

LUCIANNE DABÉS HADDAD GOMES

**Estudo do balanço hídrico em uma comunidade de anuros do Litoral Norte da
Bahia, Brasil**

Salvador

2009

LUCIANNE DABÉS HADDAD GOMES

**Estudo do balanço hídrico em uma comunidade de anuros do Litoral Norte da
Bahia, Brasil**

Dissertação apresentada ao Instituto
de Biologia da Universidade Federal
da Bahia para obtenção do título de
Mestre em Ecologia e
Biomonitoramento.

Orientador: Wilfried Klein
Co-orientador: Marcelo Felgueiras
Napoli

Salvador

2009

Dabés, Lucianne

Estudo do balanço hídrico em uma comunidade de anuros do Litoral Norte da Bahia, Brasil

42

Dissertação (Mestrado) - Instituto de Biologia da Universidade Federal da Bahia.

1. Amphibia 2. Anura 3. Perda evaporativa de água 4. Absorção de água 5. Balanço hídrico 6. Bahia

I. Universidade Federal da Bahia. Instituto de Biologia.

Comissão Julgadora:

Prof(a). Dr(a). Denis Otávio Vieira Andrade

Prof(a). Dr(a). Francisco Carlos Rocha de Barros Junior

Prof. Dr. Wilfried Klein

Orientador

Prof. Dr. Marcelo Felgueiras Napoli

Co-orientador

Dedico este trabalho à minha família
que é o meu suporte, a todos que me ajudaram
e aos anfíbios que necessitam de mais estudos

Agradecimentos

Gostaria de agradecer primeiramente à minha família pelo apoio moral e financeiro durante esta fase da minha vida.

Agradeço à orientação do Prof. Dr. Wilfried Klein e à co-orientação do Prof. Dr. Marcelo Felgueiras Napoli, pela confiança e amizade de ambos.

Ao Prof. Dr. Francisco Carlos Rocha de Barros Júnior, pela ajuda nas análises estatísticas.

Ao Prof. da Faculdade Social da Bahia, Paulo Adriano, por perder horas comigo no laboratório me ajudando na estatística.

Agradeço em especial aos meus amigos Vanessa Bonfim (LAFISA), Simone Rondinelli (Mestrado PPGE/UFBA) e Vitor Rios (Mestrado PPGE/UFBA) que me ajudaram durante todo esse tempo, me dando conselhos e estando comigo nas horas mais difíceis da minha vida, independente do mestrado.

Obrigada aos amigos que me ajudaram tanto durante as coletas: Tiago Filadelfo (LAFISA/UFBA); Tiago Jordão (NOAP/UFBA); Milena Carmadelli, Rafael Oliveira de Abreu e Patrícia Mendes Fonseca (AMPHIBIA/UFBA).

Obrigada a todos do Laboratório de Taxonomia e História Natural de Anfíbios – AMPHIBIA/UFBA que forneceu o espaço para que eu pudesse fazer meus estudos.

Obrigada a todos do Laboratório de Fisiologia Animal Comparada – LAFISA/UFBA pela compreensão e ajuda durante os estudos.

Vanessa, obrigada pela força e ajuda durante todo esse tempo de convivência. Você é uma amigona!

Felipe, obrigada por ter me ajudado durante as coletas, mesmo não sendo biólogo, em casa com os meus trabalhos, com as minhas irritações. Obrigada pela paciência e compreensão. Te amo!

Ao IBAMA por ter concedido a licença número 2239548 e à FAPESB pela bolsa de mestrado.

Enfim, gostaria de agradecer a todos que me ajudaram, se é que esqueci de alguém.

OBRIGADA!!!!

Índice

Introdução geral	07
Título do artigo	11
<i>Abstract/Resumo</i>	12
Introdução	16
Materiais e Métodos	18
Desenho amostral e método de campo	18
Coletas de dados no laboratório	20
Desidratação	20
Reidratação	21
Tratamento dos dados	22
Concordância entre padrões de ordenação da comunidade com 11 e 30 espécies	23
Variáveis fisiológicas vs variáveis ambientais	24
Resultados	26
Desidratação	26
Reidratação	26
Concordância entre padrões de ordenação da comunidade com 11 e 30 espécies	26
Variáveis ambientais	27
Variáveis fisiológicas vs variáveis ambientais	27
Discussão	29
Conclusão geral	34

Introdução Geral

Tradicionalmente, considera-se que nos “anfíbios típicos” (p. ex., sapos e rãs) a perda evaporativa de água através da pele é similar à perda evaporativa de água de uma superfície de água livre, como a de um lago. Todavia, nos últimos 50 anos, estudos têm mostrado que nem todas as espécies seguem este padrão (Young et al. 2005; Hillman et al. 2009).

Estudos mostraram que a umidade está entre os principais fatores que afetam a distribuição ecológica dos anfíbios, influenciando a composição das comunidades de anuros (Duellman e Trueb 1986; Toft 1982; Shoemaker et al. 1992; Giaretta et al. 1997; Bastazini et al. 2007). Assim, muitos anuros desenvolveram adaptações para manter a homeostasia hídrica, reduzindo a perda evaporativa de água ou aumentando a capacidade de absorção de água do meio.

Diversas são as maneiras pelas quais algumas espécies de anfíbios reduzem a perda evaporativa de água do seu corpo (Wells 2007; Hillman et al. 2009). Os mecanismos de conservação de água nos anfíbios podem envolver a diminuição da perda de água através da pele, modificação dos produtos nitrogenados excretados pelos rins e o acúmulo de água em vesículas e tecidos (p.ex., bexiga e sacos linfáticos). Estes mecanismos, por sua vez, estão associados a adaptações comportamentais (Stille 1958), morfológicas (Winokur e Hillyard 1992) e/ou fisiológicas (Duellman e Trueb 1986).

Como adaptações comportamentais em anuros destacam-se a redução da superfície corpórea através da posição de conservação e o padrão de atividade noturna (Gillis 1979). A postura corpórea de um anuro ainda pode estar associada diretamente à reidratação, postura conhecida como *water absorption response*, onde a superfície ventral é pressionada contra o substrato úmido (Stille 1958; Brekke et al. 1991). Uma

área na região ventral conhecida como *pelvic patch* ou *seat patch* é responsável por 70% a 90% da absorção de água (McClanahan e Baldwin 1969; Christensen 1974), sendo constituída por uma elaborada rede de capilares (Roth 1973; Christensen 1974). Ainda como adaptações morfológicas à desidratação e/ou reidratação, destacam-se: presença de glândulas secretoras de lipídeos na pele, tornando-a impermeável; cobertura de sacos linfáticos; espessura, forma e presença de verrugas hidrofílicas (protrusões que aumentam a área de superfície e caracterizam o tegumento ventral de muitos anuros, aumentando a absorção de água) (Winokur e Hillyard 1992); e aumento da capilaridade no ventre (Toledo e Jared 1993). Além disso, a região ventral da epiderme de alguns anuros possui propriedades quimiosensoriais e pode detectar sais, ajudando os indivíduos a evitar águas hiperosmóticas (Koyama et al. 2001).

Anuros neotropicais de ambientes hidricamente estressantes parecem possuir adaptações para reduzir a perda de água ou aumentar a captação de água do meio. Hillman et al. (2009) categorizaram a utilização do habitat por anfíbios anuros usando características morfológicas. Todavia, não há estudos que tenham investigado a desidratação ou reidratação em anuros como variáveis explicativas dos padrões de distribuição espacial das espécies de comunidades de ambientes hidricamente estressantes, como os de Caatinga ou de Restinga (ver Rizzini 1979 para caracterização de Caatinga e Restinga).

O presente estudo almeja preencher parte desta lacuna de conhecimento e tem por objetivo principal testar se variáveis fisiológicas relacionadas à economia de água (taxas de desidratação e de reidratação) são capazes de explicar a distribuição espacial de uma comunidade de anuros, estudada por Bastazini et al. (2007), em ambiente de Restinga no Litoral Norte do Estado da Bahia, partindo do pressuposto de que não há diferença entre taxa de desidratação 1ºdia vs. 2ºdia, que há diferença entre taxa de

reidratação a partir da água e de um substrato neutro e, já que foram coletadas apenas 11 espécies das 30 originais, que essas 11 espécies podem representar o padrão de distribuição das 30 espécies encontradas por Bastazini et al. (2007). Como objetivo secundário foi testada a hipótese nula que não há diferença entre taxa de desidratação em um meio onde o animal possa adotar uma postura de conservação de água (desidratação no vidro) e onde não possa (desidratação na grade).

Manuscrito para apreciação

Este capítulo apresenta o manuscrito intitulado “Estudo do balanço hídrico em uma comunidade de anuros do Litoral Norte, Bahia, Brasil.”, que se destina à submissão e publicação no periódico científico *Physiological and Biochemical Zoology*. Os resultados aqui discorridos, assim como a discussão e conclusões derivadas, decorrem do desenvolvimento da presente dissertação. Os critérios de redação e formatação seguem as normas do periódico, as quais se encontram disponíveis na íntegra no ANEXO desta dissertação.

**Estudo do balanço hídrico em uma comunidade de anuros do Litoral Norte da
Bahia, Brasil**

Lucianne Dabés^{1,2}, Marcelo Felgueiras Napoli¹, Wilfried Klein¹

¹ Instituto de Biologia, Universidade Federal da Bahia, Salvador, Bahia, Brasil

² Mestrado em Ecologia e Biomonitoramento, Instituto de Biologia, Universidade
Federal da Bahia, Salvador, Bahia, Brasil

Endereço para contato: Instituto de Biologia, Universidade Federal da Bahia, Rua
Barão de Jeremoabo 147, Campus Universitário de Ondina, 40170-970 Salvador, Bahia,
Brasil, Tel.: +55 71 3283-6560, FAX: +55 71 3283-6511, Email:
ludabes@hotmail.com, napoli@ufba.br, klein@ufba.br

Resumo

Anfíbios terrestres que não possuem adaptações morfológicas, fisiológicas ou comportamentais específicas para manter a homeostasia hídrica, podem desidratar quando expostos a baixas umidades. A umidade está entre os principais fatores que afetam a distribuição espacial e a composição da comunidade de anfíbios. O presente estudo investigou se as taxas de desidratação e de reidratação são capazes de explicar a distribuição espacial de uma comunidade de anuros em ambiente de restinga no litoral norte do Estado da Bahia, Brasil. A comunidade foi representada por 11 espécies distribuídas em 27 réplicas. Foram mensuradas, para cada espécie, as taxas de desidratação e reidratação a partir da água e reidratação a partir de substrato neutro. As réplicas foram ordenadas em eixos de variação com base nas variáveis fisiológicas, uma por vez, a fim de se buscar por padrões fisiológicos de organização da comunidade. Vinte descritores do ambiente foram reduzidos a eixos sintéticos de variação pela análise dos componentes principais (PCA). A fim de se testar a hipótese nula de ausência de associação entre o conjunto de dados ambientais e os eixos de ordenação representantes de cada variável fisiológica foi utilizada a análise de regressão múltipla. A hipótese nula de ausência de associação entre cada uma das três variáveis fisiológicas, separadamente, e o conjunto de dados ambientais foi rejeitada nas três análises de regressão múltipla. Das 15 regressões parciais possíveis somente foram significativas aquelas entre PC1 vs. taxa de reidratação a partir de substrato neutro, PC1 vs. taxa de reidratação a partir da água e PC2 vs. taxa de desidratação. A comunidade de anuros investigada mostrou uma forte associação com as variáveis fisiológicas estudadas nesse trabalho. Tanto a taxa de desidratação como a taxa de reidratação permitiram a identificação de um gradiente de distribuição dentro da comunidade. Parte desta

associação estava ligada à existência de dois grupos de réplicas principais com características distintas: zona da praia e ambientes sem corpos de água, fortemente influenciadas por espécies de hábitos muito específicos e com caracteres morfológicos marcantes, *Phyllodytes melanomystax*, *Scinax auratus* e *Ischnocnema ramagii*.

