

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

ESCUELA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

**Comparación de la tasa de pérdida de agua por evaporación y de la
resistencia cutánea de dos especies de anuros ecuatorianos: *Epipedobates
boulengeri* (Dendrobatidae) y *Dendropsophus minutus* (Hylidae)**

**Disertación previa a la obtención del título de Licenciada en Ciencias
Biológicas**

ANDREA DEL CISNE MORALES SALAZAR

Quito, 2019

Certifico que la disertación de Licenciatura en Ciencias Biológicas de la Srta. Andrea del Cisne Morales Salazar ha sido concluida de conformidad con las normas establecidas; por lo tanto, puede ser presentada para la calificación correspondiente.

Dr. Andrés Merino-Viteri
Director de la Disertación
Quito, 18 de febrero del 2019

A la perseverancia.

AGRADECIMIENTOS

A Andrés Merino por toda su paciencia y su guía sin las cuales la realización de este proyecto no habría sido posible, además por todo su apoyo y comprensión no solo profesional, sino también personal que me ayudaron muchísimo a lo largo de la carrera. A todo el equipo que conforman la Iniciativa de Conservación “Balsa de los Sapos” por proporcionarme no solo el financiamiento sino también las instalaciones y la guía necesaria que me permitieron la realización de esta investigación. A mis lectoras Miryan Rivera y Christiana Katti por sus consejos, correcciones y guía para la presentación del trabajo final.

A mi nanita querida por todo su apoyo, sus consejos, su cariño, por ser como una segunda madre conmigo y por estar para mí siempre que lo necesité. A mi abuelita adorada por ser un ejemplo de lucha y perseverancia y por demostrarme lo que es la verdadera fortaleza y sobre todo por contagiarme cada día sus ganas de vivir y seguir luchando.

A mi mami por permitirme ser verdaderamente libre, por todo su apoyo, por siempre creer en mí, por ayudarme a cumplir cada uno de mis sueños y siempre ser una fuente de inspiración y confianza absoluta para mí, simplemente por ser la mejor madre que la vida me pudo dar.

A mi papito lindo por ser la persona más noble y amorosa que conocí, por todo su esfuerzo, por enseñarme la importancia de nunca rendirse y que siempre habrá días mejores, siempre serás la luz que ilumine mi camino.

Finalmente, a mis amigos, por cada una de las aventuras que vivimos en estos años, por todas las risas, los llantos, las peleas. Por ser mis cómplices y confidentes en casi todas mis historias, por permitirme ver la vida de mil y un maneras y disfrutar cada una de las cosas con las que nos sorprende. Y sobre todo porque me demostraron que sin importar lo complicadas que sean las cosas pasar tiempo con ustedes siempre será una de las mejores curas para el alma.

LISTA DE ABREVIATURAS

EWL_{SA}:	Pérdida de agua por evaporación área específica (evaporation water lost by specific area)
EWL_{WCP}:	Pérdida de agua por evaporación en postura de conservación de agua (evaporation water lost in water conservation posture)
R_C:	Resistencia cutánea
R_F:	Resistencia de la capa frontera
SVL:	Longitud rostro-cloacal (snout vent length)
W_h:	Ancho de la cabeza (width head)
W_a:	Ancho del abdomen (width abdomen)
H_a:	Profundidad del abdomen (high abdomen)

LISTA DE CONTENIDO

1. RESUMEN.....	1
2. ABSTRACT	2
3. INTRODUCCIÓN	3
4. OBJETIVOS.....	10
4.1 OBJETIVO GENERAL.....	10
4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	10
5. MATERIALES Y MÉTODOS	11
5.1 COLECTA DE INDIVIDUOS	11
5.2 MANTENIMIENTO EN LABORATORIO	11
5.3 MEDICIÓN DE PÉRDIDA DE AGUA	11
5.4 EXPERIMENTOS DE DESECACIÓN	12
5.5 MODELOS DE AGAR	13
5.6 TASAS DE PÉRDIDA DE AGUA POR EVAPOTRANSPIRACIÓN CUTÁNEA	14
5.7 RESISTENCIA CUTÁNEA.....	16
5.8 ANÁLISIS ESTADÍSTICOS	17
6. RESULTADOS.....	18
6.1 COMPARACIÓN DE LAS MEDIDAS ENTRE ESPECIES CON SUS MODELOS DE AGAR.....	18
6.2 TASAS DE PÉRDIDA DE AGUA	19
6.3 RESISTENCIAS CUTÁNEAS	21
7. DISCUSIÓN.....	22
7.1 TASAS DE PÉRDIDA DE AGUA	22
7.2 RESISTENCIAS CUTÁNEAS	27

8. CONCLUSIONES	31
9. RECOMENDACIONES	33
10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	34
11. FIGURAS	40
12. TABLAS.....	43
13. ANEXOS.....	50

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Sistema de desecación empleado para los experimentos.	40
Figura 2. Fluctuación de la humedad en los experimentos..	41
Figura 3. Elaboración de moldes y modelos de agar.....	42
Figura 4. Postura de conservación de agua.....	42

