae, excepto una especie, en muchas especies de Boidae y en las subfamilias Xenodontinae y Colubrinae de la Familia Colubridae (Baker y Col., 1972). En esta última familia, según Beçak y Beçak (1969), se observa la mayor variabilidad cariotípica en cuanto a número y morfología de los cromosomas y algunas especies presentan heteromorfismo femenino. En 1973 Gorman analizó los cariotipos de varias especies, concluyendo que el heteromorfismo sólo se encuentra en las serpientes superiores que comprenden a los miembros de las Familias Colubridae y Viperidae. En la subfamilia Colubrinae el heteromorfismo se expresa por diferencia en la posición centromérica, mientras que en la subfamilia Xenodontinae y en Viperidae existen además diferencias de tamaño.

Otra herramienta de gran importancia para el estudio sistemático de las serpientes a nivel específico es el análisis microestructural de las escamas dorsales.

Price (1982) analizó con microscopio electrónico de barrido la estructura superficial de las escamas de cuarenta especies de diferentes familias, concluyendo que los patrones observados son taxonómicamente significativos.

Los hemipenes de las serpientes constituyen otro carácter morfológico utilizado para diferenciar las distintas especies; Dowling y Savage (1960) propusieron que la forma de estos órganos varía a niveles interespecíficos o intergenéricos. Los aspectos de importancia taxonómica son la forma y la longitud del órgano, la forma del surco espermático y la

extensión de las áreas de ornamentación. Dowling (1969) basándose en la estructura de los hemipenes dividió a los colúbridos suramericanos en los siguientes grupos: Colubrines, Dipsadines, Xenodontines y Dromicines.

En el presente trabajo se describe el cariotipo y el hemipene de *Leptodeira annulata ashmeadii* y la microestructura de las escamas dorsales de la especie mencionada, de *L. a. annulata*, *L. septentrionalis ornata* y *L. bakeri*.

*Leptodeira* es un género neotropical de serpientes pertenecientes a la Familia Colubridae, subfamilia Xenodontinae, distribuido desde el sur de Estados Unidos hasta el norte de Argentina y Paraguay excepto los andes altos y desiertos costeros de Perú y Chile.

En 1958, Duellman realizó una monografía en la cual, basándose en la escamación coloración y morfología de los hemipenes, considera al género dividido en nueve especies organizadas en cuatro grupos: grupo *annulata* (*annulata*, *bakeri*, *frenata*, *maculata*), grupo *septentrionalis* (*septentrionalis*, *esplendida*), grupo *nigrofasciata* (*nigrofasciata*, *latifasciata*) y grupo *punctata* (*punctata*).

Lancini (1979) y Gorzula (1978), reportan para Venezuela a: *Leptodeira annulata annulata*, distribuida en todas las zonas tropicales al sur de los ríos Orinoco y Apure, *Leptodeira annulata ashmeadii*, se encuentra en occidente, centro y oriente del país incluyendo la Isla de Margarita y *Leptodeira septentrionalis ornata* distribuida en el Estado Zulia. Mijares Urrutia y Col., (1995) señalan una nueva especie, *Leptodeira bakeri*, para la Península de Paraguaná, Estado Falcón.

Las serpientes del género *Leptodeira* son relativamente pequeñas, de hábitos nocturnos, se alimentan principalmente de anfibios y se conocen popularmente como "falsas mapanaras".

## MATERIALES Y METODOS

Para el estudio de los cromosomas se realizaron cultivos de linfocitos sanguíneos. Se utilizaron tres (3) ejemplares macho de *Leptodeira annulata*

*ashmeadii*. Se extrajeron de 1 a 2 ml. de sangre de la vena caudal con una inyectadora previamente heparinizada, luego se colocaron varias gotas de sangre en viales que contenían 4 ml. de medio 199, adicionados con 10 ml. de suero de ternera y Concanavalina A (31.2 µg/ml y 312 µg/ml).