Palavras-chave: Amphibia, Anura, perda evaporativa de água, absorção de água, balanço hídrico, Bahia

Abstract

Terrestrial amphibians without morphological, physiological or behavioral adaptations to maintain water homeostasis may dehydrate when exposed to low humidities. Humidity is an important factor affecting the spatial distribution and community composition of amphibians. This study investigated whether the rates of dehydration and rehydration are able to explain the spatial distribution in a community of frog in a Restinga environment, northern coast of Bahia, Brazil. The community was represented by 11 species distributed in 27 replicates. For each species the rates of dehydration, rehydration from water and rehydration from a neutral substrate were measured. The replicates were sorted into lines of variation based on the physiological variables, one at a time, to search for patterns of physiological organization. Twenty environmental descriptors were reduced to strands of synthetic variation using principal components analysis (PCA). In order to test the null hypothesis of no association between the set of environmental data and the ordination axes of representatives of each physiological variable, multiple regression analysis was used. The null hypothesis of no association between each of the three physiological variables separately, and all environmental data was rejected in the three multiple regression analysis. Of the 15 possible partial regressions only PC1 vs. rehydration rate from neutral substrate, PC1 vs. rate of rehydration from water and PC2 vs. rate of dehydration were significant. The community of anurans showed a strong association with the physiological variables used in this study. Both the rate of dehydration as the rate of rehydration allowed the identification of a gradient of distribution within the community. Part of this association was linked to the presence of two main groups of replicas with different characteristics: the beach area and environments without water, strongly influenced species of very

specific natural history and morphological characters: *Phyllodytes melanomystax*, *Scinax auratus*, and *Ischnocnema ramagii*.

Keywords: Amphibia, Anura, evaporative water loss, water absorption, water balance,

Bahia

Introdução

A umidade está entre os principais fatores que afetam a distribuição espacial de anfíbios (Duellman e Trueb 1986) e variações na composição de comunidades de anuros ao longo de gradientes de umidade são conhecidas pelos herpetólogos (Toft 1982; Giaretta et al. 1997; Bastazini et al. 2007). Esta associação a gradientes de umidade pode estar relacionada aos níveis de tolerância à desidratação das espécies, já que espécies que toleram maiores níveis de desidratação possuem maior terrestrialidade que outras que toleram menores níveis de desidratação (Shoemaker et al. 1992; Hillman et al. 2009).

Contudo, anuros de ambientes sujeitos ao estresse hídrico parecem possuir adaptações morfológicas, comportamentais e/ou fisiológicas específicas e podem ter na reidratação o elemento-chave de sua regulação hídrica. Navas et al. (2004) atentaram para a possibilidade de que uma pele mais lisa, mais fina e mais vascularizada seja capaz de promover de maneira mais eficaz a captação de água de anuros na Caatinga e, neste caso, sinalizaram para a reidratação como um processo-chave no balanço hídrico. Neste escopo, Burggren e Vitalis (2004) mostraram que a reidratação é mais acelerada que a desidratação e Cartledge et al. (2005) citaram que muitos anuros utilizam a umidade do solo para a reidratação quando estão enterrados. Hillman et al (2009) categorizaram a utilização do habitat por anfíbios anuros usando características morfológicas, todavia, não há estudos que tenham investigado a desidratação ou a reidratação em anuros como variáveis explicativas dos padrões de distribuição espacial das espécies de comunidades de ambientes hidricamente estressantes, como os de Caatinga ou de Restinga (ver Rizzini 1979 para caracterização de Caatinga e Restinga).

O presente estudo almeja preencher parte desta lacuna de conhecimento e tem por objetivo principal testar se variáveis fisiológicas relacionadas à economia de água (taxas de desidratação e de reidratação) são capazes de explicar a distribuição espacial de uma comunidade de anuros, estudada por Bastazini et al. (2007), em ambiente de Restinga no Litoral Norte do Estado da Bahia, partindo do pressuposto de que não há diferença entre taxa de desidratação 1º dia vs. 2º dia, que há diferença entre taxa de reidratação a partir da água e de um substrato neutro e, já que foram coletadas apenas 11 espécies das 30 originais, que essas 11 espécies podem representar o padrão de distribuição das 30 espécies encontradas por Bastazini et al. (2007). Como objetivo secundário foi testada a hipótese nula que não há diferença entre taxa de desidratação em um meio onde o animal possa adotar uma postura de conservação de água (desidratação no vidro) e onde não possa (desidratação na grade).

Material e Métodos

Desenho amostral e métodos de campo

Utilizamos como objeto de estudo a comunidade de anuros analisada por Bastazini et al. (2007), por se situar em ambiente de restinga (áreas sob estresse hídrico) e por ter sido identificado um padrão espacial de distribuição das espécies de anuros. Réplicas, valores de abundância das espécies por réplica e os valores das variáveis ambientais usados no presente estudo são aqueles originalmente coligidos por aqueles autores, assim como a nomenclatura das réplicas.

Bastazini et al. (2007) amostraram 30 réplicas (Figura 1) (P1–P30), medindo 60 x 25 m cada, que foram distribuídas em áreas contíguas de ambiente de Restinga no Município de Mata de São João, Estado da Bahia, Brasil (Bastazini et al. 2007). Estas réplicas encontram-se inseridas em duas áreas privadas: Reserva Sapiranga (Anexo 1a) e uma propriedade na Praia do Forte (Anexo 1b). A Reserva Sapiranga (12° 33' 59" S; 38° 02' 18" W, 12 m de altitude) inclui 500 hectares cobertos por vegetação arbórea, na qual ocorrem ambiente lântico com vegetação arbórea (P1, P4 e P21), ambiente lótico com vegetação arbórea (P5, P13, P14 E P15) e ambiente sem corpos d'água e com baixa densidade de bromélias ($N < 20$) (P11, P12, P23 e P24). A Restinga da Praia do Forte (12° 34' 12" S; 38° 00' 04" W, nível do mar) é caracterizada por áreas de zona de praia com alta densidade de bromélias ($N > 100$) (P8, P9, P10, P16, P17, P18, P28, P29 e P30) e ambiente lântico com vegetação arbórea (P6, P7, P19, P20 e P26). Vinte variáveis ambientais foram aferidas e usadas na íntegra no presente estudo, sendo elas: (1) umidade do solo (USL), (2) umidade do ar (UAR), (3) temperatura do ar (TAR), (4) % da réplica coberta por água (%AG), (5) tipo de corpo d'água na réplica (variável em

escala ordinal) (TCA), (6) largura máxima do corpo d'água (LCA), (7) profundidade máxima do corpo d'água (PCA), (8) % de serapilheira (%SE), (9–12) % do estrato vegetal coberto por folhas (EST 0–5 m, 6–10 m, 11–15 m e >15 m), (13) densidade de árvores (DAV), (14) número de bromélias terrestres (BRT), (15) número de bromélias epífitas (BRE), (16) altura média das bromélias (ABR), (17) diâmetro médio das bromélias (DBR), (18) % das bromélias preenchidas com serapilheira (BRS), (19) % de bromélias preenchidas com água (BRA) e (20) % de bromélias sob insolação direta (BRI).

Das 30 espécies de anuros encontradas por Bastazini et al. (2007), 11 foram coletadas sob licença do IBAMA (Instituto brasileiro do meio ambiente - numero 2239548), no período de Outubro de 2007 à Setembro de 2008, e analisadas no presente estudo (número de espécimes; massa corpórea média \pm desvio padrão): Brachycephalidae – *Ischnocnema ramagii* (Boulenger 1888) (10; 0,86 \pm 0,25 g); Bufonidae – *Rhinella jimi* (Stevaux 2002) (10; 341,54 \pm 137,88 g); Hylidae – *Dendropsophus branneri* (Cochran 1948) (10; 0,31 \pm 0,03 g), *D. decipiens* (Lutz 1925) (10; 0,27 \pm 0,07 g) *D. minutus* (Peters 1872) (10; 0,76 \pm 0,11 g), *Hypsiboas albomarginatus* (Spix 1824) (10; 6,24 \pm 0,45 g), *Phyllodytes melanomystax* (Caramaschi et al. 1992)(10; 1 \pm 0,1 g), *Scinax auratus* (Wied-Neuwied 1821) (10; 0,79 \pm 0,07 g), *S. eurydice* (Bokermann 1968) (8; 7,38 \pm 0,68 g), *Scinax* sp. (grupo de *S. ruber*) (10; 2,07 \pm 0,54 g); Leptodactylidae – *Leptodactylus natalensis* (Lutz, 1930) (8; 5,46 \pm 1,68 g), *L. ocellatus* (Linnaeus 1758) (10; 36,92 \pm 11,08 g). Após os experimentos, todos os animais foram depositados no Museu de Zoologia da UFBA

Os espécimes de anuros foram coligidos na mesma área amostral usada por Bastazini et al. (2007). Somente anuros visivelmente saudáveis foram coletados, armazenados em sacos plásticos e transportados para o Laboratório de Fisiologia

Animal Comparada – LAFISA, Universidade Federal da Bahia. Os espécimes foram mantidos por sete dias consecutivos em terrários contendo uma placa de Petri com água *ad libitum* e outra com papel toalha umedecido. Não foi oferecido alimento durante o período laboratorial.

Coleta de dados no laboratório

Foi montado um sistema para desidratação dos animais. Este sistema continha dez garrafas plásticas de 500 ml com 6,3 cm de diâmetro por 18,5 cm de comprimento, com uma entrada e uma saída de ar em cada extremidade. No interior de cinco garrafas foi fixada uma placa de vidro de 12,2 cm X 6,5 cm a fim de permitir que o animal adotasse uma postura de conservação de água (dorso do animal como principal superfície de exposição ao fluxo de ar). Em outras cinco garrafas, os animais foram acondicionados dentro de recintos feitos de grades de plástico com 0,2 cm de malha para que toda a sua superfície corpórea estivesse exposta ao fluxo de ar. Indivíduos de *Rhinella jimi*, por apresentarem tamanhos corpóreos maiores que as demais espécies analisadas, foram mantidos em câmaras com 19,4 cm de diâmetro por 15 cm de comprimento. As garrafas foram organizadas de maneira alternada (uma garrafa com grade após uma garrafa com vidro) (Figura 2) (Anexo 2).

