

Lucas Amâncio Neves

**Estudo da glândula adrenal em Dipsadidae  
(Serpentes: Colubroidea): análise dos  
mecanismos de resistência que permitem a  
predação de espécies venenosas de Bufonidae  
(Anura: Hyloidea)**

Study of the adrenal gland in Dipsadidae (Snakes:  
Colubroidea): analysis of the resistance mechanisms  
that enable the predation of venomous species of  
Bufonidae (Amphibians: Hyloidea)

São Paulo  
2024

Lucas Amâncio Neves

**Estudo da glândula adrenal em Dipsadidae  
(Serpentes: Colubroidea): análise dos  
mecanismos de resistência que permitem a  
predação de espécies venenosas de Bufonidae  
(Anura: Hyloidea)**

Study of the adrenal gland in Dipsadidae (Snakes:  
Colubroidea): analysis of the resistance mechanisms  
that enable the predation of venomous species of  
Bufonidae (Amphibians: Hyloidea)

Dissertação apresentada ao  
Instituto de Biociências da  
Universidade de São Paulo, para  
a obtenção de Título de Mestre  
em Ciências, na Área de  
Zoologia.

Orientador(a): Dr. Felipe Gobbi  
Grazziotin

São Paulo  
2024

## Ficha Catalográfica

---

Neves, Lucas Amâncio

Estudo da glândula adrenal em  
Dipsadidae (Serpentes:Colubroidea):  
análise dos mecanismos de resistência  
que permitem a predação de espécies  
venenosas de Bufonidae (Anura:Hyloidea)  
/ Neves Amâncio Lucas; orientador  
Grazziotin Felipe Gobbi -- São Paulo,  
2024.

107 p.

Dissertação (Mestrado) -- Instituto  
de Biociências da Universidade de São  
Paulo. Ciências Biológicas (Zoologia).

1. Corrida armamentista  
evolutiva. 2. Bufofagia. 3.  
Bufadienolídeos. 4. Hormônios adrenais.  
5. Tecido esteroideogênico. I. Grazziotin,  
Felipe Gobbi, orient. Título.

### Comissão Julgadora:

---

Prof(a). Dr(a).

---

Prof(a). Dr(a).

---

Prof. Dr. Felipe Gobbi Grazziotin  
Orientador

## Resumo

---

A interação entre presa e predador é um dos principais impulsionadores da evolução fenotípica. Sapos Bufonidae apresentam secreções tóxicas em glândulas especializadas que os tornam indigestos ou mesmo letais para muitos predadores. No entanto, algumas serpentes desenvolveram mecanismos de resistência contra estas toxinas. Uma hipótese que explica tal resistência baseia-se na ação dos hormônios adrenérgicos, que estimulam a síntese de Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase no músculo cardíaco, atenuando os efeitos tóxicos. A presença desse mecanismo tem sido relacionada a alterações morfológicas na anatomia da glândula adrenal. Glândulas grandes parecem estar associadas a altos níveis de bufofagia. No entanto, esta hipótese nunca foi testada utilizando métodos comparativos filogenéticos baseados em uma amostragem abrangente. Além disso, estudos histológicos para compreender as relações da glândula a esse mecanismo de defesa permanecem ausentes. Aqui, testamos a correlação entre a dieta e a anatomia adrenal através da avaliação de uma amostragem abrangente de Dipsadidae. Adicionalmente, realizamos a descrição morfológica das glândulas de quatro espécies serpentes bufófagas e não bufófagas, a fim de fornecer uma base de dados que permitam compreender as alterações morfológicas e funcionais relacionadas à bufofagia. Para isso, estimamos uma árvore filogenética de máxima verossimilhança e classes de dieta para todas as espécies analisadas e avaliamos através de métodos filogenéticos comparativos a associação entre tamanho da glândula e bufofagia. Nas análises histológicas, foi utilizado protocolo padrão de historesina e diferentes métodos histoquímicos. Nossos resultados indicam forte correlação entre o aumento adrenal e a bufofagia, mas também apontam a existência de sinais filogenéticos. As glândulas adrenais aumentadas estão restritas a grupos específicos de serpentes bufófagas, o que reforça também a presença de outros mecanismos envolvidos nos processos de resistências. Divergências morfológicas nas proporções teciduais também foram constatadas e podem estar atreladas a fatores influenciadores da estrutura tecidual, como a bufofagia ou representar sinais filogenéticos, assim como a anatomia. Para confirmar essas hipóteses, são necessários estudos mais detalhados sobre a morfologia da glândula adrenal.