Los viales se incubaron a 26°C con agitación periódica. A los cinco días de incubación, los linfocitos se dividieron por mitosis. Se añadió Colchicina a la concentración de 10 µg/ml (Yoshida y Toriba, 1986) durante 24 hora, con el fin de frenar las células en metafase. Posteriormente se siguió la metodología de Taylor y Bolaños (1975) que consiste en: centrifugar por 10 minutos a 700 rpm. con 4 ml. de solución salina de Hanks con calcio y magnesio; se resuspendió, se retiró el sobrenadante, se añadieron 5 ml de citrato de sodio 0.7%, se resuspendió dejándolo en reposo por 15 minutos a temperatura ambiente, centrifugando luego durante 10 minutos a 700 rpm. eliminando el sobrenadante, se agregó Carnoy nuevamente y se procedió a preparar las láminas que fueron coloreadas con Giemsa (1:15), durante 15 minutos. Las mejores metafases fueron fotografiadas con un microscopio Zeiss.

Los cromosomas fueron analizados mediante copias ampliadas, las medidas fueron tomadas con un vernier. En cada cromosoma se midió la longitud total (LT) del cromosoma, la cual expresamos como la longitud haploide total y se calculó el índice centromérico (IC) según la fórmula:

$$IC = \frac{\text{Brazo Corto (BC)} \times 100}{LT}$$

En la nomenclatura seguimos a Levan y Col., (1964). Se observaron varias metafases, pero los cálculos se realizaron en base a diez de ellas.

Para el estudio de los hemipenes se utilizaron ejemplares preservados en alcohol de *Leptodeira annulata ashmeadii* que presentaban los órganos evaginados. Se realizaron esquemas utilizando cámara clara en un microscopio estereoscópico WILD M5-A.

Para el estudio de la microestructura de las escamas, se tomaron algunas mudas de las escamas de la región dorsal de ejemplares adultos pre-

servados en alcohol de *Leptodeira annulata ashmeadii*, *L. a. annulata*, *L. septentrionalis ornata* y *L. bakeri*. Se procedió según la metodología propuesta por Arroyo y Cerdas (1986), para limpiar las escamas se colocaron en acetona y se sometieron a ultrasonido por 15 minutos, luego se secaron a temperatura ambiente y se cubrieron con oro por 15 minutos, utilizando un cobertor de oro IB.2; posteriormente las escamas fueron observadas y fotografiadas en un microscopio electrónico de barrido modelo S-500.

## RESULTADOS

Se analizaron diez metafases pertenecientes a los tres ejemplares estudiados, obteniéndose un número diploide de 36 cromosomas (Fig. 1), 16 macro y 20 microcromosomas. Los pares 1,2,3,4,5,7,y 8 son metacéntricos, con valores de índice centromérico (Tabla 1) que varían entre 39.33 y 47.4 y el sexto par es telocéntrico. Los dos primeros pares son fácilmente distinguibles, debido a su mayor tamaño, presentan una longitud relativa de 21.7 y 18.8 unidades respectivamente, del tercer al octavo par existe una disminución gradual de 13.5 a 6.1 unidades y en los microcromosomas de 4.9 a 2.6 unidades (Tabla 1).

Tabla 1. Longitud relativa e índice centromérico de los cromosomas de *Leptodeira annulata ashmeadii* (macho).

Cromosoma Par No.	Longitud Relativa	Índice centromérico	Tipo de Cromosoma
01	21.7	47.44	M
02	18.8	39.25	M
03	13.5	46.37	M
04	9.40	43.64	M
05	8.40	45.00	M
06	7.04	-----	T
07	6.44	41.5	M
08	6.12	40.74	M
09	4.87	-----	-----
10	4.26	-----	-----
11	4.15	-----	-----
12	3.90	-----	-----
13	3.75	-----	-----
14	3.56	-----	-----
15	3.42	-----	-----
16	3.25	-----	-----
17	3.00	-----	-----
18	2.60	-----	-----



El hemipene de *L. a. ashmeadii* (Fig. 2) presenta una zona inferior desnuda, una región media más extensa que comienza con espinas bastantes grandes que van disminuyendo en tamaño hacia la región superior, la cual está separada de la anterior por un surco profundo. El órgano es capitado y en su ápice se observaron abundantes cálices bordeados de numerosas papilas pequeñas. El surco espermático es simple.