Desidratação: a fim de se obter o cálculo da Taxa Evaporativa de Água (TEA) de cada indivíduo, cada animal, 24h após sua captura, foi limpo em papel toalha e pesado em balança semi-analítica ($\pm 0,01$ g, Shimadzu B3200H), sendo em seguida depositado nas garrafas plásticas. Os animais desidratados nas grades foram pesados com as mesmas, objetivando reduzir o estresse durante a manipulação, e subtraído o peso da grade, sem

os mesmos, para obtenção do peso do animal. Utilizando bomba de ar OXYBOLHA, produziu-se fluxo contínuo de ar que, após passar por coluna de sílica gel (desumidificação), foi lançado em cada garrafa plástica com fluxo de 110 ± 5 ml/min (Figura 2). O fluxo de ar foi controlado antes do experimento pelo TR-SSI SABLE SYSTEMS (Bomba de ar e medidor de fluxo). A cada 1h, os animais foram retirados das garrafas e pesados. Para animais de tamanho menor (massa corpórea $< 0,30$ g) foi aferido o peso a cada 20 minutos, evitando que os mesmos morressem. O experimento terminou quando o animal apresentou uma perda de 20% da massa corpórea inicial, valor que não resulta em danos permanentes para o animal (Cartledge et al. 2006), ou após 7 horas de desidratação. Dois dias após a primeira desidratação, os animais foram desidratados novamente seguindo o mesmo protocolo, para medir a reidratação a partir de dois meios diferentes.

Reidratação: Imediatamente após o experimento de desidratação, foi determinada a taxa de reidratação dos animais a partir da água (TR_{H_2O}) e do substrato neutro (TR_{Sub}).

a) Taxa de reidratação a partir da água (TR_{H_2O}): ao sair do sistema de medição da TEA, metade dos animais, um por vez, foi depositada sobre placa de Petri contendo água destilada. Após 30 min, os animais foram retirados deste substrato, secados em papel toalha e pesados.

b) Taxa de reidratação a partir do substrato neutro (TR_{Sub}): Outra metade dos animais foi submetida à reidratação a partir de um substrato neutro, onde uma placa de espuma (para que nenhuma espécie tivesse vantagens sobre o meio de desidratação) de 6,6 cm de espessura foi umedecida com um litro de água destilada e mantida dentro de garrafas

com 16,4 cm de diâmetro. Após 30 min, os animais foram retirados deste substrato, secados em papel toalha e pesados.

A área superficial total do anuro foi utilizada no cálculo da determinação da taxa de reidratação e desidratação das espécies. Ao fim dos experimentos, os animais foram mortos, fixados e tiveram extraídas suas peles (exceto mãos e pés). Cada pele foi corada em azul de metileno e fotografada em 5 Mp de resolução em máquina fotográfica digital Sunfire Z50, a uma distância de 17,5 cm. A determinação da área superficial total do espécime foi aferida a partir da fotografia da pele, seguindo o método de Camacho (2006).

Tratamento dos dados

Desidratação e Reidratação: Para o cálculo da TR_{H_2O} e TR_{Sub} , os valores da massa corpórea inicial (TRI) e final (TRF) foram padronizados pelo tempo e pela área superficial: TR_{H_2O} ou $TR_{Sub} = (TRF - TRI) / \text{min. cm}^2$. Para o cálculo da TEA foram usadas medidas de massa corpórea inicial (TEA-MI) e final (TEA-MF) em micro gramas, padronizada pelo tempo e pela área superficial: $TEA = (TEA - MI - TEA - MF) / \text{min. cm}^2$. Para espécimes pesados mais de uma vez durante a desidratação foi calculada a média de desidratação ($\text{mg}/\text{min. cm}^2$) do espécime, obtendo 10 valores de desidratação, sendo 5 valores de espécimes desidratados na grade e 5 no vidro.

A hipótese nula (H_0) de ausência de diferença das taxas de desidratação entre os diferentes tratamentos (grade e vidro), e a premissa de que não há diferença entre o primeiro e segundo dia, foi testada pela análise das diferenças entre duas retas de regressão linear simples com valores em logaritmos decimais (Sokal e Rohlf 1981; Vanzolini 1993). Foi testada a H_0 de que os coeficientes de regressão não diferiam

significativamente e a H_0 de que o afastamento entre duas retas pudesse ser atribuído a flutuações de amostra. O valor crítico de significância foi corrigido pelo método de Bonferroni (Bland 2004), já que o mesmo conjunto de dados foi utilizado nas comparações.

Concordância entre padrões de ordenação da comunidade com 11 e com 30 espécies:

Como primeiro procedimento procurou-se verificar a premissa de que o padrão de distribuição espacial da comunidade de anuros obtido por Bastazini et al. (2007) pode ser representado pela utilização de 11 das 30 espécies originalmente amostradas. Com este propósito, foram elaboradas a partir dos dados originais de Bastazini et al. (2007) duas matrizes: uma matriz de 30 linhas (réplicas) vs. 11 colunas (espécies), denominada matriz de abundância (Anexo 3) e representando a variável dependente da análise; uma matriz de abundância transformada, dividindo-se o valor de cada célula da matriz original pelo somatório da linha, de modo que todas as unidades amostrais possuíssem o mesmo peso na solução da análise. O Método de Escalonamento Multidimensional Não-Métrico (NMDS) (McCune & Grace 2002) foi utilizado com o objetivo de se promover a ordenação indireta da comunidade de anuros. Um único eixo de ordenação das espécies foi gerado, utilizando-se a matriz de abundância transformada, usando como medida a distância de Sorensen (Bray Curtis). As análises foram realizadas a partir de cinquenta configurações iniciais para os dados reais a fim de evitar o problema de mínimos locais, usando como critério de estabilidade o valor de instabilidade de 0,0005, 20 iterações para avaliar a estabilidade da solução e 500 como o número máximo de iterações. Foi aplicado o teste de Monte Carlo (50 aleatorizações) para avaliar a força do padrão da matriz de abundâncias padronizadas, comparando o estresse calculado na ordenação da matriz original à distribuição de estresses gerados na

ordenação das matrizes aleatorizadas. A porcentagem de explicação das medidas de distância na matriz original pelas distâncias no eixo de ordenação foi avaliada pela estatística de Mantel padronizada (r), calculada através de um teste de correlação de Mantel entre a matriz original (usando a distância de Sorensen) e o eixo de ordenação (usando a distância euclidiana). A hipótese nula de ausência de associação entre o eixo NMDS obtido em Bastazini et al. (2007) e o eixo NMDS aqui obtido foi testada pelo coeficiente de correlação de Pearson – r (Sokal e Rohlf 1981).

Variáveis fisiológicas vs. variáveis ambientais: A fim de se testar a hipótese nula de ausência de associação entre o conjunto de dados ambientais (matriz B - variáveis independentes: componentes principais com autovalores $> 1,0$) e os eixos de ordenação representantes de cada variável fisiológica (matriz A - variáveis dependentes) foi utilizado a análise de regressão múltipla (Sokal e Rohlf 1981). O valor crítico de significância ($P > 0,05$) foi corrigido pelo método de Bonferroni (Bland 2004) para as análises de regressão múltipla e parcial desenvolvidas com o mesmo conjunto de dados.

Desta forma, foram elaboradas duas matrizes: uma matriz de 27 linhas (réplicas) vs. 3 colunas (variáveis fisiológicas – desidratação, reidratação a partir da água e reidratação a partir de substrato neutro), representando as variáveis dependentes da análise (matriz A); uma matriz de 27 linhas (réplicas) vs. 20 colunas (variáveis ambientais) representando as variáveis independentes da análise (matriz B). Importante ressaltar que três réplicas (P22, P25, P27) das 30 originais foram descartadas por não apresentarem espécimes das 11 espécies usadas nas análises.

Para determinação do valor das variáveis fisiológicas por parcela na matriz A foram feitos os seguintes procedimentos: para cada espécie de anuro foi calculada a média aritmética dos valores obtidos para cada variável fisiológica analisada (desidratação, reidratação a partir do substrato neutro e reidratação a partir da água),

denominado valor médio padrão. Para cada réplica, o número de espécimes de cada espécie encontrado por Bastazini et al. (2007) foi multiplicado pelo valor médio padrão da referida espécie, resultando no valor P. O valor final de cada célula da matriz foi resultante do somatório dos valores P de uma mesma réplica dividido pelo número total de espécimes da réplica (valor médio da réplica), atribuindo-se assim peso maior à espécie mais numerosa na réplica. Um eixo de ordenação das réplicas foi obtido para cada variável fisiológica, ordenando-se as células pelo valor médio da réplica (Anexo 4)

Foi feita a Análise de Componentes Principais (PCA) a fim de se reduzir as variáveis ambientais originais (matriz B) a poucos eixos que explicassem a maior parte da variação observada a partir de matriz de correlação (McCune e Grace 2002). Os escores dos componentes principais, sobre as unidades amostrais, foram calculados utilizando-se rotação VARIMAX.

Resultados

Desidratação: De acordo com as regressões lineares dos valores de desidratação dos espécimes na grade e no vidro *vs.* massa corpórea inicial (coeficiente de regressão e intersecção com eixo Y), foi aceita a premissa de que os tratamentos apresentaram padrões de desidratação semelhantes no 1º e no 2º dias (figura 3a e 3b) (Coeficiente de regressão: $P_{\text{grade1}^\circ\text{vs.2}^\circ\text{dia}} = 0,9265$; $P_{\text{vidro1}^\circ\text{vs2}^\circ\text{dia}} = 1$. Intersecção com Y: $P_{\text{grade1}^\circ\text{vs2}^\circ\text{ dia}} = 0,7254$, $P_{\text{vidro1}^\circ\text{vs2}^\circ\text{ dia}} = 0,8686$) e não rejeitada a hipótese nula de ausência de diferenças entre os tratamentos quanto o oferecimento ou não de substrato favorável à postura de economia de água (figura 3c e 3d) (Coeficiente de regressão: $P_{\text{grade1}^\circ\text{Xvidro1}^\circ\text{dia}} = 0,4498$ $P_{\text{grade2}^\circ\text{Xvidro2}^\circ\text{dia}} = 0,5157$. Intersecção com Y: $P_{\text{grade1}^\circ\text{Xvidro1}^\circ\text{dia}} = 0,2378$ $P_{\text{grade2}^\circ\text{Xvidro2}^\circ\text{dia}} = 0,1005$). Aceitando a premissa (demonstrando que a manutenção dos animais no laboratório, nas condições utilizadas, não afetou os dados obtidos) e não havendo rejeição da H_0 , foi calculado o valor de desidratação de cada espécime a partir da média aritmética dos valores de desidratação na grade e no vidro usando os dados do 1º e do 2º dia.

Reidratação: A regressão linear dos valores de reidratação dos espécimes no substrato neutro e na água *vs.* massa corpórea inicial rejeitaram a hipótese nula de ausência de diferenças entre os tratamentos no que concerne ao grau de afastamento entre retas (figura 3e) (Coeficiente de regressão: $P_{\text{águaXsubs. neutro}} = 0,741$. Intersecção com Y: $P_{\text{águaXsubs. neutro}} = 0,0011$) .