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Medidas corporales de las ranas de <i>Dendropsophus minutus</i> , <i>Epipedobates boulengeri</i> y sus modelos de agar.....	43
Tabla 2. Prueba de Levene para las medidas y las tasas de pérdida de agua de las ranas de <i>Dendropsophus minutus</i> y <i>Epipedobates boulengeri</i> comparadas con sus modelos de agar.	43
Tabla 3. Prueba de Shaphiro-Wilk para las medidas y las tasas de pérdida de agua tanto de las ranas de <i>Dendropsophus minutus</i> y <i>Epipedobates boulengeri</i> , como de sus modelos de agar.	44
Tabla 4. Prueba U de Mann-Whitney para las medidas de las ranas de <i>Dendropsophus minutus</i> , <i>Epipedobates boulengeri</i> y de sus modelos de agar.....	44
Tabla 5. Prueba de Wilcoxon para las tasas de pérdida de agua, resistencia cutánea y de la capa frontera de los individuos de <i>Dendropsophus minutus</i> , <i>Epipedobates boulengeri</i> y de sus respectivos modelos de agar.....	47
Tabla 6. Tasas de pérdida de agua y resistencias para los individuos de <i>Dendropsophus minutus</i> y sus modelos de agar.....	48
Tabla 7. Tasas de pérdida de agua y resistencias para los individuos de <i>Epipedobates boulengeri</i> y sus modelos de agar.....	49

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1. Prueba U de Mann-Whitney para la longitud rostro-cloacal de <i>Dendropsophus minutus</i> .	50
Anexo 2. Prueba U de Mann-Whitney para el ancho de la cabeza de <i>Dendropsophus minutus</i> .	50
Anexo 3. Prueba U de Mann-Whitney para el ancho del abdomen de <i>Dendropsophus minutus</i> .	51
Anexo 4. Prueba U de Mann-Whitney para la profundidad del abdomen de <i>Dendropsophus minutus</i> .	51
Anexo 5. Prueba U de Mann-Whitney para la longitud rostro-cloacal de <i>Epipedobates boulengeri</i> .	52
Anexo 6. Prueba U de Mann-Whitney para el ancho de la cabeza de <i>Epipedobates boulengeri</i> .	52
Anexo 7. Prueba U de Mann-Whitney para el ancho del abdomen de <i>Epipedobates boulengeri</i> .	53
Anexo 8. Prueba U de Mann-Whitney para la profundidad del abdomen de <i>Epipedobates boulengeri</i> .	53
Anexo 9. Prueba de Levene para la longitud rostro-cloacal de <i>Dendropsophus minutus</i> .	54
Anexo 10. Prueba de Levene para el ancho de la cabeza de <i>Dendropsophus minutus</i> .	54
Anexo 11. Prueba de Levene para el ancho del abdomen de <i>Dendropsophus minutus</i> .	55
Anexo 12. Prueba de Levene para la profundidad del abdomen de <i>Dendropsophus minutus</i> .	55
5	
Anexo 13. Prueba de Levene para la longitud rostro-cloacal de <i>Epipedobates boulengeri</i> .	566
Anexo 14. Prueba de Levene para el ancho de la cabeza de <i>Epipedobates boulengeri</i> .	566
Anexo 15. Prueba de Levene para el ancho del abdomen de <i>Epipedobates boulengeri</i> .	577
Anexo 16. Prueba de Levene para la profundidad del abdomen de <i>Epipedobates boulengeri</i> .	577
Anexo 17. Prueba de Shapiro-Wilk para la longitud rostro-cloacal de todos los individuos.	588
Anexo 18. Prueba de Shapiro-Wilk para el ancho de la cabeza de todos los individuos.	588
Anexo 19. Prueba de Shapiro-Wilk para el ancho del abdomen de todos los individuos.	599

Anexo 20. Prueba de Shapiro-Wilk para la profundidad del abdomen de todos los individuos.....	59
Anexo 21. Prueba U de Mann-Whitney para la longitud rostro-cloacal de <i>Dendropsophus minutus</i> comparados con <i>Epipedobates boulengeri</i>	600
Anexo 22. Prueba U de Mann-Whitney para el ancho de la cabeza de <i>Dendropsophus minutus</i> comparados con <i>Epipedobates boulengeri</i>	60
Anexo 23. Prueba U de Mann-Whitney para el ancho del abdomen de <i>Dendropsophus minutus</i> comparados con <i>Epipedobates boulengeri</i>	611
Anexo 24. Prueba U de Mann-Whitney para la profundidad del abdomen de <i>Dendropsophus minutus</i> comparados con <i>Epipedobates boulengeri</i>	611
Anexo 25. Prueba de Wilcoxon para las tasas de pérdida de agua bruta de <i>Dendropsophus minutus</i> comparadas con <i>Epipedobates boulengeri</i>	622
Anexo 26. Prueba de Wilcoxon para las tasas de pérdida de agua ajustada de <i>Dendropsophus minutus</i> comparadas con <i>Epipedobates boulengeri</i>	622
Anexo 27. Prueba de Wilcoxon para las tasas de pérdida de agua en postura de conservación de agua de <i>Dendropsophus minutus</i> comparadas con <i>Epipedobates boulengeri</i>	633
Anexo 28. Prueba de Wilcoxon para las tasas de pérdida de agua ajustadas de <i>Dendropsophus minutus</i> comparada con las tasas de pérdida de agua en postura de conservación de agua de sus modelos de agar	633
Anexo 29. Prueba de Wilcoxon para las tasas de pérdida de agua ajustadas de <i>Epipedobates boulengeri</i> comparada con las tasas de pérdida de agua en postura de conservación de agua de sus modelos de agar.....	644
Anexo 30. Prueba de Levene para la tasa de pérdida de agua bruta de <i>Dendropsophus minutus</i>	64
Anexo 31. Prueba de Levene para la tasa de pérdida de agua ajustada de <i>Dendropsophus minutus</i>	65
Anexo 32. Prueba de Levene para la tasa de pérdida de agua en postura de conservación de agua de <i>Dendropsophus minutus</i>	655
Anexo 33. Prueba de Levene para la tasa de pérdida de agua bruta de <i>Epipedobates boulengeri</i>	66