## Abstract

---

The interaction between prey and predator is one of the main drivers of phenotypic evolution. Bufonidae frogs have toxic secretions in specialized glands that make them indigestible or even lethal to many predators. However, some snakes have developed resistance mechanisms against these toxins. One hypothesis that explains such resistance is based on the action of adrenergic hormones, which stimulate the synthesis of Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase in the heart muscle, attenuating the toxic effects. The presence of this mechanism has been related to morphological changes in the anatomy of the adrenal gland. Large glands appear to be associated with high levels of bufophagia. However, this hypothesis has never been tested using phylogenetic comparative methods based on comprehensive sampling. Furthermore, histological studies to understand the gland's relationships to this defense mechanism remained absent. Here, we test the clarity between diet and adrenal anatomy by evaluating a comprehensive sampling of Dipsadidae. Furthermore, we carried out a morphological description of the glands of four species of bufophagous and non-buffophagous snakes, in order to provide a database that allows us to understand the morphological and functional changes related to bufophagy. To do this, we estimated a maximum likelihood phylogenetic tree and diet classes for all proven species and evaluated, through comparative phylogenetic methods, the association between gland size and bufophagy. In histological analyses, a standard histoiresin protocol and different histochemical methods were used. Our results indicate a strong link between adrenal enlargement and bufophagia, but also point to the existence of phylogenetic signals. Enlarged adrenal glands are restricted to specific groups of bufophagous snakes, which also reinforces the presence of other mechanisms involved in resistance processes. Morphological divergences in tissue proportions were also found and may be related to factors influencing tissue structure, such as bufophagia or representing phylogenetic signs, as well as anatomy. To confirm these hypotheses, more detailed studies on the morphology of the adrenal gland are needed.

## 1. Introdução Geral

---

A interação entre presa e predador é um dos principais impulsionadores da evolução fenotípica (Schmitz & Trussell, 2016). Mecanismos de defesas das presas são constantemente selecionados pela pressão de predação, o que leva à subsequente adaptação de predadores para superá-las (Abrams, 2000; Schmitz et al., 2015). Esse sistema, exerce pressões que ao longo do tempo acabam levando a contínua fixação de caracteres distintos entre os indivíduos envolvidos (Abrams, 2000; Schmitz & Trussell, 2016; Schmitz, 2017).

Entre os vertebrados, os anfíbios são conhecidos por apresentarem secreções tóxicas que os tornam não comestíveis ou até mesmo letais para alguns predadores (Jared et al., 2009; Mailho-Fontana et al., 2022). Esses compostos podem ser adquiridos durante a alimentação, sequestrando toxinas, ou serem sintetizados a partir de precursores não tóxicos (Hutchinson et al., 2007; Hutchinson et al., 2008; Takeuchi et al., 2018).

Embora os anfíbios constituam parte substancial da dieta de muitos predadores (Toledo et al., 2007), os sapos da família Bufonidae apresentam uma ampla variedade de toxinas (por exemplo, tetrodotoxina, bufotoxina) e raramente são predados (Mohammadi et al., 2016a). Atualmente, a família Bufonidae conta com cerca de 625 espécies alocadas em 54 gêneros e estão distribuídos por todo o globo, exceto na região Ártica, Antártica, oceânicas e Madagascar (Kerkhoff et al., 2016; Mailho-Fontana et al., 2022). Entre os bufonídeos, as espécies do gênero Neotropical *Rhinella* são conhecidas por apresentarem bufadienolídeos como um dos principais componentes de suas secreções (Kerkhoff et al., 2016).

Os bufadienolídeos são esteróides cardiotoxícos sintetizados a partir do colesterol e são encontrados nas glândulas paratóides e cutâneas (Santa Coloma et al., 1984; Mohammadi et al., 2016b). Seu principal mecanismo de ação é o desequilíbrio do transporte de íons de sódio e potássio no músculo cardíaco (Mohammadi et al., 2016b). Ao inibir a ação da enzima transmembranar  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  - ATPase, eles causam o influxo de íons desencadeando um estado de inotropismo positivo nos cardiomiócitos e arritmia, podendo levar a insuficiência cardíaca (Licht & Low, 1968; Laursen et al., 2015).