Concordância entre padrões de ordenação da comunidade com 11 e com 30 espécies: A ordenação da matriz transformada de abundância de anuros pelo NMDS gerou um eixo

com estresse de 20,3, cujos valores de distância entre as unidades amostrais explicaram 71% das distâncias na matriz original ($r_{\text{Mantel}} = 0,84$, $P = 0,001$). A proporção de eixos extraídos a partir das matrizes aleatorizadas com estresse menor ou igual ao observado foi de 0,002, indicando que a estrutura dos dados é forte (teste de Monte Carlo). A análise de correlação linear aceitou a premissa de que há associação entre os eixos NMDS com 11 e 30 espécies ($r = 0,78$, $P < 0,0001$), evidenciando que as 11 espécies são capazes de representar adequadamente a estrutura dos dados originais.

Variáveis ambientais: A análise dos componentes principais (PCA) aplicada a 27 réplicas (objetos) e 20 variáveis ambientais (atributos) gerou cinco eixos com autovalores maiores que 1,0 (tabela 1), representando 80,75% da variância total após solução Varimax. O PC1 respondeu por 39,3% da variância total e teve as seguintes variáveis ambientais de maior contribuição, em ordem decrescente: % do estrato vegetal coberto por folhas de 6-10m, % de serapilheira, % de bromélias sob insolação direta, número de bromélias terrestres e umidade do solo; PC2 (18,8%): altura média das bromélias, diâmetro médio das bromélias, largura máxima do corpo d'água e profundidade máxima do corpo d'água; PC3 (9,87%): % do estrato vegetal coberto por folhas de 15-20m; PC4 (7,16%): temperatura do ar; PC5 (5,56%): % do estrato vegetal coberto por folhas de 0-5m. Os resultados foram similares aos obtidos por Bastazini et al. (2007) usando 30 réplicas.

Variáveis fisiológicas vs. variáveis ambientais: A hipótese nula de ausência de associação entre cada uma das três variáveis fisiológicas (variáveis dependentes), separadamente, e o conjunto de dados ambientais (PC1-PC5, variáveis independentes) foi rejeitada nas três análises de regressão múltipla ($r^2_{\text{taxa de reidratação água}} = 0,71$, $P < 0,024$; $r^2_{\text{taxa de reidratação substrato neutro}} = 0,79$, $P < 0,0005$; $r^2_{\text{taxa de desidratação}} = 0,50$, $P <$

0,0005; valores de P corrigidos por Bonferroni). Das 15 regressões parciais possíveis (5 para cada variável dependente) somente foram significativas (Figura 4) aquelas entre PC1 vs. taxa de reidratação a partir de substrato neutro ($r^2 = 0,76$; $P < 0,0005$, após correção de Bonferroni), PC1 vs. taxa de reidratação a partir da água ($r^2 = 0,68$; $P < 0,0005$, após correção de Bonferroni) e PC2 vs. taxa de desidratação ($r^2 = 0,45$; $P < 0,0005$, após correção de Bonferroni).

Discussão

Anuros expostos a baixas umidades geralmente assumem uma postura corpórea que reduz a área superficial do corpo exposto ao ar, reduzindo dessa maneira a perda evaporativa de água (Stille 1958; Brekke et al. 1991). Neste estudo não se observou uma diferença significativa entre a taxa de desidratação quando um vidro foi disponibilizado como substrato e a taxa de desidratação quando o substrato usado foi uma grade que, teoricamente, aumenta a área superficial do corpo em contato com o ar seco aumentando a perda evaporativa de água. Essa falta de diferenças significativas nas taxas de desidratação pode ter sido causada pela manipulação dos animais durante a pesagem, pela atividade locomotora dos animais dentro das garrafas ou pela real falta de diferença nas taxas de desidratação das espécies estudadas (Shoemaker et al. 1992). A última hipótese implicará que a superfície ventral do animal não contribuirá significativamente para a perda evaporativa de água.

Burggren e Vitalis (2004) mostraram que a reidratação é mais acelerada que a desidratação, mesmo resultado obtido nesse trabalho. Em geral a reidratação a partir da água foi tão rápida que o animal desidratado recuperou a massa corpórea perdida nos 30 minutos iniciais da reidratação. O mesmo não aconteceu com algumas espécies quando reidratadas no substrato neutro, como, por exemplo, *D. minutus* e *D. branneri*.

A taxa de desidratação mostrou uma associação com o PC2 dos componentes principais (Figura 4a). O PC2 inclui os componentes “altura média de bromélias”, “diâmetro médio de bromélias” e “largura máxima de corpos d’água” e “profundidade de corpos d’água”. Analisando a figura 4a, observamos que as parcelas com as menores taxas de desidratação são aquelas encontradas nas réplicas de ambiente sem corpos de água e baixa densidade de bromélias, conseqüentemente com baixa umidade. A espécie

mais abundante nessas parcelas foi *I. ramagii* (N =79) (Bastazini et al. 2007), anuro geralmente encontrado em ambientes secos (M. F. Napoli, observação pessoal). O próximo grupo de parcelas, nesse gradiente, são aquelas da zona de praia, que é caracterizada por zonas arenosas sem corpos de água e com alta densidade de bromélias terrestres. Essas parcelas são dominadas pelas espécies *P. melanomystax* e *S. auratus*. Animais encontrados em parcelas localizadas em ambientes mais úmidos também mostram taxas de desidratação mais elevadas (Figura 4a). Essa análise demonstra que em ambientes mais secos ocorrem espécies com taxa de desidratação menor, permitindo a sobrevivência dessas espécies nesse ambiente.

A análise dos componentes principais também revelou uma forte associação entre a taxa de reidratação (substrato neutro e água, respectivamente) com as parcelas de zona da praia formando um grupo isolado (Figura 4b e 4c). Nestas parcelas dominam as espécies *P. melanomystax* (74 espécimes) e *S. auratus* (13 espécimes) (Bastazini et al. 2007). De acordo com Wells (2007), alguns anfíbios desenvolvem adaptações que reduzem a perda evaporativa de água, enquanto outros são limitados à micro-habitats úmidos, uma vez que possuem pouca ou nenhuma habilidade na regulação da perda de água. As espécies *P. melanomystax* e *S. auratus*, vivem no interior de bromélias, um micro-habitat úmido, onde há o acúmulo de água proveniente da chuva (Peixoto, 1995; Caramaschii, 2004). Estudos morfológicos usando a mesma comunidade de anuros, como no presente trabalho, demonstraram que o sistema de sacos linfáticos também varia entre as espécies da comunidade. Browne (2008) mostra que *P. melanomystax* e *S. auratus* tem os maiores sacos linfáticos laterais de todas as espécies da comunidade (20% da área total coberta por sacos linfáticos). Sacos linfáticos laterais tão grandes podem ser uma consequência do seu corpo achatado dorso-ventralmente (redução do tamanho lateral do corpo e aumento da superfície relativa dos sacos linfáticos). Um

corpo achatado dorso-ventralmente provavelmente facilita a intromissão do indivíduo entre as brácteas das bromélias, permitindo que a grande cobertura de sacos linfáticos absorva e acumule maior quantidade de água. *Scinax auratus* não é uma espécie típica de zonas de praias e a presença dessa espécie não aparenta ser resultado de adaptações primárias à vida em bromélias ou em ambientes de baixa umidade do solo. Porém, características morfológicas específicas como o achatamento dorso-ventral e uma grande superfície lateral de sacos linfáticos podem permitir sua sobrevivência nas bromélias-tanque. Espécies do gênero *Phyllodytes*, por outro lado, possuem características adicionais que apontam para uma história evolutiva mais antiga relacionada às bromélias do que para as espécies do grupo de *S. auratus*, já que são estritamente bromelígenas e desenvolveu comportamentos específicos para a vida em bromélia, como a deposição de um par de ovos em cada axila da bromélia, diminuindo a competição entre os neonatos (Schneider e Teixeira 2001). Ainda assim, a área coberta por sacos linfáticos e o achatamento dorso-ventral de *Phyllodytes* foram provavelmente desenvolvidos primitivamente em ambientes aquáticos distintos de bromélias. Gêneros pertencentes ao grupo irmão de *Phyllodytes* (p.ex. *Trachycephalus* Tschudi 1838; *Corythomantis* Boulenger, 1896 e *Aparasphenodon* Miranda-Ribeiro 1920) (Faivovich et al. 2005) são constituídos por espécies que reproduzem em ambientes aquáticos e, embora habitem bromélias e outros ambientes semelhantes, não são espécies bromelígenas.

A comunidade de anuros investigada mostrou uma forte associação com as variáveis fisiológicas estudadas nesse trabalho. Tanto a taxa de desidratação como a taxa de reidratação permitiram a identificação de um gradiente de distribuição dentro da comunidade. Todavia, é importante notar que parte desta associação estava ligada à existência de dois grupos de réplicas principais com características distintas: zona da

praia e ambientes sem corpos d'água. O primeiro grupo de réplicas representando um ambiente com solo arenoso, coberto por vegetação arbustiva e alta densidade de bromélias ($N > 100$) e o segundo grupo de réplicas mostrando ausência de corpos de água e com baixa densidade de bromélias ($N < 20$). Outro elemento importante foi que as réplicas da zona da praia estiveram fortemente influenciadas, principalmente, por duas espécies de hábitos muito específicos e com caracteres morfológicos marcantes, *P. melanomystax* e *S. auratus*, bem como as réplicas de ambiente sem corpos de água estiveram dominados por *I. ramagii*. Para Esteves e Lacerda (2000) as comunidades de Restinga são compostas por grupos de espécies oriundas de outros biomas, explicando os seus níveis baixos de endemismo. Conseqüentemente o tempo relativamente curto de evolução das espécies neste ambiente poderia ter impedido a presença de espécies adaptadas especificamente ao ambiente da Restinga.

Conclusão geral

Bastazini et al. (2007) identificaram um padrão espacial de distribuição de espécies na comunidade estudada por nós e identificaram cinco fatores ambientais associadas à organização desta comunidade. Browne (2008) associou a distribuição dos anuros na mesma comunidade com a morfologia dos sacos linfáticos. Nosso estudo mostra que existem variáveis fisiológicas relacionados ao balanço hídrico de anuros que explicam a distribuição das espécies na comunidade estudadas por Bastazini et al (2007) e Browne (2008). *I. ramagii* foi identificada como espécie característica para ambientes secos e, *S. auratus* e *P. melanomystax* sendo dominantes para a zona da praia. A integração de dados ecológicos, morfológicos e fisiológicos dessa maneira permite responder por que uma espécie pode ser encontrada em um dado ambiente, por que uma espécie está dominante num ambiente, além de indicar direções para futuros estudos como, por exemplo, trabalhos de histologia dessas mesmas espécies.

Agradecimento

Agradecemos à V. M. Bonfim, P. Fonseca, R. Abreu, T. Jordão, T. Filadelfo, M. Carmadelli e Paulo Adriano pela ajuda durante o trabalho de campo e de laboratório. L. Dabés recebeu apoio da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB).

Literatura citada

Bastazini C. V., J. F. V. Munduruca, P. L. B. Rocha, e M. F. Napoli. 2007. Amphibians from the Restinga of Mata de São João, Bahia, Brazil: which environmental variables are associated with the anuran composition? *Herpetologica*, 63(4) 459-471.