En relación con la microestructura de las escamas dorsales de las especies estudiadas (Figs. 3A, 3B, 3C y 3D) observamos que presentan un patrón de proyecciones seriadas parecidas a espinas, alargadas y delgadas con punta roma, en la parte inferior divergen formando dos ramas, cada una de las cuales se une con la de la proyección adyacente, este diseño se repite a todo lo largo de la escama, generalmente hay una coincidencia del extremo romo de la proyección con la base divergente de la serie dispuesta anteriormente. En las especies analizadas se observa diferencia en la longitud de las proyecciones, siendo las de mayor tamaño las de *L. annulata annulata* (Fig. 3A). Las de *L. a. ashmeadii* (Fig. 3B) son un 25% más pequeñas

que la anterior, mientras que las de *L. bakeri* (Fig. 3C) son un 30% y las de *L. septentrionalis ornata* (Fig. 3D) un 50% más pequeñas.

En la superficie dorsal de la foseta apical de *L. a. ashmeadii*, se observó la queratina dispuesta a manera de fibras alargadas muy juntas entre sí (Fig. 4A). La parte ventral de la foseta apical de *L. septentrionalis ornata* (Fig. 4B) presenta una superficie irregular con pequeños poros y atravesada por delgadas crestas dentadas paralelas entre sí, mientras la superficie ventral de la escama dorsal de *L. a. ashmeadii* (Fig. 4C) es uniforme, sin ningún diseño especial.

## DISCUSION

El patrón cariotípico de 36 cromosomas, con 16 macro y 20 microcromosomas observado en *L. a. ashmeadii*, es el más frecuente en el suborden Serpentes, presentándose en una gran cantidad de especies de las familias Boidae, Colubridae y Viperidae (Beçak y Beçak, 1969; Singh, 1972). El cariotipo de *L. annulata ashmeadii* se corresponde con los cariotipos de la categoría I que establecie-