Contudo, as cobras bufófagas (especializadas em predação de sapos Bufonidae) representam uma exceção às manifestações tóxicas causadas pelos bufadienolídeos. Esses predadores

especializados apresentam diversos mecanismos que proporcionam resistência a essas toxinas (Mohammadi et al., 2016b).

Esse hábito alimentar intriga a comunidade herpetológica desde as primeiras décadas do século XX. Brazil & Vellard (1926) conduziram um estudo testando doses letais mínimas de secreções extraídas de *Rhinella marina* (Linnaeus, 1758) em várias serpentes. Eles observaram que algumas dipsadídeas, como *Xenodon merremii* (Wagler, 1824), apresentam resistência e não demonstram sintomas negativos. Por outro lado, a maioria das espécies testadas eram suscetíveis e sucumbiram a pequenas doses da secreção.

Os resultados instigaram trabalhos subsequentes. Licht & Low (1968) conduziram um estudo no intuito de observar quais os efeitos cardiológicos das toxinas. Serpentes bufófagas e não bufófagas foram expostas a três diferentes doses da toxina de *R. marina*. Os indivíduos não especializados tiveram intensas respostas cardíacas que levaram a óbito em curto intervalo de tempo. Em contrapartida, para a espécie bufófaga, a dose necessária para causar algum efeito deletério, foi o triplo do necessário para levar a óbito as não bufófagas. Contudo, não foram observados distúrbios cardíacos significativos.

Sabendo disso, estudos foram conduzidos para entender quais os mecanismos que atenuam os efeitos tóxicos no músculo cardíaco. Alterações moleculares no sítio de ligação de esteróides cardiotônicos na Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase foram observadas para algumas serpentes bufófagas e não bufófagas. Essas alterações conferem menor afinidade na interação dos bufadienolídeos, mitigando os efeitos tóxicos (Mohammadi et al., 2016a; Mohammadi et al., 2016b; Fletcher et al., 2023).

Respostas hormonais também foram correlacionadas ao hábito alimentar bufófago. Três diferentes grupos foram testados frente à exposição aos bufadienolídeos: serpentes bufófagas e generalistas geneticamente resistentes e generalistas que não possuem resistência genética. Constataram-se diferenças nos níveis hormonais de corticosterona e aldosterona. Os níveis de aldosterona nas serpentes bufófagas foi significativamente maior que os outros grupos, sugerindo ser outro fator envolvido nos processos de resistência aos efeitos dos bufadienolídeos (Mohammadi et al., 2017). Essa correlação pode ser feita visto que a aldosterona age de forma antagônica à toxina, estimulando a síntese da enzima Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase (Ikeda et al., 1991). O aumento do conteúdo enzimático nas membranas mantém a homeostase do fluxo de íons no músculo cardíaco, atenuando os efeitos tóxicos (Mohammadi et al., 2017).

Além disso, diferenças anatômicas também foram observadas em espécies bufófagas. As glândulas adrenais dessas serpentes mostraram-se maiores comparadas às cobras não bufófagas. Essa associação foi observada inicialmente em, *Heterodon platirhinus* LATREILLE, 1801 (Smith & White, 1955; Spaur & Smith, 1971), *Rhabdophis tigrinus* (BOIE, 1826) (Mori et al., 2012) e *Xenodon merremii* (Mohammadi et al., 2013). O aumento adrenal pode ter relação com a maior concentração de aldosterona no plasma. Hipoteticamente, o número maior de células permite sintetizar quantidades maiores de hormônio (Mohammadi et al., 2013). Contudo, ainda não está claro se o tecido responsável pela síntese da aldosterona seria quem confere o aumento da glândula adrenal, necessitando de estudos histológicos e morfológicos que confirmem essa correlação (Mohammadi et al., 2017).