Camacho A. G. 2006. Em busca da compreensão das relações dos lagartos com seus habitats e micro-habitats: um gradiente na mata atlântica. Dissertação: Programa de Pós Graduação em Ecologia e Biomonitoramento da Universidade Federal da Bahia.

Brekke D. R., S. D. Hillyard, R.M. Winokur. 1991. Behavior associated with the water absorption response by the toad *Bufo punctatus*. *Copeia* 1991:393-401.

Browne H. C. 2008. Tamanho corpóreo, cobertura de sacos linfáticos e textura da pele em anuros apresentam padrões coincidentes com gradientes de umidade do solo em ambientes de Restinga? Dissertação: Programa de Pós Graduação em Ecologia e Biomonitoramento da Universidade Federal da Bahia.

Bland M. 2004. Multiple significance tests and the Bonferroni correction. Encontrado na web <http://www.users.york.ac.uk/~mb55/intro/bonf.htm> (02/02/09)

Burggren W. W., T. Z. Vitalis. 2004. The interplay of cutaneous water loss, gas exchange and blood flow in the toad, *Bufo woodhousei*: adaptations in a terrestrially adapted amphibian. *The Journal of Experimental Biology* 208:105-112.

- Caramashii U., O. L. Peixoto, M. T. Rodrigues. 2004. Revalidation and redescription of *Phyllodytes wuchereri* (Peters, 1873) (amphibian, anura, hylidae). Arquivos do Museu Nacional, Rio de Janeiro, 62(2):185-191.
- Cartledge V. A., P. C. Withers, G. G. Thompson, e K. A. McMaster. 2006. Water relations of burrowing sandhill frog, *Arenophryne rotunda* (Myobatrachidae). Journal of Comparative Physiology B 176:295-302.
- Chistensen C. U. 1974. Adaptations in the water economy of some anuran amphibia. Comparative Biochemical Physiology 47A:1035-1049.
- Duellman W., L. Trueb. 1986. Biology of Amphibians. New York: McGraw-Hill.
- Esteves F. A., L. D. Lacerda. 2000. Ecologia de restingas e lagoas costeiras. NUPEM/UFRJ, Macaé, Rio de Janeiro, Brazil.
- Faivovich J., C. F. B. Haddad, P. C. A. Garcia, D. R. Frost, J. A. Campabell, W. C. Wheeler. 2005. Systematic review of the frog family Hylidae, with special reference to hilineae: Phylogenetic analysis and taxonomic revision. Bulletin of the American museum of natural history, 274: 0- 240.
- Giaretta A. A., R. J. Sawaya, G. Machado, M. S. Araújo, K. G. Facure, H. F. Medeiros, e R. Nunes. 1997. Diversity and abundance of litter frogs at altitudinal sites at Serra do Japi, Southeastern Brazil. Revista Brasileira Zoologia 14:341-346.

Gillis R. 1979. Adaptive differences in the water economies of two species of leopard frogs from eastern Colorado. *Journal of Herpetology* 13:445-450.

Hillman S. S., P. C. Withers, R. C. Drewes, e S. D. Hillyard. 2009. *Ecological and environmental physiology of amphibians*. Oxford University Press, New York.

Koyama H., T. Nagai, H. Takeuchi, e S. D. Hillyard. 2001. The spinal nerves innervate putative chemosensory cells in the ventral skin of desert toads, *Bufo alvarius*, *Cell Tissue Res.* 304 (2) 185-192.

Mc Clanahan L. L., Jr., e R. Baldwin. 1969. Rate of water uptake through the integument of the desert toad, *Bufo punctatus*. *Comparative Biochemical Physiology* 28:381-389.

McCune B., e J. B. Grace. 2002. *Analysis of ecological communities*. Glenden Beach, Oregon, U.S.A.

Navas C. A., M. M. Antoniazzi, e C. Jared. 2004. A preliminary assessment of anuran physiological and morphological adaptation to the Caatinga, a Brazilian semi-arid environment. Pp. 298-305, in S. Morris and A. Vosloo, eds. *International Congress Series. Vol. 1275. Animals and Environments. Proceedings of the Third International Conference of Comparative Physiology and Biochemistry*. Elsevier, Cambridge and Oxford.

Peixoto, O. L. 1995. Associação de anuros a bromeliáceas na Mata Atlântica. *Revista da Universidade Rural- Série Ciências da vida*, 17(2):75-83.

Rizzini C. 1979. *Tratado de fitogeografia do Brasil: aspectos sociológicos e florísticos*. Hucitec, Editora da Universidade de São Paulo, São Paulo.

Roth J. J. 1973. Vascular supply to the ventral pelvic region of anurans as related to water balance. *Journal of morphology* 140: 443-460.

Schneider J. A. P., e R. L. Teixeira. 2001. Relacionamento entre anfíbios anuros e bromélias da restinga de Regência, Linhares, Espírito Santo, Brasil. *Iheringia, Série Zoológica* 91:41-48.

Shoemaker V. H., S. S. Hillman, S. D. Hillyard, D. C. Jackson, L. L. McClanahan, P. C. Withers, e M. L. Wygoda. 1992. Exchange of water, ions, and respiratory gases in amphibious and aquatic amphibians. In *Environmental Physiology of the Amphibians* (ed. M. E. Feder and W. W. Burggren), pp. 125-150. Chicago: University of Chicago Press.

Sokal R. R., e Rohlf, F. J. 1981. *Biometry. The Principles and Practice of Statistics in Biological Research*. 2.ed New York, W. H. Freeman and Company 859p.

Stille W.T. 1958. The water absorption response of an anuran. *Copeia* 1958:217-218.

Toft C.A. 1982. Community structure of litter anurans in a tropical forest, Makokov, Gabon: a preliminary analysis in the minor dry season. *Terre et Vie* 36:223-232.

Toledo R. C., e C. Jared. 1993. Cutaneous adaptations to water balance in amphibians, *Comparative Biochemical Physiological* 105A: 593-608.

Vanzolini, P.E. 1993. Métodos estatísticos elementares em sistemática zoológica. Hucitec, São Paulo.

Wells K. D. 2007. The ecology and behavior of amphibians. The University of Chicago, London.

Winokur R. M., e S. D. Hylliard. 1992. Pelvic cutaneous musculature in toad of the genus *Bufo*. *Copeia*, 1992:760-769.

Young J. E., K. A. Christian, S. Donnellan, C. R. Tracy, e D. Parry. 2005. Comparative analysis of cutaneous evaporative water loss in frogs demonstrates correlation with ecological habitats. *Physiological and Biochemical Zoology* 78(5):847–856.

Tabela 1

Loadings da análise de componentes principais de 20 variáveis ambientais da combinação de 27 unidades amostrais do Município de Mata de São João, Estado da Bahia, Brasil.

Variáveis ambientais	PC1	PC2	PC3	PC4	PC5
UAR	0,445017	-0,090444	-0,689809	-0,226478	-0,188980
TAR	0,188713	0,105167	0,058736	0,931580	-0,118099
USL	0,844801	0,233204	-0,093093	-0,213535	-0,121324
EST 0-5m	0,124456	0,334934	0,097992	-0,150913	0,841899
EST 6-10m	0,909607	0,139529	0,101277	0,225505	0,171704
EST 11-15m	0,544872	0,072937	0,630688	-0,126023	0,245416
EST >15m	0,153428	0,202653	0,880954	0,134683	0,019976
%SE	0,898917	0,121063	0,204281	0,112256	0,186015
DAV	0,665959	-0,186097	0,219892	0,066141	0,520987
DBR	0,094273	0,894677	0,120089	0,094373	0,101938
ABR	-0,201961	0,891827	0,163279	0,095289	0,108088
BRT	-0,864083	-0,181742	-0,128912	-0,070423	0,024677
BRS	-0,275350	0,411646	0,293963	0,665236	0,038108
BRA	-0,633457	-0,038252	-0,137557	0,257419	0,220826
BRI	-0,888618	-0,167882	0,162947	0,063709	-0,005295
BRE	0,310872	0,597690	0,426712	0,050558	-0,185756
%AG	0,357649	0,607967	0,422749	0,021507	-0,108259
TCA	0,521715	0,622898	-0,231792	0,256483	0,075842
LCA	0,414395	0,788840	0,164982	0,092505	0,081354
PCA	0,394462	0,762268	-0,094843	0,077389	0,184278
Autovalores	7,860085	3,770536	1,975816	1,432001	1,113302
% variância total	39,30043	18,85268	9,87908	7,16001	5,56651

Fig. 1: Mapa de Bastazini *et al.* (2007)

Fig. 2: Esquematisação do sistema de desidratação

Fig. 3: Comparação entre retas de regressão linear das taxas de desidratação ((a) grade 1ºdia VS. grade 2ºdia; (b) vidro 1ºdia VS. vidro 2ºdia; (c) grade 1ºdia VS. vidro 1ºdia e (d) grade 2ºdia VS. vidro 2ºdia) e reidratação a partir da água e do substrato neutro sobre o logaritmo do peso inicial em gramas (e).

Fig. 4: Projeções das regressões parciais das variáveis fisiológicas dependentes vs. PC1 (b e c) e PC2 (a). Símbolos representam tipos de ambientes: círculo fechado, réplicas de zona de praia com alta densidade de bromélias (P8-P10, P16-P18, P228-P30); losango fechado, réplicas de ambiente lântico com vegetação arbórea (P1, P4, P6-P7, P19-P21, P26); triângulo aberto, réplicas de ambiente lótico com vegetação arbórea (P5, P13-P15); quadrado aberto, réplicas de ambiente sem corpos de água com baixa densidade de bromélias (P2-P3, P11-P12, P23-P24). a) PC2 vs. taxa de desidratação ($r^2 = 0,45$; $P < 0,0005$, após correção de Bonferroni). b) PC1 vs. taxa de reidratação a partir de substrato neutro ($r^2 = 0,76$; $P < 0,0005$, após correção de Bonferroni); c) PC1 vs. taxa de reidratação a partir da água ($r^2 = 0,68$; $P < 0,0005$, após correção de Bonferroni).