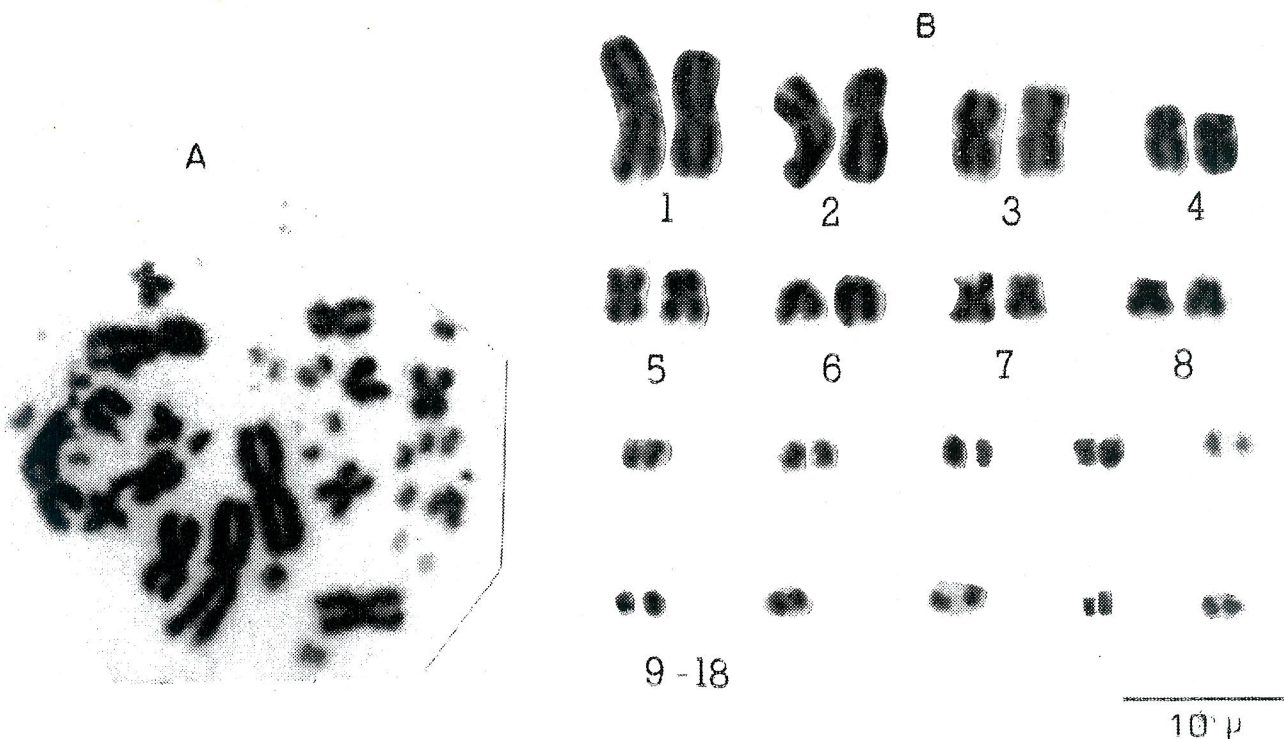


Figura 1. Cromosomas de *Leptodeira annulata ashmeadii* (macho). A: Metafase, B. Cariotipo.

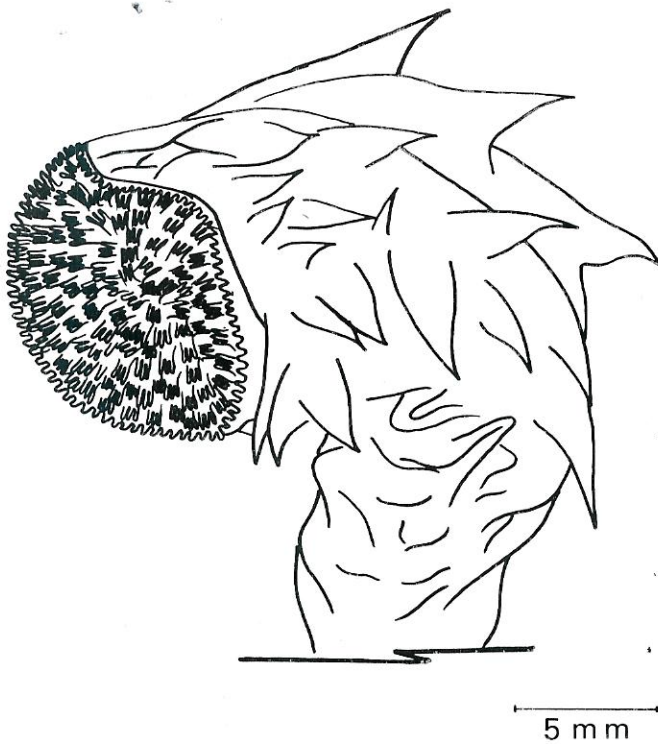


Figura 2. Hemipene de *Leptodeira annulata ashmeadii*.

ron Baker y Col., 1972, al analizar los cromosomas de 38 especies de serpientes, los integrantes de esta categoría se caracterizan por presentar un número diploide de 36 cromosomas, 16 macro y 20 microcromosomas en los que existe una clara diferenciación morfológica e incluye las especies de Viperidae y Colubridae (Xenodontinae y Colubrinae).

Es interesante señalar que el cariotipo de *L. a. ashmeadii*, presenta el primer par de cromosomas metacéntrico y el sexto telocéntrico, lo cual ha sido considerado por Singh (1972) y Baker y Col., (1972) respectivamente como característica constante en los cariotipos estudiados de la subfamilia Colubrinae.

La morfología del hemipene de *Leptodeira annulata ashmeadii* coincide con las características típicas dadas para las especies del género *Leptodeira* por Duellman (1958), Roze (1966) y Lancini (1979), Los cálices de la región apical del órgano se asemejan a los descritos por Dowling y Savage (1960) en el colúbrido *Heterodon platirrhinos*.