Anatomicamente, as glândulas adrenais das serpentes estão associadas aos órgãos reprodutivos. A glândula adrenal direita está posicionada cranialmente em relação à esquerda (Rupik, 2002). Morfologicamente, é composta por dois tecidos principais, podendo variar interespecificamente em relação às estruturas. O tecido adrenocortical ou esteroidogênico, está disposto em conjuntos celulares na forma de cordões que percorrem longitudinalmente de um extremidade a outra da glândula (Chester Jones, 1957; Gabe 1970). Já o tecido cromafim ou catecolamina, pode ser encontrado em duas regiões independentes: 1) pequenos conjuntos celulares disperso entre o tecido adrenocortical (ilhas de tecido cromafim) e, 2) aglomerado maior de células situado na região dorsal da glândula (banda dorsal), podendo ser mais ou menos desenvolvido ou estar ausente (Wright & Chester Jones, 1957; Wassermann & Tramezzani, 1963). Também são encontrados tecido conjuntivo e diversos vasos sanguíneos distribuídos interna e externamente, ao longo de toda a glândula (Wright & Chester Jones, 1957; Wassermann & Tramezzani, 1963; Capaldo, 2023).

Em relação aos compostos sintetizados pela glândula, estudos mostraram que o tecido cromafim é responsável pela produção de hormônios catecolaminas, sendo a banda dorsal pela síntese de noradrenalina, e as ilhotas cromafins por adrenalina (Wassermann & Tramezzani, 1963; Lofts & Phillips, 1965). O tecido adrenocortical, é responsável pela produção dos hormônios esteroides como, corticosterona, cortisol e aldosterona (Phillips et al., 1962; Lofts & Phillips, 1965; Mohammadi et al., 2013), ainda não havendo distinção clara para esse tecido de onde cada hormônio é sintetizado.



Apesar das correlações evolutivas, anatômicas e hormonais, ao hábito alimentar bufófago, ainda não está totalmente claro o envolvimento da glândula adrenal com a bufofagia. Esse conjunto de informações, atrelados a estudos mais detalhados sobre a anatomia, morfologia e processos fisiológicos da glândula adrenal, podem fornecer dados cruciais para melhor compreensão da função da glândula nos processos de resistência. Ampliar esses dados morfoanatômicos, abrangendo um número maior de espécies, considerando uma maior diversidade de hábitos alimentares e também as relações filogenéticas dos táxons envolvidos, permite-nos reconstruir como se deram os processos coevolutivos dos caracteres envolvidos nessa interação presa-predador.

## 6. Conclusões Gerais

---

- Das 51 espécies analisadas, apenas cinco são classificadas como bufófagas: *Erythrolamprus typhlus*, *Xenodon merremii*, *Xenodon newwiedii*, *Xenodon rabdocephalus* e *Xenodon severus*.
- Dentre todas as classes de dietas analisadas, o aumento adrenal está correlacionado apenas à bufofagia, podendo proporcionar maior taxa de predação de bufonídeos.
- Apesar da forte correlação entre a bufofágia e o aumento adrenal, quando levamos em consideração diferentes métodos filogenéticos comparativos, os resultados apontam consideráveis sinais filogenéticos. Dessa forma, o aumento adrenal ocorreu para grupos específicos de serpentes.
- Reconstruindo os processos coevolutivos, constatamos que *Erythrolamprus typhlus* é exceção. Essa espécie, apesar de apresentar alta taxa de bufonídeos na dieta, não apresenta a glândula adrenal aumentada, como as espécies de *Xenodon*. Reforçando a presença de sinal filogenético.
- Dentro do clado *Xenodon*, a bufofagia em *Xenodon newwiedii* evoluiu independentemente do clado formado por *X. merremii*, *X. rabdocephalus* e *X. severus*. Outra hipótese seria que a condição bufófaga foi perdida para o clado formado por *X. dorbignyi*, *X. guentheri* e *X. pulcher*.
- Para *Erythrolamprus typhlus*, quando avaliamos os processos evolutivos das outras espécies de *Erythrolamprus*, a bufofagia teria evoluído de maneira convergente às espécies de *Xenodon*.
- Comparadas às outras espécies de Dipsadidae, as glândulas maiores mostram ser uma característica presente na tribo Xenodontini, particularmente maior para as espécies do gênero *Xenodon*, inclusive nas espécies não bufófagas.
- Os resultados suportam o envolvimento da glândula adrenal como um potencial mecanismo que confere resistência à toxina de Bufonidae. Contudo, ao observarmos que as glândulas adrenais de *Erythrolamprus typhlus* não passaram pelos mesmo processos coevolutivos, reforçam também a existência de outros mecanismos de resistência.