Figura 1

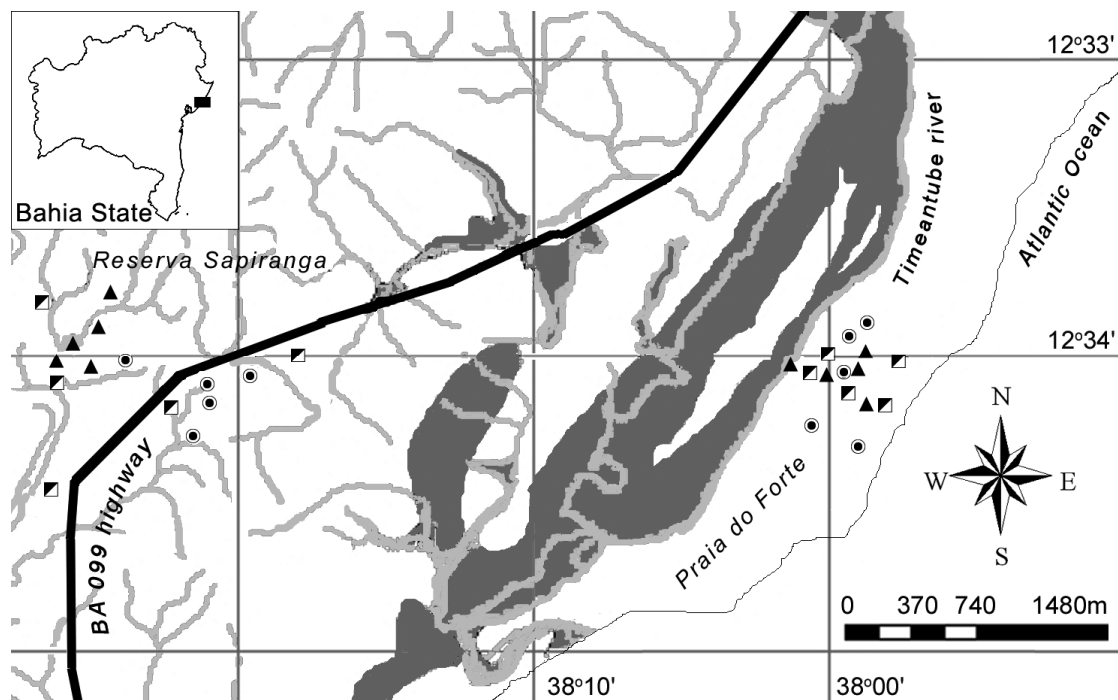


Figura 2

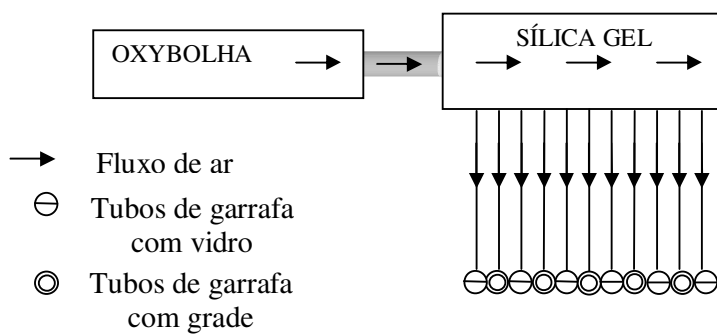


Figura 3a

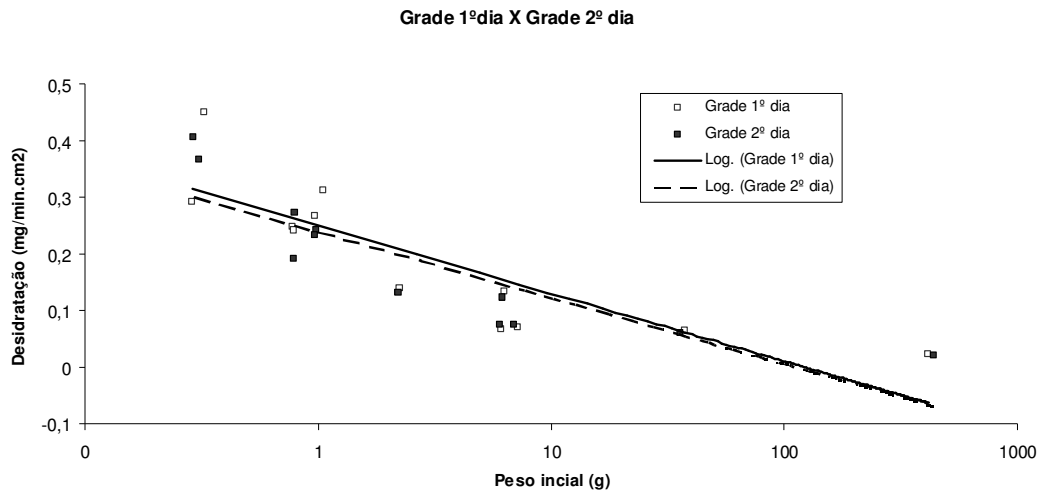


Figura 3b

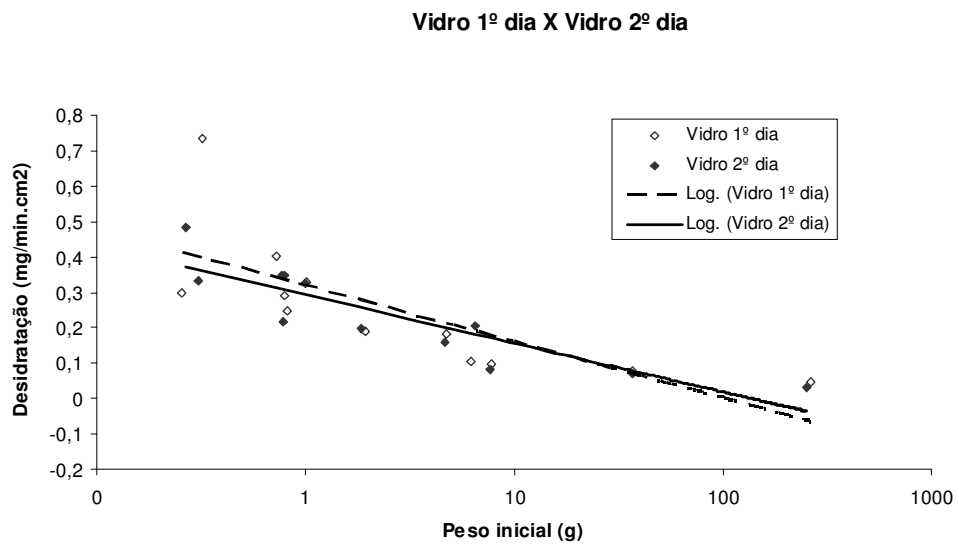


Figura 3c

Grade 1º dia X Vidro 1º dia

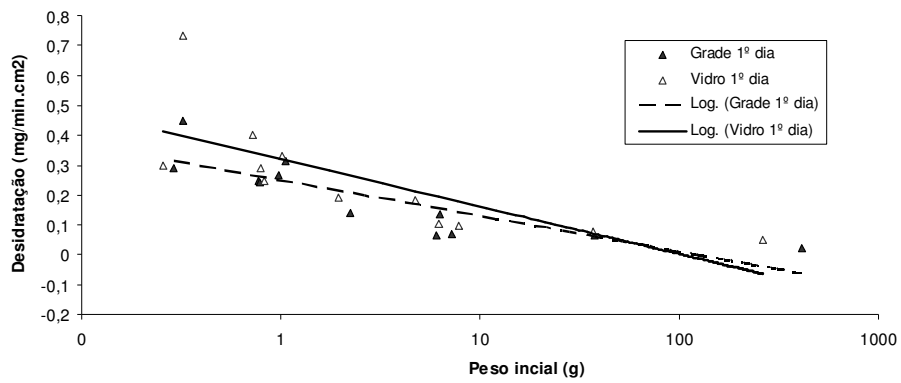


Figura 3d

Grade 2º dia X Vidro 2º dia

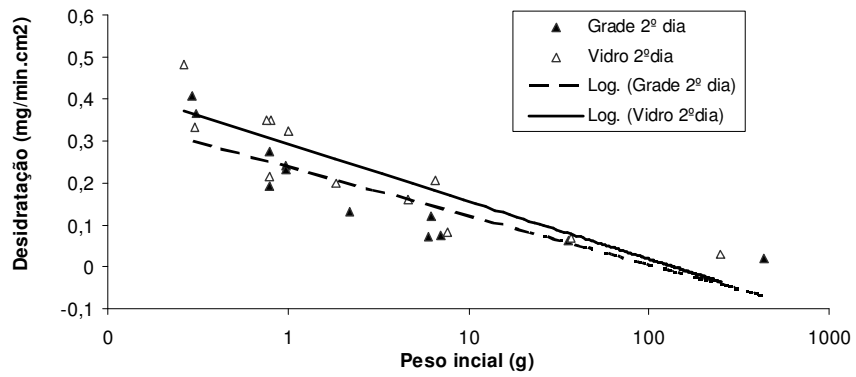


Figura 3e

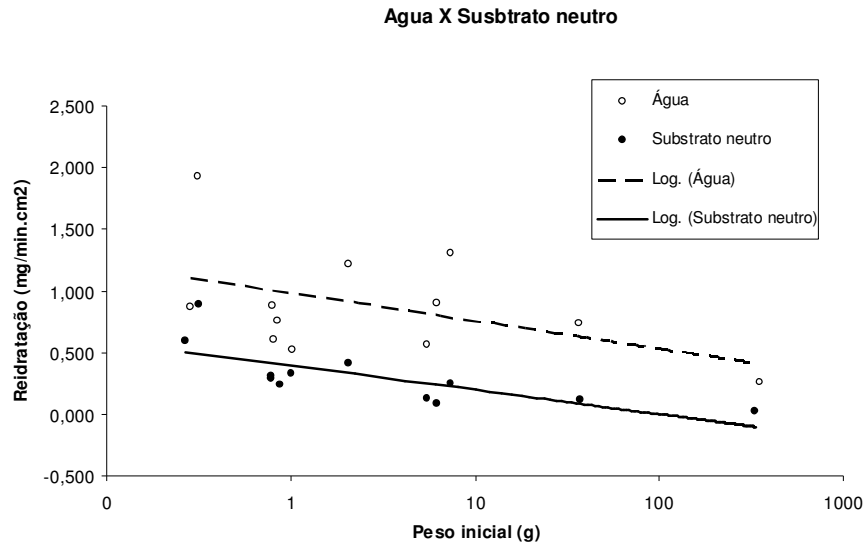


Figura 4a

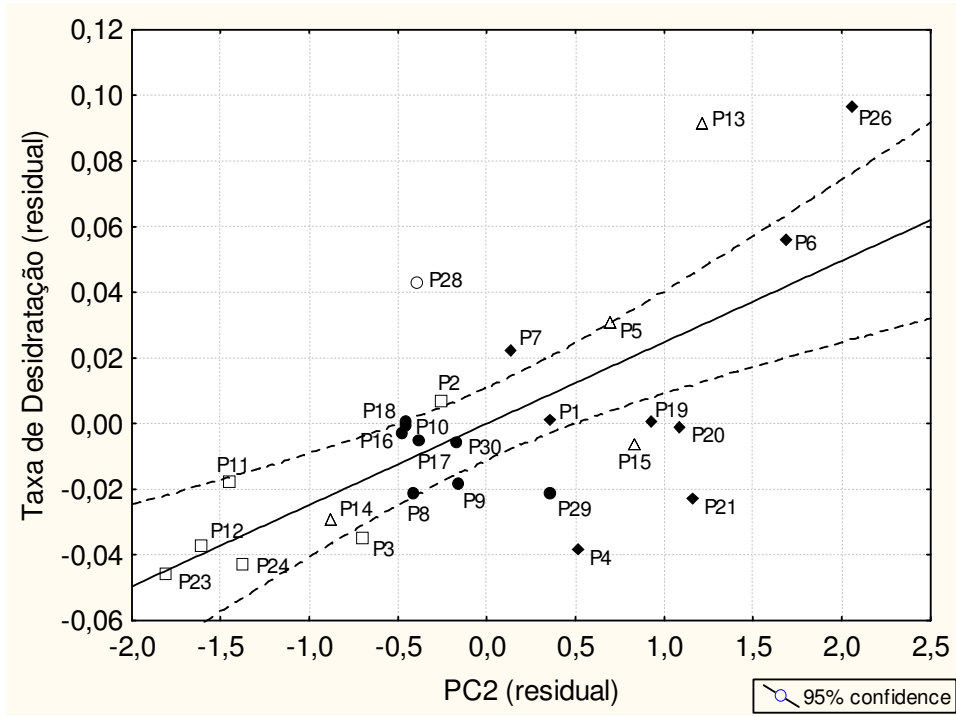


Figura 4b

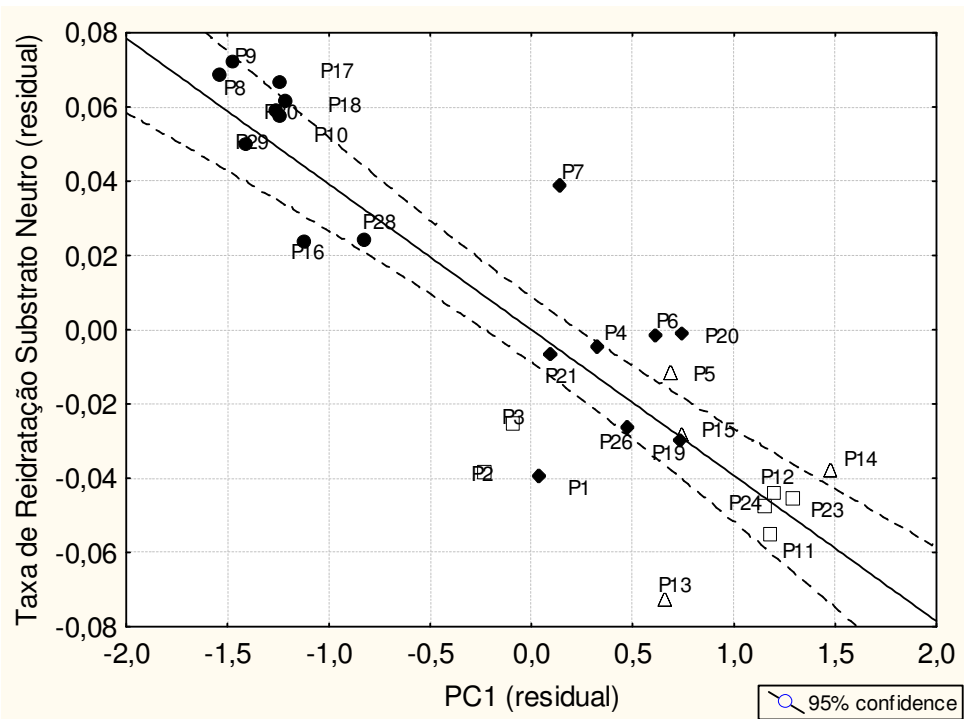
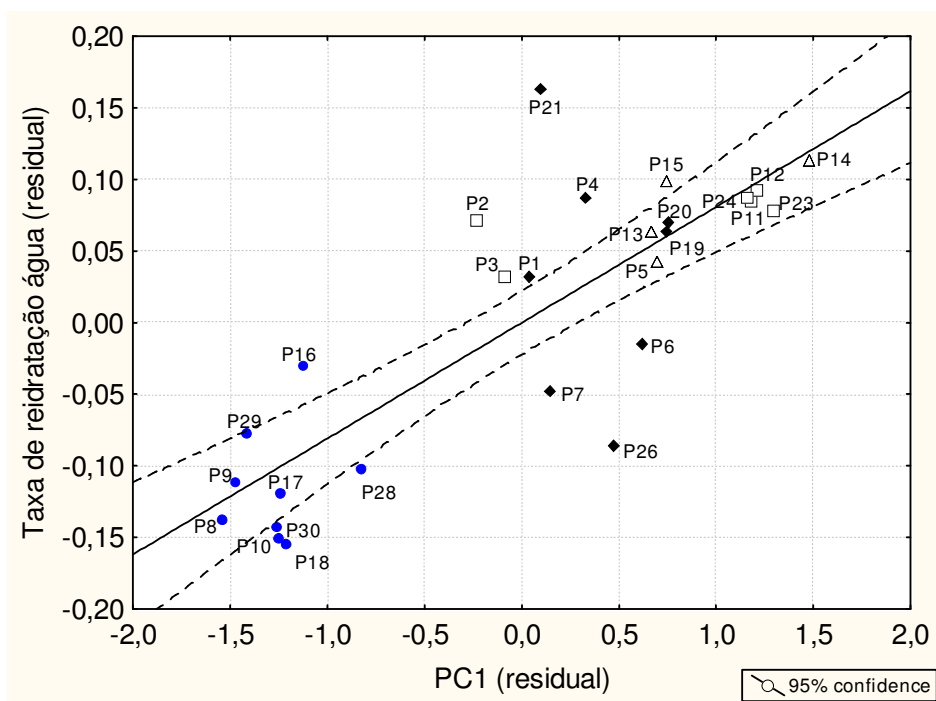


Figura 4c



MANUSCRIPT SUBMISSION

Authors are encouraged to submit manuscripts online via the *Physiological and Biochemical Zoology* Editorial Manager system at <http://pbz.edmgr.com>. Detailed instructions are available below. If you do not have access to the Internet, please send one hard copy of your manuscript and a CD-R containing all relevant electronic files to the editorial office. It is no longer necessary to submit a hard copy in addition to an electronic submission.

Statement of Policy

Physiological and Biochemical Zoology publishes original papers not submitted elsewhere about animal physiology and biochemistry at all levels of organization, from the molecular to the organismic, focusing on adaptations to the environment. The journal's specific emphasis is on studies that investigate the ecological and/or evolutionary aspects of physiological and biochemical mechanisms. Subdisciplines of interest include nutrition and digestion, salt and water balance, epithelial and membrane transport, gas exchange and transport, acid-base balance, temperature adaptation, metabolic energetics and regulation, structure and function of macromolecules, chemical coordination and signal transduction, nitrogen metabolism and excretion, locomotion and muscle function, biomechanics, circulation, and sensory physiology and neural coordination. Multispecies comparative studies should give due consideration to phylogeny when conducting statistical analyses and drawing evolutionary interpretations.

Manuscripts should be submitted online at <http://pbz.edmgr.com>. Uploaded files should be in Microsoft Word or WordPerfect format. Figures and tables should be uploaded as separate items. **Do not** submit Adobe Acrobat (PDF) files. Editorial Manager will convert all uploaded files to PDF for review.

If you do not have access to the Internet, mail one hard copy and an electronic copy (including tables and figures) on a CD-R, along with a cover letter listing up to three recommended reviewers with whom you have no conflict of interest, and a brief explanation of why the paper cannot be submitted online to:

James W. Hicks, Editor in Chief

Physiological and Biochemical Zoology

Department of Ecology and Evolutionary Biology

321 Steinhaus Hall,

University of California, Irvine

Irvine, CA 92697-2525 USA

Inquiries may be made by e-mail (pbz@uci.edu), telephone (949-824-9626), or fax (949-824-9628).

If the current institution for any author is not the institution with which the author was affiliated at the time the investigation was performed, or if significant portions of the investigation overlapped periods of affiliation with more than one institution, please make a note of this during the submission process, or in the cover letter if the manuscript cannot be uploaded.

Formatting Electronic Files

Please adhere to the requirements below when submitting a new or revised manuscript via Editorial Manager. The system relies on automated processing to create a PDF file from your submission. If you do not follow these instructions, your submission cannot be processed and will not be received by the journal office.

Acceptable Formats

- Microsoft Word (.doc)(any recent version)
- WordPerfect (.wpd)

File Contents

Word documents should be submitted as a single file. Authors should submit figures as separate files, in TIFF (.tif) or EPS (.eps) (not GIF [.gif] or JPEG [.jpg]) format.

Please note that authors of accepted manuscripts may be required to submit high-resolution hard copies of all figures during production, as not all digital art files are usable.