Anexo 34. Prueba de Levene para la tasa de pérdida de agua ajustada de <i>Epipedobates boulengeri</i>	666
Anexo 35. Prueba de Levene para la tasa de pérdida de agua en postura de conservación de agua de <i>Epipedobates boulengeri</i>	677
Anexo 36. Prueba de Shapiro-Wilk para la tasa de pérdida de agua bruta de todos los individuos.	67
Anexo 37. Prueba de Shapiro-Wilk para la tasa de pérdida de agua ajustada de todos los individuos.	68
Anexo 38. Prueba de Shapiro-Wilk para la tasa de pérdida de agua en postura de conservación de agua de todos los individuos.....	68
Anexo 39. Prueba de Wilcoxon para las resistencias cutáneas de las dos especies de ranas sometidas a experimentación.....	69
Anexo 40. Prueba de Wilcoxon para las resistencias de la capa frontera de los modelos de agua de las dos especies sometidas a experimentación	69

1. RESUMEN

Las tasas de desecación tienen una estrecha relación con el hábitat ecológico de las diferentes especies de anfibios, puesto que varios estudios han demostrado que, por ejemplo, las especies arbóreas tienden a tener una resistencia mucho más alta a la desecación en comparación con especies acuáticas o terrestres. Este estudio se realiza con el objetivo de determinar si las especies sometidas a experimentación presentan algún tipo de mecanismo de resistencia a la desecación, para así tener una mejor comprensión de cómo podría afectarles el cambio climático.

Se comparó las tasas de pérdida de agua de dos especies de anfibios con hábitats distintas: *Dendropsophus minutus* perteneciente a la familia Hylidae que es una rana arbórea de hábito nocturno y *Epipedobates boulengeri* que es una especie de la familia Dendrobatidae caracterizada por ser una rana terrestre y diurna. Además, se compararon las tasas de pérdida de agua de las ranas vivas con modelos de agar realizados de igual tamaño, forma y color de sus respectivas especies. La tasa de pérdida de agua por evaporación calculada para *D. minutus* fue de $0,0787 \text{ g h}^{-1}$, mientras que la de *E. boulengeri* fue de $0,0773 \text{ g h}^{-1}$.

Se observó que *D. minutus* a pesar de ser más grande que *E. boulengeri* presentó una tasa de pérdida de agua que no mostraba diferencias significativas al comparar ambas especies, lo cual sugiere la existencia de algún mecanismo que le ayuda a evitar la pérdida de agua. Por observaciones durante el proceso de experimentación, se sugiere que *D. minutus* podría producir una sustancia cerosa con la que recubre su cuerpo. La resistencia cutánea que se obtuvo para *D. minutus* fue de $1,30 \text{ s cm}^{-1}$, mientras que para *E. boulengeri* fue de $-0,72 \text{ s cm}^{-1}$. Dichos valores se ajustan a la literatura revisada sobre las familias de ambas especies. Es importante conocer esta información ya que nos permite tener una mejor comprensión sobre la fisiología y comportamiento de estas especies y cómo podrían verse afectadas debido a factores ambientales como el cambio climático.

Palabras clave: Anfibios, arbórea, pérdida de agua, resistencia cutánea, sustancia cerosa.

2. ABSTRACT

The rates of desiccation have a close relationship with species habitat, and several studies have shown that arboreal species have a higher cutaneous resistance in comparison to aquatic or terrestrial species. This study's goal is to determine if the species in question present a particular mechanism of resistance to desiccation, so that we obtain a better understanding of how climate change can affect these animals.

In this study we compared the dehydration rates of two amphibians with different activity patterns: *Dendropsophus minutus* belongs to the Hylidae family, and is a nocturnal tree frog and *Epipedobates boulengeri* is part of the Dendrobatidae family and is a terrestrial and diurnal frog. In addition, the dehydration rates of live frogs were compared with agar models of the same size, shape and color as their respective species. The evaporation water loss rate calculated for *D. minutus* was 0,0787 g h⁻¹, while that of *E. boulengeri* was 0,0773 g h⁻¹.