- Morfologicamente as glândulas adrenais de *Erythrolamprus aesculapii*, *Erythrolamprus typhlus*, *Xenodon merremii* e *Xenodon neuwiedii*, apresentam o padrão com a presença das duas regiões do tecido cromafim – banda dorsal e ilhotas – bem delimitadas.
- As espécies analisadas, apresentam divergências anatômicas e morfológicas que podem estar associadas a características filogenéticas dos grupos taxonômicos ou, estarem vinculadas a diversos fatores que influenciam a estrutura da glândula, como o hábito alimentar bufófago.
- Anatomicamente, as espécies bufófagas de *Xenodon* possuem as glândulas adrenais aumentadas comparadas às espécies bufófagas e não bufófagas de *Erythrolamprus*.
- Morfologicamente, as diferenças estruturais dos tecidos estão relacionadas principalmente às proporções das áreas que ocupam na glândula adrenal.
- O tecido adrenocortical apresenta homogeneidade estrutural entre as espécies e não apresenta zoneamento morfológico. As espécies bufófagas, apresentam maior compactação desse tecido e por conta da maior quantidade e tamanho dos grânulos, parecem apresentar maior área tecidual.
- O tecido cromafim varia principalmente em relação ao tamanho da banda dorsal. As espécies de *Xenodon* apresentam essa região muito mais desenvolvida do que as espécies de *Erythrolamprus*. Essa característica também pode estar associada ao aumento adrenal dessas espécies, mas ainda segue desconhecido qualquer relação desse tecido com a bufofagia.

### 3. Referências Bibliográficas

---

- Abrams, P. A. (2000). The evolution of predator-prey interactions: theory and evidence. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 31, 79-105. <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.31.1.79>
- Brazil, V. & Vellard, J. (1926). Contribution to the study of batrachians. *Memórias do Instituto de Butantan*, 3, 7-70.
- Capaldo, A. (2023). The Adrenal Gland of Squamata (Reptilia): A Comparative Overview. *Animals*, 13(17), 2686 ou 1-20. <https://doi.org/10.3390/ani13172686>
- Chester Jones, I. (1957). *The adrenal cortex* (1ª ed.). Cambridge University Press.
- Fletcher, J., Malhotra, A., & Wüster, W. (2023). You are what your ancestors ate: retained bufadienolide resistance in the piscivorous water cobra *Naja annulata* (Serpentes: Elapidae). *Herpetological Journal*, 33(3), 83-87. <https://doi.org/10.33256/33.3.8387>
- Gabe, M. (1970). Adrenal cortex. In: Gans, C. (ed). *Biology of the Reptilia* (vol.3., pp. 263-317). Academic Press.
- Grazziotin, F. G., Zaher, H., Murphy, R. W., Scrocchi, G., Benavides, M. A., Zhang, Y., & Bonatto, L. (2012). Molecular phylogeny of the New World Dipsadidae (Serpentes: Colubroidea): a reappraisal. *Cladistics*, 28, 437-459. <https://doi.org/10.1111/j.1096-0031.2012.00393.x>
- Hutchinson, D. A., Mori, A., Savitzky, A. H., Burghardt, G. M., Wu, X., Meinwald, J., & Schroeder, F. C. (2007). Dietary sequestration of defensive steroids in nuchal glands of the Asian snake *Rhabdophis tigrinus*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104(7), 2265– 2270. <https://doi.org/10.1073/pnas.0610785104>
- Hutchinson, D. A., Savitzky, A. H., Mori, A., Meinwald, J., & Schroeder, F. C. (2008). Maternal provisioning of sequestered defensive steroids by the Asian snake *Rhabdophis tigrinus*. *Chemoecology*, 18, 181–190. <https://doi.org/10.1007/s00049-008-0404-5>
- Ikeda, U., Hyman, R., Smith, T. W., & Medford, R. M. (1991). Aldosterone-mediated regulation of Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-ATPase gene expression in adult and neonatal rat cardiocytes. *Journal of Biological Chemistry*, 266(18), 12058-12066. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)99065-4](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)99065-4)
- Jared, C., Antoniazzi, M. M., Jordão, A. E. C., Silva, J. R. M. C., Greven, H., & Rodrigues, M. T. (2009). Parotoid macroglands in toad (*Rhinella jimi*): their structure and