Según Dowling (1969), *Leptodeira* pertenece a la subfamilia Dipsadinae por poseer hemipenes simples, capitados, espinosos y caliculados, con surco espermático simple. McDowell (1987) lo ubica en la subfamilia Xenodontinae, como una excepción, al igual que otros géneros de Colubridae con hemipenes capitados, pero sin el surco bifurcado característico de esta subfamilia.

Las escamas dorsales de las especies venezolanas del género *Leptodeira* son lisas, ovaladas y con dos fosetas en su región apical como lo señala Roze (1966), respecto a la microestructura podemos decir que hay un patrón genérico por la similitud de los diseños, no obstante se pueden notar diferencias en cuanto al tamaño de las proyecciones entre las dos subespecies de *L. annulata*, las de *L. a. annulata* son más grandes que las de *L. a. ashmeadii* y las de esta última ligeramente de mayor tamaño que las de *L. bakeri*, siendo las más pequeñas las de *L. septentrionalis ornata*.

El patrón observado en las escamas estudiadas se asemeja al obtenido por Hoge y Romano (1980-1981) en *Lystrophis nattereri* y al patrón "echinado" descrito por Price (1982) para las especies *Seminatrix pygaea* y *Pseudohaje nigra*, constituido por numerosas espinas o picos prominentes. Es interesante señalar que a pesar de la similitud que existe entre el patrón de las escamas de *L. a. ashmeadii* y *L. a. annulata*, estas subespecies tienen hábitos de vida distintos ya que la primera es terrestre mientras que la segunda es arbórea, lo que concuerda con una de las conclusiones de Price (1982), quien señaló que la microestructura de las escamas dorsales no está correlacionada con las preferencias de hábitat de las especies.

La superficie ventral uniforme de la escama dorsal de *L. a. ashmeadii* coincide con lo reportado por Hernández y Rada (1992), Pérez y Col., (1997).

Respecto a las fosetas apicales, la red de queratina tupida que se observó dorsalmente y la microestructura ventral de las mismas son similares a las observadas en el género *Mastigodryas* (Hernández y Rada, 1992).

El patrón observado en el interior de la foseta apical de *L. a. ashmeadii* se asemeja al patrón "surcado" descrito por Stewart y Daniel (1975)



