



ESTUDO DO BALANÇO HÍDRICO EM UMA COMUNIDADE DE ANUROS DO LITORAL NORTE DA BAHIA, BRASIL

Lucianne Dabés

Vanessa M.G. Bonfim; Marcelo F. Napoli; Wilfried Klein

Instituto de Biologia, Universidade Federal da Bahia, Rua Barão de Jeremoabo 147, Campus Universitário de Ondina, 40170 - 970 Salvador, Bahia, Brasil e - mail:ludabes@hotmail.com

INTRODUÇÃO

Tradicionalmente, considera-se que nos "anfíbios típicos" 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; Shoemaker *et al.*, 1992; 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).

Anuros neotropicais de ambientes hidricamente estressantes parecem possuir adaptações para reduzirem 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.

OBJETIVOS

Este estudo tem por objetivo 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.

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 dependente de fatores ambientais que influenciam diretamente ou indiretamente a umidade no meio (% do estrato vegetal coberto por folhas de 6 - 10m, % de serapilheira, % de bromélias sob insolação direta, número de bromélias terrestres e umidade do solo).

No presente estudo foram coletados na mesma área, no período de Outubro de 2007 à Setembro de 2008, anuros visivelmente saudáveis (sob licença do IBAMA-Instituto brasileiro do meio ambiente - número 2239548), 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 contendo dez garrafas plásticas de 500 ml com uma entrada e uma saída de ar em cada extremidade. No interior de cinco

garrafas foi fixada uma placa de vidro. 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.

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, sendo em seguida depositado nas garrafas plásticas. Os animais desidratados nas grades foram pesados com as mesmas, objetivando reduzir o estresse durante a manipulação. Utilizando bomba de ar 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 previamente medido com um medidor de fluxo. A cada 1h, os animais foram retirados das garrafas e pesados. 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: Para determinada a taxa de reidratação dos animais a partir da água (TRH20) e do substrato neutro (TRSub), ao sair do sistema de medição da TEA, metade dos animais, foi depositada sobre placa de Petri contendo água destilada e 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. 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 seguindo o método de Camacho (2006).

Tratamento dos dados

Desidratação e Reidratação: Para o cálculo da TRH20 e TRSub, os valores da massa corpórea inicial (TRI) e final (TRF) foram padronizados pelo tempo e pela área superficial: $TRH20$ ou $TRSub = (TRF - TRI)/\text{min.cm}^2$. Para o cálculo da TEA foram usadas medidas de massa corpórea inicial (TEA - MI) e final (TEA - MF) em microgramas, padronizada pelo tempo e pela área superficial: $TEA = (TEA - MI - TEA - MF)/\text{min.cm}^2$. Obtendo dez valores de desidratação, sendo cinco valores de espécimes desidratados na grade e cinco no vidro.

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, dados de distribuição espacial de Bastazini *et al.*, (2007) e comparados aos dados fisiológicos obtidos neste trabalho, utilizando o Método de Escalonamento Multidimensional Não - Métrico (NMDS) (McCune & Grace 2002) e usando como medida a distância de Sorensen. Foi aplicado o teste de Monte Carlo (50 aleatorizações) para avaliar a força do padrão da matriz de abundâncias padronizadas. A porcentagem de explicação das medidas de distância na matriz original pelas distâncias no eixo de ordenação foi avaliada pela estatística de correlação de Mantel (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 e os eixos de ordenação representantes de cada variável fisiológica foi utilizada a análise de regressão múltipla (Sokal e Rohlf 1981). O valor crítico de significância ($P > 0,05$) foi corrigido pelo método de Bonferroni para as análises de regressão múltipla e parcial desenvolvidas com o mesmo conjunto de dados. Desta forma, as variáveis fisiológicas-desidratação, reidratação a partir da água e reidratação a partir de substrato neutro - representando as variáveis dependentes da análise e as variáveis ambientais representando as variáveis independentes da análise.

Foi feita a Análise de Componentes Principais (PCA) a fim de se reduzir as variáveis ambientais originais 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 VARI-MAX.

RESULTADOS

Das 30 espécies de anuros encontradas por Bastazini *et al.*, (2007), 11 foram coletadas 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.

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 Mantel = 0,84, P = 0,001). 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.

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 taxa de desidratação mostrou uma associação incluindo os componentes "altura média de bromélias", "diâmetro médio de bromélias" e "largura máxima de corpos d'água" e "profundidade de corpos d'água". 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. O próximo grupo de parcelas nesse gradiente são aquelas da zona de praia. Essas parcelas são dominadas pelas espécies *P. melanomystax* e *S. auratus*. Também revelou uma forte associação entre a taxa de reidratação (substrato neutro e água, respectivamente). Animais encontrados em parcelas localizadas em ambientes mais úmidos também mostram taxas de desidratação mais elevadas. Essa análise demonstra que em ambientes mais secos ocorrem espécies com taxa de desidratação menor, permitindo a sobrevivência dessas espécies nesse ambiente.

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 *et al.*, 2004). Espécies do gênero *Phyllodytes* são estritamente bromelígenas e desenvolverem 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). 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). *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. Porém, características morfológicas específicas como o achatamento dorso - ventral e uma grande

superfície lateral de sacos linfáticos podem permitir sua sobrevivência nas bromélias - tanque.

CONCLUSÃO

Nosso estudo mostra que existem variáveis fisiológicas relacionados ao balanço hídrico de anuros que explicam a distribuição das espécies em uma comunidade do Litoral Norte da Bahia. *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.

Agradecimentos

Lucianne Dabés agradece à Fundação de Ampara à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB) pela bolsa de mestrado, sendo este estudo resultado de sua dissertação de mestrado.

REFERÊNCIAS

- 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.
- 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.
- 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.
- Caramaschii 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.
- Duellman W., L. Trueb. 1986. *Biology of Amphibians*. New York: McGraw - Hill.
- 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.

- McCune B., e J. B. Grace. 2002. Analysis of ecological communities. Gleneden Beach, Oregon, U.S.A.
- Peixoto, O. L. 1995. Associação de anuros a bromeliáceas na Mata Atlântica. Revista da Universidade Rural - Série Ciências da vida, 17(2):75 - 83.
- 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.
- 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.