The two species examined (*D. minutus* and *E. boulengeri*) although very different in size presented similar dehydration rates, thus suggesting the existence of mechanisms that help avoid water loss. Our results suggest that *D. minutus* may produce a waxy substance that covers its body. The skin resistance calculated for *D. minutus* was 1,30 s cm⁻¹, while for *E. boulengeri* was – 0,72 s cm⁻¹, values which are consistent with the literature concerning these families. This information provides us with a better understanding of the physiology and behavior of these species and this can help us understand how these species may be affected by changing environmental conditions such as global warming.

Keywords: Amphibians, arboreal, skin resistance, water loss, waxy substance.

3. INTRODUCCIÓN

Bellard y colaboradores (2012) sugiere que el cambio climático puede llegar a considerarse como la mayor amenaza mundial para todos los niveles de biodiversidad, ya que, debido a éste, es posible que las especies no puedan adaptarse a un nuevo conjunto de condiciones ambientales en una región determinada y que, por lo tanto, puedan quedar fuera de su nicho climático. También es probable que el calentamiento global tenga un gran impacto sobre los modelos macroambientales, ya que se sugiere que las distribuciones de muchas especies ectotérmicas podrían llegar a alterarse drásticamente (Thomas et al., 2004). Al hablar del cambio climático es importante considerar la disminución de la disponibilidad de agua y el aumento en la temperatura (D'Amen y Bombi, 2009). Los cambios globales de clima, especialmente los cambios de temperatura y precipitación, son responsables de alteraciones en los microclimas y en los patrones reproductivos de los anfibios (de Sá, 2005).

En las últimas cuatro décadas se ha visto una clara disminución de la biodiversidad de vertebrados (Butchart et al., 2010). Las extinciones están alterando procesos clave que son importantes para la productividad y la sostenibilidad de los ecosistemas de la Tierra; de hecho, niveles muy altos de extinción de especies a nivel global (41-60%) podrían llegar a tener efectos similares a las consecuencias producidas por la acidificación del suelo, altos niveles de CO₂ y la contaminación por nutrientes (Hooper, 2012). Los anfibios se enfrentan a una emergencia de extinción inminente (Wake y Vredenburg, 2008). Desde 1970, los científicos han observado disminuciones poblacionales en todo el mundo y se documentan grandes extinciones, en especial, en especies de montañas tropicales de América Central y del Sur (D'Amen y Bombi, 2009). De hecho, se cree que los anfibios pueden ser parte de un sexto evento de extinción (Wake y Vredenburg, 2008). En la actualidad de las 6260 especies de anfibios que han sido evaluadas por la UICN, alrededor de un tercio (2030 especies) se encuentran globalmente amenazadas o extintas (IUCN et al., 2018). Por otro lado, existen aproximadamente 1533 especies de las cuales no se tiene suficiente información y que probablemente también se encuentren en peligro de extinción (IUCN et al., 2018).

Existen varias causas para la disminución de los anfibios, entre ellas se puede mencionar la aparición de enfermedades, especies invasoras, contaminación, sobreexplotación, aumento de radiación ultravioleta y en especial el cambio climático y la alteración del hábitat (D'Amen y Bombi, 2009; Blaustein et al., 2010). Una de las potenciales causas de las disminuciones de las poblaciones de anfibios son las enfermedades emergentes como la quitridiomycosis (Woodhams et al., 2003). La temperatura juega un rol importante en estas infecciones, ya que se ha visto que puede influir en el sistema inmune de los anfibios, así como en la virulencia de los patógenos (Carey et al., 1999). Se ha visto que temperaturas bajas y fluctuantes pueden retardar el desarrollo de esta enfermedad, mientras que los periodos largos de altas temperaturas ayudan a eliminar el patógeno (Woodhams et al., 2003). De cierta manera esto podría explicar las declinaciones de anfibios que se han visto en zonas frías y en elevaciones altas (Woodhams et al., 2003).

A pesar de que la temperatura corporal de los ectotermos tiene una alta relación con la temperatura ambiental, la temperatura corporal real de muchas especies puede diferir de la temperatura externa debido a los diferentes comportamientos (fisiológicos, morfológicos o comportamentales) que adquieren las especies para tratar de termoregular y es por esto que ectotermos expuestos a condiciones macroambientales idénticas pueden llegar a presentar diferentes temperaturas corporales individuales (Kennedy, 1997).

Algunos de los mecanismos comportamentales que los anfibios han desarrollado para evitar la desecación son la adopción de un hábito nocturno, la excavación de madrigueras, la selección de hábitats húmedos con migración local a medida que la humedad va decreciendo y un tiempo limitado de exposición al sol. (Heatwole et al., 1969). También han desarrollado mecanismos fisiológicos como la secreción de lípidos y mucosa para impermeabilizar la piel (Pough, et al., 1983; Shoemaker et al., 1992). En el caso de que no se puedan evitar las condiciones secas estos animales han desarrollado respuestas que afectan directamente la pérdida de agua por evaporación (EWL por sus siglas en inglés), como son los cambios en sus niveles de actividad, por ejemplo: acortar su tiempo de exposición al sol (Heatwole et al., 1969), o la adopción de la postura de conservación de agua. En esta postura, la superficie ventral del animal está oculta y forma un sello con el sustrato, sus extremidades se encuentran dobladas y

pegadas al cuerpo y la barbilla pegada de igual manera a la superficie de descanso (Young et al., 2005).