- functioning in passive defence. *Toxicon*, 54(1), 197-207. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2009.03.029>
- Kerkhoff, J., Noronha, J. C., Bonfilio, R., Sinhoin, A. P., Rodrigues, D. J., Chaves, M. H., & Júnior, G. M. V. (2016). Quantification of bufadienolides in the poisons of *Rhinella marina* and *Rhaebo guttatus* by HPLC-UV. *Toxicon*, 119, 311-318. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2016.07.003>
- Laursen, M., Gregenser, J. L., Yatime, L., Nissen, P., & Fedosova, N. (2015). Structures and characterization of digoxin- and bufalin-bound Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase compared with the ouabain-bound complex. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 112(6), 1755-1760. <https://doi.org/10.1073/pnas.1422997112>
- Licht, L. E., & Low, B. (1968). Cardiac response of snakes after ingestion of toad paratoid venom. *Copeia*, 1968(3), 547-551. <https://doi.org/10.2307/1442023>
- Lofts, B., & Phillips, J. G. (1965). Some aspects of the structure of the adrenal gland in snakes. *Journal of Endocrinology*, 33(2), 327-328. <https://doi.org/10.1677/joe.0.0330327>
- Mailho-Fontana, P. L., Titon, B. Jr., Antoniazzi, M. M., Gomes, F. R., & Jared, C. (2022). Skin and poison gland in toads (*Rhinella*) and their role in defence and water balance. *Acta Zoologica*, 103, 112-128. <https://doi.org/10.1111/azo.12390>
- Mohammadi, S., McCoy, K. A., Hutchinson, D. A., Gauthier, D. T., & Savitzky, A. H. (2013). Independently evolved toad-eating snakes exhibit sexually dimorphic enlargement of adrenal glands. *Journal of Zoology*, 290, 237-245. <https://doi.org/10.1111/jzo.12038>
- Mohammadi, S., Brodie Jr., E. D., Neuman-Lee, L. A., & Savitzky, A. H. (2016a). Mutations to the cardiotonic steroid binding site of Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase are associated with high level of resistance to gamabufotalin in a natricine snake. *Toxicon*, 114, 13-15. <http://dx.doi.org/10.1016/j.toxicon.2016.02.019>
- Mohammadi, S., Gompert, Z., Gonzalez, J., Takeuchi, H., Mori, A., & Savitzky, A. H. (2016b). Toxin-resistant isoforms of Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase in snakes do not closely track dietary specialization on toads. *Proceedings of the Royal Society B*, 283(1842), 20162111. <https://doi.org/10.1098/rspb.2016.2111>
- Mohammadi, S., French, S. S., Neuman-Lee, L. A., Durham, S. L., Kojima, Y., Mori, A., Brodie Jr., E. D., & Savitzky, A. H. (2017). Corticosteroid responses of snakes to toxins from toads (bufadienolides) and plants (cardenolides) reflect differences in dietary