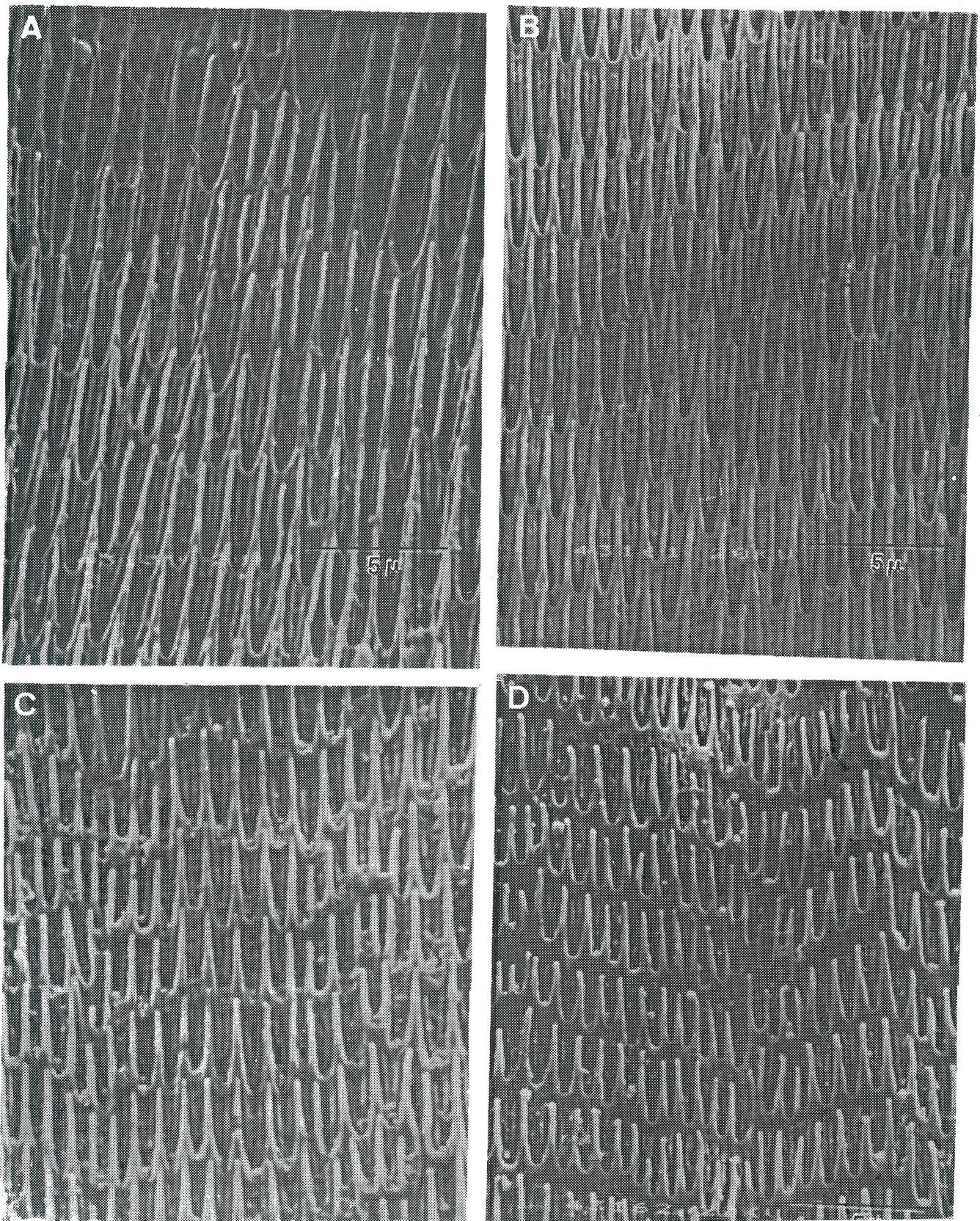


Figura 3. Patrón microestructural de las escamas dorsales del género *Leptodeira* Aumento 7500 x. A. *Leptodeira annulata annulata*; B. *Leptodeira annulata ashmeadii*; C. *Leptodeira bakeri*; D. *Leptodeira septentrionalis ornata*.