En general, los mecanismos que han desarrollado los anfibios para evitar la pérdida de agua van orientados a adaptaciones fisiológicas para aumentar la tolerancia contra de la pérdida de humedad, en lugar de reducir las tasas de desecación (Thorson y Svihla, 1943; Littleford et al., 1947; Gordon, 1952; Thorson, 1955; Hutchinson, 1958; Ray, 1958). Tanto la fisiología como la ecología de los anfibios y sus relaciones térmicas se ven influenciadas por la temperatura y la humedad; de hecho, las tasas de pérdida de agua por evaporación pueden variar tanto entre individuos de la misma especie como entre diferentes especies dependiendo de las condiciones externas (Shoemaker y Nagy, 1977; Wygoda, 1984; Buttemer et al., 1996; Young et al., 2005), ya que estas pueden variar drásticamente dentro de un rango de condiciones macroambientales, dependiendo del microambiente en el que se encuentren (Schwarzkopf y Alford, 1996; Seebacher y Alford, 2002; Rowley y Alford, 2007).

La piel de los anfibios es sumamente vascularizada y es por esto que muchas veces funciona como el órgano respiratorio principal; es debido a esto que necesita mantenerse húmeda y permeable al agua y por lo tanto la tasa de evaporación de agua en estos animales es mucho más alta que en la mayoría de otros vertebrados (Heatwole et al., 1969), de hecho, las ranas tienden a perder agua inclusive en una atmósfera saturada (Adolph, 1933). Aunque antes se consideraba que la pérdida de agua por evaporación de la piel de la mayoría de anuros era similar a la pérdida de agua de una superficie de agua libre, estudios posteriores han demostrado que no todas las especies de ranas pierden agua de esta manera y se ha visto que algunas especies de ranas tienen una resistencia a la pérdida de agua de su piel igual o inclusive mayor que la de ciertos reptiles adaptados a vivir en el desierto (Loveridge, 1970; Shoemaker, et al., 1972; Withers et al., 1982; Wygoda, 1984; Buttemer, 1990; Preest et al., 1992; Young et al., 2005).

Las especies que no presentan ningún tipo de resistencia a la EWL se conocen como “anfibios típicos”, y ya que, en general se considera que los anfibios no poseen mecanismos fisiológicos o anatómicos para limitar la EWL (Shoemaker, 1975; Pough et al., 1983). Aquellos que presentan una resistencia significativa a la pérdida de agua se conocen como “excepcionales

o atípicos” (Young et al., 2005). Existen estudios que sugieren que esta variabilidad en la EWL puede darse tanto por el estilo de vida de las diferentes ranas (arbóreo, acuático, etc.) (Wygoda, 1984), como por la actividad de los individuos en su entorno natural (Shoemaker et al., 1992) e inclusive por la estacionalidad (Young et al., 2005). De hecho, se considera que una EWL fuerte, es un indicativo del hábitat ecológico (Wygoda, 1984; Young et al., 2005).

En general las ranas pueden evitar la desecación si poseen las siguientes características: una resistencia cutánea alta, un tamaño corporal grande o una combinación de estos rasgos (Tracy et al., 2010). En el estudio de Tracy y colaboradores (2010) se sugiere que las especies que presentan estas características tienden a ser arbóreas, por lo que se sugiere que estas especies pueden ser favorecidas selectivamente en un nicho que a menudo requiere que las ranas se encuentren lejos de fuentes de agua durante largos períodos de tiempo.

La tasa de pérdida de agua por evaporación (EWL) es una combinación de la EWL tanto cutánea como pulmonar; sin embargo, en los anuros la EWL pulmonar representa una parte tan mínima en comparación con la EWL cutánea, que llega a ser insignificante para la tasa de pérdida de agua por evaporación total (Spotila y Berman, 1976; Bentley y Yorio, 1979; Wygoda, 1984, Young et al., 2005).

Para estudiar la pérdida de agua y medir la temperatura en anfibios, se puede utilizar modelos realizados con una gran variedad de materiales como esponjas, tubos de cobre cubiertos de algodón, moldes de yeso o inclusive animales muertos (Tracy et al., 2007); sin embargo, la utilización de modelos de agar al 3% ha demostrado ser la técnica más eficiente para la mayoría de experimentos (Navas y Araujo, 2000; Schwarzkopf y Alford, 1996), ya que este modelo imite las características físicas y termales de los individuos vivos (Rowley y Alford, 2009) y proporciona una medida de la resistencia de la capa límite para un tamaño y forma de ranas determinado (Young et al., 2005).