In addition to the main manuscript file, submit your cover letter, if any, *as a separate file* in the same format as your main file. If you have used any revision or editorial tracking tools in your word-processing program, be sure the final version of your manuscript does not contain tracked changes.

Revised and Final Versions of Manuscripts

If you are submitting a *revised* manuscript, include your responses to the reviewers as part of the cover letter file. When submitting a revised manuscript with figures, include all figures, even if they have not changed since the previous version. The *final* version of your manuscript must be submitted in Microsoft Word (.doc); a PDF is not adequate. For all versions of manuscripts, observe the same formatting instructions outlined above.

General Specifications

What to Submit

Uploaded files should be in Microsoft Word or WordPerfect, with all figures and tables, including photographs, submitted as separate items.

Pages should be numbered. Page breaks should be inserted instead of hard returns, and tabs should be used instead of multiple spaces for indentations or to align information in a table.

Title Page

The title page should include the following information: title, a running page head of a maximum of 60 characters including spaces, and accurate contact information for the corresponding author and coauthors.

Acknowledgments of financial support should be made under Acknowledgments, not on the title page.

Abstract

The abstract should summarize the findings concretely; sentences indicating that a particular subject is discussed should be omitted. The abstract should not contain abbreviations that will be recognized only by an expert on the subject, and it should not contain citations of the literature. In general, the abstract should be approximately 200 words.

Main Body of the Text

The main body of the text should be divided into sections headed Introduction, Material and Methods, Results, and Discussion, followed by Acknowledgments, Literature Cited, Tables, and Figure Legends. These headings should be set with no indentation from the left margin. Primary subheadings should be underlined and also set with no indentation from the left margin. Secondary subheadings should be underlined and followed by a period, with no indentation from the left margin.

If the manuscript reports on work conducted on vertebrate animals, the appropriate institutional approval number should be listed in the Material and Methods section of the text.

Footnotes should be incorporated into the text.

Spelling must follow American convention. Punctuation should follow that recommended in *The Chicago Manual of Style (15th edition)*

Literature Cited

Literature should be cited in the main body of the text by author name(s) and four-digit year of publication, with no comma separating the two. Multiple citations within parentheses should be made in chronological, not alphabetical, order and separated by a semicolon. If two publications by the same author(s) appeared in the same year, the first should be designated by a lowercase "a," the second by "b," and so on, following the date. Papers by one or two authors should be cited in the text by one or two surnames; papers by three or more authors should be cited by the first author's surname followed

by "et al.," for example, "Smith and Jones (1994a)," but "Johnson et al. (1995)" for three or more authors.

Bibliographic information should be given under Literature Cited, beginning on a new page and immediately following Acknowledgments. The listings should be arranged in alphabetical order. Publications by a single author should precede those by the same author with coauthors. Each reference should begin with the first author, name inverted, with no comma separating last name and initials, followed by the other authors with names not inverted. After the first line of each reference, succeeding lines should be indented. Manuscripts that have not been accepted for publication must not be cited in the reference list, although the information can be mentioned in the text as unpublished observations or personal communications.