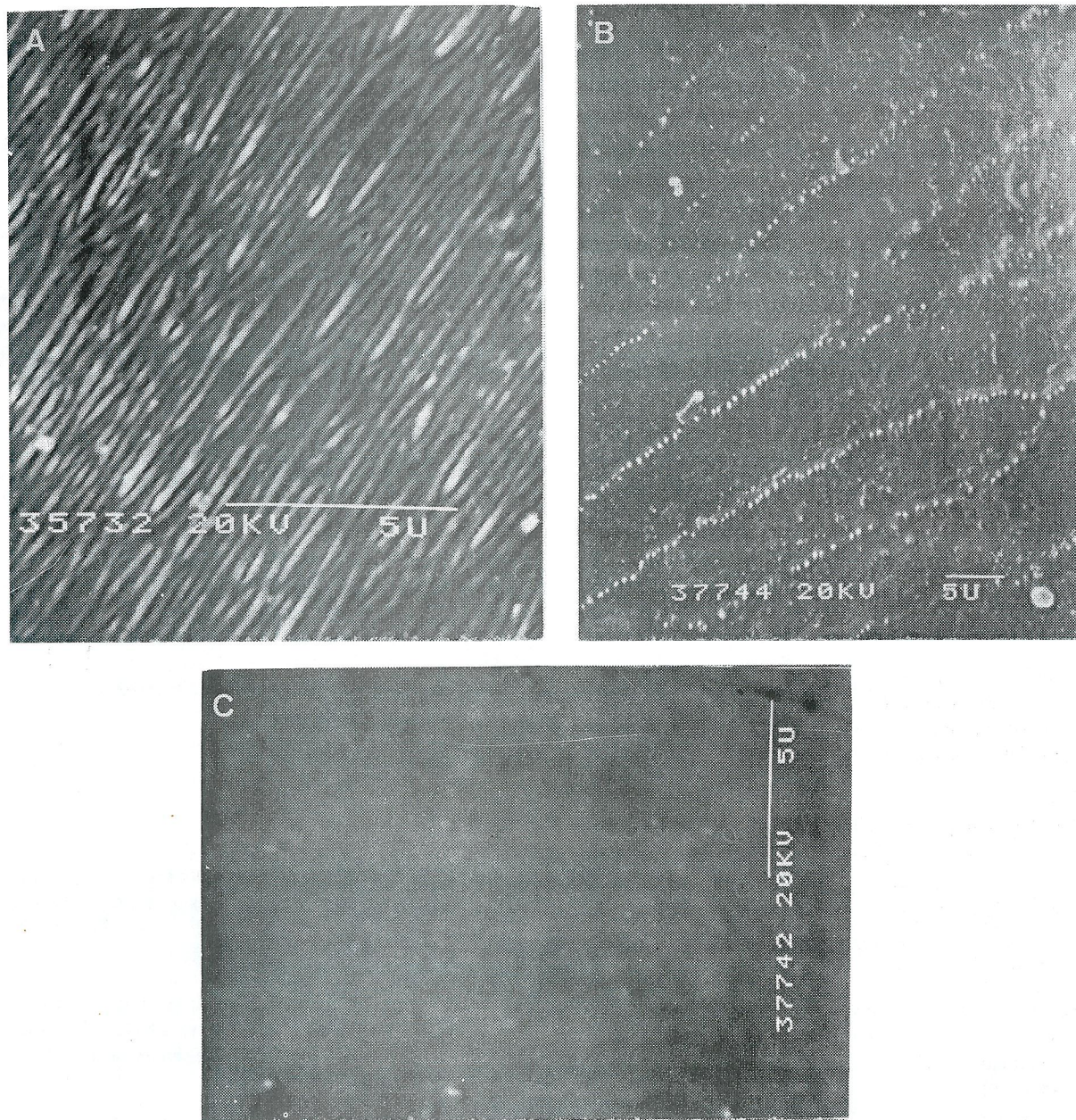


Figura 4. A. Vista dorsal de la foseta apical de *Leptodeira annulata ashmeadii*; B. Vista ventral de la foseta apical de *Leptodeira septentrionalis ornata*; C. Superficie ventral de la escama dorsal de *Leptodeira annulata ashmeadii*

para la escama de *Crotalus viridis* y también al diseño de crestas lineales y cruzadas propuesto por Stille (1987) para la escama de *Crotalus trisseriatus aquilus*.

#### AGRADECIMIENTOS

Queremos expresar nuestro agradecimiento al Dr. Pedro Nass, al Prof. Pedro Delgado, a la Lic. Maritza Arispe y al Br Luis Fernando Navarrete

por permitirnos revisar el material depositado en el Museo de Ciencias Naturales de Caracas. A la Prof. Rosaura Bello y a las Licenciadas Evelyn Alonso y María R. Pérez por la valiosa ayuda brindada. Al Prof. Guido Pereira por facilitarnos equipo de su laboratorio para la realización del trabajo. Al personal del Centro de Microscopía Electrónica de la Facultad de Ciencias UCV. Al Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la UCV quien financió parcialmente el trabajo.