Los modelos de agar también son eficientes al momento de determinar si las ranas poseen o no un mecanismo de resistencia cutánea ya que, evaporan el agua a la misma velocidad que una superficie de agua libre (Spotila y Berman, 1976); en el caso de que la tasa de

evaporación sea diferente a la esperada, se puede deducir que, en efecto, sí existe algún tipo de mecanismo ya sea fisiológico o comportamental que está afectando a la rana, el cual le permite evitar la pérdida de agua. Es importante considerar los mecanismos de comportamiento para una correcta medición de la PAE, sobre todo en ranas “atípicas”, ya que las especies que presentan una postura de conservación de agua tienden a tener las tasas más altas de resistencia a la pérdida de agua por evaporación cutánea (Young et al., 2005)

Debido a su alto nivel de complejidad, el entendimiento del funcionamiento de la biología de la piel húmeda de los anfibios representa un gran desafío para los biólogos ya que, para poder tener una verdadera comprensión sobre esto, es necesario el conocimiento tanto de la ecología de los anfibios, como de los procesos biofísicos que interactúan para afectar tanto a la temperatura basal como al balance de agua (Tracy et al., 2007).

Ecuador específicamente es un país privilegiado, ya que es considerado el cuarto país con mayor diversidad de anfibios, contando con 609 especies, de las cuales 261 son endémicas. Esto se debe a su complejidad histórica y alta heterogeneidad ambiental. A pesar del importante rol que juegan los anfibios y considerando que Ecuador es un país mega diverso como ya se mencionó con anterioridad, la riqueza de éstos en nuestro país es relativamente desconocida, ya que viven en sitios de difícil acceso y la mayoría tienen actividad nocturna lo que los vuelve animales complicados de coleccionar y estudiar (Ron et al., 2018).

En el presente proyecto se midieron las tasas de desecación por evaporación cutánea de dos especies de anuros con hábitats ecológicos diferentes. Las ranas de la familia Hylidae constituyen una de las familias más numerosas de ranas arbóreas americanas, con aproximadamente 870 especies (Faivovich et al., 2005), y son un constituyente importante de la herpetofauna de la Amazonía. Con pocas excepciones los miembros de esta familia son nocturnos y arbóreos, sin embargo, la mayoría de estos individuos descienden al suelo alrededor de lagos, a estanques, arroyos o a vegetación más baja para su reproducción (Rodríguez y Duellman, 1994). *Dendropsophus minutus*, conocida como “ranita amarilla común”, es una de las ranas arbóreas pertenecientes a esta familia, que se caracteriza por ser pequeña y de un color marrón o crema con puntos negros dispersos y una raya transversal crema sobre la cloaca hasta

el talón (característica que la diferencia de especies similares como *D. brevifrons* y *D. riveroi*) (Ron y Read, 2018).

D. minutus se distribuye en las tierras bajas al este de los Andes en Colombia, Venezuela y desde Trinidad hacia el sur a través de Ecuador, Perú, Brasil, Bolivia, Uruguay, y Argentina (sus hábitats naturales incluyen bosques piemontano orientales, bosques húmedos tropicales y bosques montanos orientales, a un rango altitudinal de 0 a 1800 m sobre el nivel del mar). En el Ecuador se la puede encontrar en las provincias de Morona Santiago, Napo, Orellana, Pastaza, Sucumbíos y Zamora Chinchipe (Ron y Read, 2018). En el Ecuador esta especie ha sido registrada en áreas abiertas artificiales que se encuentran rodeadas por bosque secundario, mientras que en otros países se la ha registrado en charcas de bosque primario de tierra firme. Esto probablemente se deba a su ovoposición, ya que esta ocurre durante las estaciones lluviosas y los huevos se encuentran juntos en grupos, en las hojas o detritos sumergidos (Ron y Read, 2018).

Por otro lado, la familia Dendrobatidae se caracteriza por incluir ranas pequeñas de hábitat terrestre, diurnas y con cuidado parental (Rodríguez y Duellman, 1994). Generalmente presentan una coloración brillante de advertencia, ya que aproximadamente un tercio de las especies poseen alcaloides fuertes en su piel (Rodríguez y Duellman, 1994) y es por esto que comúnmente son llamadas “ranas venenosas” o “ranas tóxicas” (Cisneros-Heredia y Yáñez-Muñoz, 2010). *Epipedobates boulengeri*, también conocida como “rana nodriza de Boulenger”, es una rana terrestre perteneciente a esta familia que se caracteriza por ser muy pequeña con una coloración dorsal variable que va desde un rojizo oscuro, hasta un café oscuro con manchas irregulares más oscuras (se la puede diferenciar de especies similares como *E. anthonyi* y *E. tricolor* por la ausencia de una línea dorsal media) (Coloma et al., 2018).

E. boulengeri es una especie diurna y terrestre, que generalmente se encuentra en bosques primarios y áreas con vegetación secundaria, e inclusive en áreas disturbadas por el hombre, como es el caso de plantaciones de banano; sin embargo, generalmente es más abundante en las áreas que presentan vegetación secundaria (Coloma et al., 2018). Esta especie se distribuye en las tierras bajas del Pacífico en la parte sur de Colombia (Isla de Gorgona,

departamentos de Nariño, Cauca, Valle del Cauca) y noroeste de Ecuador a un rango altitudinal de 10 a 1500 m sobre el nivel del mar. Sus hábitats naturales incluyen el bosque deciduo de la costa, bosque húmedo tropical del Chocó, bosque piemontano Occidental y bosque montano occidental. En el Ecuador específicamente se la puede encontrar en las provincias del Carchi, Esmeraldas, Imbabura, Pichincha, Cotopaxi, Los Ríos y Santo Domingo de los Tsáchilas (Coloma et al., 2018).