Journal article

Journal titles should be abbreviated according to *BIOSIS Serial Sources* and not italicized. Italics should be used for scientific names. Give the full page range of each article.

Bradley T.J. 1984. Mitochondrial placement and function in insect ion-transporting cells. *Am Zool* 24:157–167.

Ruben J.A. and A.F. Bennett. 1987. The evolution of bone. *Evolution* 41:1187–1197.

Owerkowicz T., C.G. Farmer, J.W. Hicks, and E.L. Brainerd. 1999. Contribution of gular pumping to lung ventilation in monitor lizards. *Science* 284:1661–1663.

Smith A.B. 1995*a*. The rise in blood glucose during hibernation of the golden headed plover *Dickus birdus*. *J Avian Metab* 20:19–21.

———. 1995*b*. The fall in blood glucose during hibernation of the golden headed plover *Dickus birdus*. *J Avian Metab* 20:22–23.

Book

Holyoak D.T. 2001. *Nightjars and Their Allies*. Oxford University Press, New York.

Chapter in an edited book

Peck L.S. and L.Z. Conway. 2000. The myth of metabolic cold adaptation: oxygen consumption in stenothermal Antarctic bivalves. Pp. 441–450 in E. Harper, J.D. Taylor, and J.A. Crame, eds. *Evolutional Biology of the Bivalve*. Geological Society of London, London.

Translated book

Ecker J. 1889. *The Anatomy of the Frog*. Translated by J. Haslem. Clarendon, Oxford.

Book with group as author

American Ornithologists' Union. 1998. *Checklist of North American Birds*. 7th ed. Allen Press, Lawrence, KS.

Tables

Tables should be double spaced on separate sheets following the Literature Cited section. They should be numbered in order of presentation in the text. The title should be placed at the top. Explanatory information and experimental conditions should be given as a note at the bottom. In the text, tables should be cited as Table 1, Table 2, and so on. Tables should be created with the word-processing table-editing feature. Authors are requested to design tabular material, if possible, so that the length exceeds the width, like a column on the printed page. For further information about the preparation of tables, see the [Guidelines for Tables](#).

Figures

Suggestions for preparing figures can be found in *Scientific Style and Format: The CSE Manual for Authors, Editors and Publishers*, 7th edition (Council of Science Editors), and *The Chicago Manual of Style*, 15th edition (The University of Chicago Press).

Figures should be numbered in order of presentation in the text. They should be cited in the text as Figure 1, Figure 2, and so on. The font of lettering used for figures should be simple and consistent throughout. Figure legends should be placed on a separate page after tables. A legend should begin with a title, which is followed by explanatory material and experimental conditions written in complete sentences. All pertinent

conditions, such as temperature, salinity, pH and buffer composition, and so on, should be given, even if redundant.

Color figures may be submitted for review, but they will appear in black and white in print. You may request that the figure be provided in color as an online enhancement to the electronically published paper. Figures may be published in color if deemed necessary by the Editor in Chief, subject to a printing cost to be met by the authors of the accepted paper.

For further information about the preparation of figures, see the [Guidelines for Artwork](#).

Symbols, Units, and Nomenclature

SI units and the notation scheme recommended by the International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC) must be used. Except for thermodynamics, the Celsius temperature scale is preferred.

Biochemical nomenclature should follow that proposed by the joint IUPAC-IUB (International Union of Biochemistry) Commission on Biochemical Nomenclature. Where appropriate, physiological nomenclature and notation should follow that recommended by various subcommittees on nomenclature of the IUPS (International Union of Physiological Sciences) and published in the *Journal of Applied Physiology*.

The most recent taxonomic nomenclature must be used. At the first mention in the text (not the title), the species authority should be given. Although further classification need not be given, either in the title or the text, it is advisable to convey this information by either formal or informal name if the group will not be immediately recognized by most physiological zoologists.

Ad hoc abbreviations in the text are not acceptable.

For further information about symbols, foreign language characters, and other non-ASCII characters, see the [Guidelines for Mathematical and Other Non-ASCII Symbols](#).

Page Charges

No page charges are assessed for research papers, invited perspectives, or technical comments.

Preparing Accepted Manuscripts for Publication

Before an accepted manuscript is forwarded to production, the following items must be provided by the corresponding author to the editorial office of *PBZ* at the University of California, Irvine: a signed publication agreement and suitable final figures, if the figures submitted with the final manuscript were not of suitable quality for publication.

Signed Publication Agreement

The publication agreement will be sent to you by the editorial offices of *PBZ* at the University of California, Irvine. This agreement should be signed by each author and returned to the editorial offices via e-mail (pbz@uci.edu), fax (949-824-9628), or courier service.

Final Electronic Copy of the Accepted Manuscript and Tables

Submit the electronic copy via Editorial Manager in Microsoft Word (RTF or PDF files are not acceptable). This document should include tables and figure legends, but not the figures themselves.

Submit *only* the final version of the article.

Do not submit files that contain links to other files or that subscribe to other documents. Do not include anything in the file that was not created with the word processor; for example, do not embed tables from a spreadsheet or database program into a document (unless the word processor first converts them to its native format). Exception: for embedding equations in a word-processing file, see the [Guidelines for Mathematical and Other Non-ASCII Symbols](#).

Follow these formatting guidelines: Use 12-point type in one of the standard fonts: Times, Helvetica, Arial, or Courier.

- Use double spacing.
- Use underlining *or* italic, not both. Avoid boldface. Use minimal formatting on section headings. (Underlining, italic, or boldface may, of course, be used in instances where the formatting conveys a particular meaning, for example, to distinguish mathematical variables.)
- If you use automatic footnotes and your word processor allows you to choose between footnotes and endnotes, always choose footnotes.
- If you use any revision or editorial tracking feature (such as Microsoft Word's Revisions or Track Changes commands), be sure that the document you submit has been finalized—that is, that all changes have been accepted or rejected and the file contains only one version of the document.
- Use the word processor's built-in superscript and subscript attributes rather than special commands to change the font size or position. Exception: when inserting footnotes, allow the word processor to format footnote references however it will.
- Use hard returns (pressing the Return or Enter key) only to end a heading or paragraph and begin a new one. Do not use hard returns to end a line early to make the right margin appear to be indented.
- Use tabs only to indent the beginning of a new paragraph. Do not insert tabs after the beginning of a paragraph to create a hanging indent (e.g., for references). Instead, change the left and first indent settings appropriately.
- Do not change fonts when italic or boldface is needed. Apply an italic or bold style to the font, but do not change the font itself.
- Do not use any automatic line numbering or paragraph numbering features (for lists, etc.). Any numbers that should appear in your article must be typed in.
- Do not use Hidden Text or Comments features or nonprinting text of any kind.
- If your article contains mathematical formulae, special math characters, foreign letters, or other non-ASCII characters, see the [Guidelines for Mathematical and Other Non-ASCII Symbols](#).

Final Electronic Copy of the Figures

Quality and Content

Generally, the quality of the artwork in print will depend on the quality of the artwork provided by the author of an accepted manuscript. Follow these guidelines for artwork:

- *Line art* should be provided as bitmapped TIFF files saved at a resolution of 800–1200 dpi (pixels per inch).
- *Black and white photographs, micrographs, and so on* should be provided as grayscale TIFF files saved at a resolution of approximately 300 dpi.
- *Color art* should be provided as EPS files, CMYK, at a resolution of 150–300 dpi. (If this format is not available, provide color art as Photoshop files.)
- The following formats are *not* acceptable for figures: Word or PowerPoint, JPEG, or GIF.
- Keep in mind that figures will be reduced by about one-half, to a single column width.
- Graphics downloaded from Web pages are not acceptable for print reproduction. These graphics are low-resolution images (usually 72 dpi) that are suitable for screen display but far below acceptable standards for print reproduction. The only exception to this rule is a screen capture of a Web page that is being discussed or reviewed.
- Figures themselves should not contain a title or text that is duplicated in the figure legend.
- Please use the same font type for all figures in your article; use standard fonts such as Times, Courier, Arial, Helvetica, or Symbol. Sans serif fonts such as Arial and Helvetica are ideal and should be used whenever possible.
- Do not use lines that are thinner than 2 points, and do not use the "hairline" width option.
- Light or electron micrographs should include a scale bar.
- For further information about the preparation of figures, see the [Guidelines for Artwork](#).

Copyright

If the artwork you are submitting has been published elsewhere (including posting on the Internet) or is otherwise copyrighted, we must have a letter of permission from the artwork is not your own,

Online Submission Instructions

Please have the following items readily available before beginning the online submission process:

- Manuscript in an acceptable format as described above
- Cover letter as a separate file (optional)
- Information from title page: title, running head, list of authors and affiliations, contact information for the corresponding author
- Abstract of the manuscript (to be copied and pasted into a field in Editorial Manager)
- Names and contact information for up to three suggested referees for the manuscript

Submit your manuscript to the *Physiological and Biochemical Zoology* Editorial Manager system at <http://pbz.edmgr.com>.

ANEXO

Anexo 1: Fotos da Praia do Forte (a) e Reserva de Sapiranga (b)



a



b

Anexo 2: Sistema de desidratação



Anexo 3: Tabela de abundância de Bastazini *et al.* (2007)

	<i>D. branneri</i>	<i>D. decipiens</i>	<i>D. minutus</i>	<i>E. ramagii</i>	<i>L. ocellatus</i>	<i>P. melanomystax</i>	<i>S. auratus</i>	<i>R. jimi</i>	<i>S. eurydice</i>	<i>S. similis</i>	<i>L. natalensis</i>
P1	0	0	1	31	0	0	0	0	0	0	3
P2	0	0	0	13	0	0	0	0	1	0	2
P3	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
P4	0	0	0	36	0	0	0	0	0	0	0
P5	1	5	0	43	2	0	1	0	5	0	10
P6	0	0	0	2	1	0	3	0	0	0	0
P7	0	1	0	1	0	1	2	0	0	0	2
P8	0	0	0	0	0	8	0	0	0	0	0
P9	0	0	0	0	0	5	1	0	0	0	0
P10	0	0	0	0	0	9	0	0	0	0	0
P11	0	0	0	34	0	0	0	0	0	0	0
P12	0	0	0	25	0	0	0	0	0	0	0
P13	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	1
P14	0	0	0	9	0	0	0	0	0	0	0
P15	0	0	0	23	1	0	0	0	0	0	0
P16	0	0	0	3	0	3	2	0	0	0	0
P17	0	0	0	0	0	8	2	0	0	0	0
P18	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0
P19	0	0	0	13	0	0	0	1	0	0	1
P20	0	0	0	4	0	0	1	0	0	0	0
P21	0	0	0	10	0	0	0	0	0	1	0
P23	0	0	0	6	0	0	0	0	0	0	0
P24	0	0	0	14	0	0	0	0	0	0	0
P26	0	0	0	0	0	0	3	1	0	0	1
P28	0	0	0	0	1	10	8	0	0	0	0
P29	0	0	0	5	0	16	0	0	0	0	0
P30	0	0	0	0	0	9	0	0	0	0	0

Anexo 4: Esquema para o cálculo da variável fisiológica por parcela.