## LITERATURA CITADA

- ARROYO, O.Y.L. CERDAS  
1986. Microestructura de las escamas dorsales de 9 especies de serpientes costarricenses. *Rev. Biol. Trop.*, 34 (1): 123-126.
- BAKER, R., MENGDEN, G. Y J.BULL  
1972. karyotypic studies of thirty eight species of north american snakes. *Copeia*, 2: 257-265.
- BEÇAK W. Y M.L. BEÇAK  
1969. Cytotaxonomic and chromosomal evolution in Serpentes. *Cytogenetics*, 8: 247-262.
- DOWLING, H.G. Y J.M. SAVAGE  
1960. A guide to the snakes hemipenis: survey of basic structure and systematic characteristics. *Zoologica* 45(1):17-31.
- DOWLING, H.G.  
1969. The hemipenis of *Philodryas* Gunter: A correction (Serpentes, Colubridae). *Am. Mus. Novit.*, 2375:1-6.
- DUELLMAN, W.E  
1958. A monographic study of the colubrid snake genus *Leptodeira*. *Bull. Am. Mus. Nat. Hist.*, 114: 1-152.
- GORMAN, G.C.  
1973. The chromosome of the reptilia, a cytotaxonomic interpretation In: *Cytotaxonomy and Vertebrate Evolution*. Acad. Press., London, pp. 349-424.
- GORZULA, S.  
1978. Clave para los ofidios de Venezuela. *Boletín Técnico MARNR*, Caracas.
- HERNANDEZ, R. Y D. RADA DE MARTINEZ  
1992. Contribución al conocimiento del género *Mastigodryas* (Serpentes, Colubridae) en Venezuela. *Acta Biol. Venez.*, 13 (3-4): 67-81
- HOGUE, A.R. Y S.A. ROMANO HOGUE  
1980-1981. Notes on micro and ultrastructure of "oberhäutschen" in Viperioidea. *Mem. Inst. Butantan*, 44/45: 81-118
- LANCINI, A.R.  
1979. *Serpientes de Venezuela*. Ernesto Armitano Ed. 257 pp
- LEVAN, A. FREDGA, K Y A.A. SANDBERG  
1964. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. *Hereditas*, 52: 201-220.
- MCDOWELL, S.B.  
1987. Systematics Cap. I In: *Snakes Ecology and Evolutionary Biology*. Ed. Siegel R.A., J.T. Collins & S.S.Novak. Mc Graw Hill Publ. Company 529 pp.
- MJARES-URRUTIA, A., A.L. MARKEZICH Y A. ARENDS  
1995. Hallazgo de *Leptodeira bakeri* Ruthven (Serpentes, Colubridae) en la Península de Paraguaná, noroeste de Venezuela con comentarios diagnósticos y biológicos. *Carib.J. Sci.*, 31 (1-2): 77-82.
- MORESCALCHI, A.  
1970. Karyology and Vertebrate Phylogeny. *Boll. Zool.*, 37:1-28.
- PEREZ, M.R., D. RADA DE MARTINEZ Y R. BELLO DE LOPEZ  
1997. Contribución al conocimiento taxonómico de *Crotalus durissus cumanensis* y *Crotalus pifanorum* (Serpentes, Viperidae). *Acta Biol. Venez.*, Vol 17(1): 25-35.
- PRICE, R. M.  
1982. Dorsal snake scale microdermatoglyphics: ecological indicator or taxonomic tool? *Journal Herp.*, 16 (3): 294-306.
- ROZE, J.  
1966. *La taxonomía y Zoogeografía de los Ofidios en Venezuela*. Ediciones Biblioteca U.C.V. Caracas. 359 pp.
- SINGH, L.  
1972. Evolution of Karyotypes in snakes. *Chromosoma* (Berl.) 38, 185-236.
1974. Chromosomes of six species of indian snakes. *Herpetologica*, 30 (4): 419-429.
- STEWART, G.R. Y R.S. DANIEL  
1975. Microornamentation of lizard scales: some variations and taxonomic correlations. *Herpetologica.*, 31: 117-130.
- STILLE, B.  
1987. Dorsal scale microdermatoglyphics and rattlesnake (*Crotalus* and *Sistrurus*) phylogeny (Reptilia: Viperidae, Crotalinae). *Herpetologica*, 43 (1): 98-104.
- TAYLOR, R. Y R. BOLAÑOS  
1975. Descripción de un método simple y económico para el estudio de cariotipos de serpientes. *Rev. Biol. Trop.*, 23 (2): 177-183.
- YOSHIDA, T. Y M. TORIBA  
1986. Chromosome evolution and speciation of Reptiles. I. Karyotype of the japanese mamushi *Agkistrodon blomhoffii* (Viperidae, Crotalinae) with special regard to the sex chromosomes. *Proc. Japan Acad.*, 628: 13-16.