Este proyecto tiene el propósito de determinar si las especies en estudio poseen algún mecanismo de resistencia cutánea para evitar la evapotranspiración cutánea. Esta información ayudará a comprender de una mejor manera los mecanismos de protección contra la desecación que poseen algunos anfibios ecuatorianos y si estos mecanismos se relacionan con los hábitats ecológicos de las especies. Así mismo, este conocimiento puede ayudar a predecir como el cambio climático podría afectarles y así facilitar la toma de decisiones que ayuden a protegerlos.

4. OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GENERAL

- Comparar la tasa de pérdida de agua por evaporación y la resistencia cutánea de dos especies de anuros ecuatorianos: *Epipedobates boulengeri* (Dendrobatidae) y *Dendropsophus minutus* (Hylidae)

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Calcular las tasas de pérdida de agua por evapotranspiración de individuos de *Epipedobates boulengeri* y *Dendropsophus minutus* en postura de conservación de agua bajo condiciones controladas de laboratorio (20 °C y 0% HR).
- Determinar las tasas de pérdida de agua en postura de conservación de agua de modelos de agar al 3% con las características de las ranas originales.
- Determinar la resistencia cutánea en *Epipedobates boulengeri* y *Dendropsophus minutus*.
- Asociar los valores de resistencia cutánea a los hábitats ecológicos de las especies estudiadas.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 COLECTA DE INDIVIDUOS

La colecta de individuos de *Dendropsophus minutus* se llevó a cabo en la reserva Zanja Arajuno (km 32 en la vía Puyo-Tena) en la Provincia de Pastaza cantón Santa Clara, mientras que los individuos de *Epipedobates boulengeri* se colectaron en Durango (A 20 km SE por línea aérea desde Tundaloma Lodge) en la provincia de Esmeraldas cantón San Lorenzo. Se colectaron 15 individuos adultos por cada especie y se los mantuvo, en las instalaciones de la Iniciativa de Conservación "Balsa de los Sapos" en Quito, en tarrinas de ½ litro junto con una toalla de papel humedecida (para mantener su máxima hidratación) hasta el momento de la experimentación. Los experimentos se realizaron en el Laboratorio de Ecofisiología de la Escuela de Ciencias Biológicas de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador.

5.2 MANTENIMIENTO EN LABORATORIO

Las ranas colectadas se mantuvieron en contenedores individuales, a temperatura ambiente (~20°C) por al menos una semana antes de proceder a la fase de experimentación, para que estas tuvieran el tiempo adecuado para aclimatarse a las condiciones de laboratorio (Heatwole et al., 1969).

Los individuos fueron alimentados tres veces por semana con grillos número 1 proporcionados por el bioterio de la Iniciativa de Conservación "Balsa de los Sapos". Los contenedores fueron limpiados dos veces por semana para evitar cualquier tipo de contaminación y para mantener a las ranas en las mejores condiciones posibles.

5.3 MEDICIÓN DE PÉRDIDA DE AGUA

Para medir la tasa de pérdida de agua por evaporación se utilizó un sistema abierto de flujo de aire (Young et al., 2005). El sistema está formado por tres cámaras de vidrio de 2,95 cm de diámetro interconectadas entre sí, por donde se bombea aire seco.

Se colocaron registradores automáticos de temperatura y humedad relativa (Hygrochron iButton DS1923, con una precisión de 0,5 °C) en la primera y tercera cámara de vidrio, los cuales tomaban datos cada 10 segundos durante todas las etapas del experimento; posteriormente estos datos fueron leídos con el programa OneWireViewer versión 3.15.50 (Maxim Integrated Products, 2010).

Tanto los individuos de ambas especies, como sus modelos de agar fueron colocados en la segunda cámara de cristal, en donde fueron sometidos a un flujo constante de aire seco de 102 ml/min, para asegurarnos de que la velocidad dentro de dicha cámara sea de 0,25 cm s⁻¹ (Shoemaker y McClanahan, 1975; Christian y Parry, 1997). El vapor de agua fue removido del flujo de aire con la ayuda de una columna de 5,5 cm alto por 20 cm de diámetro de Drierite® (Aldrich 11426JC). El flujo de aire fue ajustado por medio de un lector de flujo OMEGA (FLR1002-D). El sistema de desecación usado para la medición de pérdida de agua se puede observar en la Figura 1, mientras que las variaciones registradas tanto en la temperatura como en la humedad se observan en la Figura 2.

5.4 EXPERIMENTOS DE DESECACIÓN

Cada experimento constó de tres fases con una duración de 60 minutos para *D. minutus* y de 90 min para *E. boulengeri*. La primera y tercera fase tuvieron una duración de 30 min cada una y sirvieron para crear una línea base en donde se dejaba que el aire seco fluyera a través del sistema en la cámara central, sin que la rana estuviera presente. La segunda fase dependiendo de la especie tuvo una duración de 30 minutos para *D. minutus* y de 60 minutos para *E. boulengeri*. Este era el tiempo que fue determinado para que los individuos de las dos especies adquirieran la postura de conservación de agua (Pough et al., 1983). Es durante esta fase que se colocaba al individuo en la cámara central y se permitía que fluyera el aire seco a través del sistema.