- specializations. *General and Comparative Endocrinology*, 247, 16-25.  
<https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2017.03.015>
- Mori, A., Burghardt, G. M., Savitzky, A. H., Roberts, K. A., Hutchinson, D. A., & Goris, R. C. (2012). Nuchal glands: a novel defensive system in snakes. *Chemoecology*, 22, 187–198. <https://doi.org/10.1007/s00049-011-0086-2>
- Phillips, J. G., Chester Jones, I., & Bellamy, D. (1962). Biosynthesis of adrenocortical hormones by adrenal glands of lizards and snakes. *Journal of Endocrinology*, 25(2), 233-237. <https://doi.org/10.1677/joe.0.0250233>
- Rupik, W. (2002). Early development of the adrenal gland in the grass snake *Natrix natrix* L. (Lepdosauria, Serpentes). *Advances in Anatomy, Embryology and Cell Biology*, 164, 1-102. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-55977-8>
- Santa Coloma, A., Garraffo, H. M., Pignataro, O. P., Charreau, E. H., & Gros, E. G. (1984). Biosynthesis of bufadienolides in toads. V. The origin of the cholesterol used by toad parotoid glands for biosynthesis of bufadienolides. *Steroids*, 44(1), 11 – 22. [https://doi.org/10.1016/S0039-128X\(84\)80012-4](https://doi.org/10.1016/S0039-128X(84)80012-4)
- Schmitz, O. J., Buchkowski, R. W., Burghardt, K. T., & Donihue, C. M. (2015). Functional traits and trait-mediated interactions: connecting community-level interactions with ecosystem functioning. *Advances in Ecological Research*, 52, 319–343. <http://dx.doi.org/10.1016/bs.aecr.2015.01.003>
- Schmitz, O. J., & Trussell, G. C. (2016). Multiple stressors, state-dependence and predation risk — foraging trade-offs: toward a modern concept of trait-mediated indirect effects in communities and ecosystems. *Current Opinion in Behavioral Sciences*, 12, 6–11. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cobeha.2016.08.003>
- Schmitz, O. (2017). Predator and prey functional traits: understanding the adaptive machinery driving predator–prey interactions [version 1; referees: 2 approved]. *F1000Research*, 6. <https://doi.org/10.12688/f1000research.11813.1>
- Smith, H. M., & White, F. N. (1955). Adrenal Enlargement and Its Significance in the Hognose Snakes (*Heterodon*). *Herpetologica*, 11(2), 137-144.
- Spaur, R. C., & Smith, H. M. (1971). Adrenal Enlargement in the Hognosed Snake *Heterodon platyrhinos*. *Journal of Herpetology*, 5(3/4), 197-199.
- Takeuchi, H., Savitzky, A. H., Ding, L., Silva, A., Das, I., Nguyen, T. T., Tsai, T., Jono, T., Zhu, G., Mahaulpatha, D., Tang, Y., & Mori, A. (2018). Evolution of nuchal glands, unusual defensive organs of Asian natricine snakes (Serpentes: Colubridae), Inferred

- from a molecular phylogeny. *Ecology and Evolution*, 8(20), 10219-10232. <https://doi.org/10.1002/ece3.4497>
- Toledo, L. F., Ribeiro, R. S., & Haddad, C. F. B. (2007). Anurans as prey: an exploratory analysis and size relationships between predators and their prey. *Journal of Zoology*, 271, 170-177. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7998.2006.00195.x>
- Uetz, P., Freed, P., Aguilar, R., Reyes, F., Kudera, J. & Hošek, J. (eds.) (2023) The Reptile Database, <http://www.reptile-database.org>, accessed [04/12/2023].
- Zaher, H., Grazziotin, F. G., Cadle, J. E., Murphy, R. W., Moura-Leite, J. C., & Bonatto, S. L. (2009). Molecular phylogeny of advanced snakes (Serpentes, Caenophidia) with an emphasis on South American Xenodontines: A revised classification and descriptions of new taxa. *Papéis Avulsos de Zoologia (Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo)*, 49(11), 115–153. <https://doi.org/10.1590/S0031-10492009001100001>
- Zaher, H., Murphy, R. W., Arredondo, J. C., Graboski, R., Machado-Filho, P. R., Mahlow, K., Montingelli, G. G., Quadros, A. B., Orlov, N. L., Wilkinson, M., Zhang, Y. P., & Grazziotin, F. G. (2019). Large-scale molecular phylogeny, morphology, divergence-time estimation, and the fossil record of advanced caenophidian snakes (Squamata: Serpentes). *PLoS One*, 14(5), e0216148. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0216148>
- Wassermann, G., & Tramezzani, J. H. (1963). Separate distribution of adrenaline -and noradrenaline- secreting cells in the adrenal of snakes. *General and Comparative Endocrinology*, 3(5), 480-489. [https://doi.org/10.1016/0016-6480\(63\)90080-7](https://doi.org/10.1016/0016-6480(63)90080-7)
- Wright, A., & Chester Jones, I. (1957). The adrenal gland in lizards and snakes. *Journal of endocrinology*, 15(1), 83-99. <https://doi.org/10.1677/joe.0.0150083>