Antes de iniciar el experimento, cada individuo fue mantenido en un contenedor con la humedad suficiente para que se mantuviera hidratado. Posteriormente antes de que las ranas ingresaran a la cámara se retiraba el exceso de agua de su piel presionándolas suavemente con

una toalla de papel, a la vez se presionaba ligeramente el abdomen de las mismas. Es necesario considerar que los anuros almacenan agua en la vejiga, la cual es reabsorbida por el animal para su supervivencia en caso de condiciones desfavorables, por lo que el vaciar la vejiga del animal antes de someterlo a la fase de experimentación era crucial (Heatwole et al., 1969), para evitar que esta se vaciara durante el experimento y así evitar que estos datos interfirieran con los resultados experimentales.

Se registró el peso inicial (P_o) de cada individuo en una balanza Boeca Germany BBI-41 con una precisión de 0,001 g, para poder medir gravimétricamente la pérdida de agua que tenía la rana durante el experimento. Al completar el experimento se tomaron los siguientes datos adicionales: la temperatura corporal de la superficie de los individuos, con la ayuda de un termopar asociado a un lector Omega HH378 (precisión $\pm 0,1\%$ de lectura $+ 0,7^\circ \text{C}$), la longitud rostro cloacal (SVL), el ancho de la cabeza (W_h), el ancho del abdomen (W_a) y el alto del abdomen (H_a) con un calibrador digital Stainless Hardened (precisión de 0,01 mm). Utilizando estas medidas se procedió a realizar los respectivos modelos de agar para cada individuo (Young et al., 2005).

Durante la segunda fase del experimento se registró en fotografías, cada 10 segundos, la posición de la rana con respecto a la cámara (entrada, mitad, salida) y con respecto al flujo de aire (a favor, en contra, transversal), e adicionalmente se puso especial atención en los momentos en los cuales los individuos se colocaron en postura de conservación de agua.

5.5 MODELOS DE AGAR

Para determinar si existía algún mecanismo de resistencia cutánea para evitar la pérdida de agua por evaporación cutánea, se comparó las tasas de pérdida de agua de los individuos vivos con modelos de agar al 3%, ya que estos no presentan ningún tipo de resistencia cutánea a la desecación (Spotila y Berman, 1976). Estos modelos fueron hechos con la misma forma, tamaño y color que los individuos originales en postura de conservación de agua (Rowley y Alford, 2009) (Figura 3). Para realizar los moldes, las ranas reales fueron anestesiadas con tricaina metasulfonato (MS-222) al 15 % para posteriormente ser embebidas en material para

impresión dental Alginato (Tulip Colorswitch Cavex) por algunos segundos, hasta lograr que el Alginato adquiriera la forma del cuerpo de la rana en postura de conservación de agua.

Una vez que se obtuvieron los moldes, se los procedió a llenar con una solución de agar al 3% previamente teñida con colorante vegetal, de tal manera, que el color fuera el más parecido a la especie original; se trata de que el modelo de agar tenga los mismos colores que la rana original para minimizar la variación en la absorción espectral de la luz (Rowley y Alford, 2009), para que así las tasas de pérdida de agua por evaporación no se vean influenciadas por las diferencias en las longitudes de onda de la luz. Una vez que se obtuvo los moldes se procedió a moldearlos de acuerdo a las medidas de las ranas vivas previamente tomadas. El procedimiento a seguir con los modelos de agar fue el mismo que con los individuos vivos.

Los modelos de agar se colocaron en la cámara de cristal en la posición en donde el individuo real pasó el mayor tiempo en postura de conservación de agua (PCA). Como la superficie ventral de los modelos de agar no se acoplaba de una manera equivalente a la de las ranas vivas, se colocó esmalte de uñas transparente en la superficie ventral de los modelos de agar para simular que dicha superficie no se encontrara expuesta al flujo de aire.

Al finalizar cada experimento, tanto de las ranas vivas como de sus respectivos modelos de agar, se accedió a los datos obtenidos por los registradores automáticos mediante el programa OneWireViewer versión 3.15.50 (Maxim Integrated Products, 2010) y posteriormente fueron procesados usando rutinas de programación realizadas en lenguaje R (R Core Team, 2016).

5.6 TASAS DE PÉRDIDA DE AGUA POR EVAPOTRANSPIRACIÓN CUTÁNEA

La tasa bruta de pérdida de agua por evaporación, está representada en $g\ h^{-1}$ y se calcula a partir de la siguiente fórmula:

$$EWL = \frac{(P_o - P_f) * 60}{T_f - T_o} \quad (\text{Ecuación 1})$$

Donde P_o corresponde al peso inicial, P_f corresponde al peso final, ambos expresados en gramos. T_f corresponde al tiempo final del experimento y T_o al tiempo inicial, el tiempo se expresa en horas.

Se calculó el área específica de piel expuesta (EWL_{SA} por sus siglas en ingles), para así poder tener un valor estandarizado de la tasa de pérdida de agua por transpiración cutánea que pueda ser comparable entre especies. Para esto se usó una ecuación alométrica que calcula la superficie de la rana expuesta a la desecación cuando se encuentra en postura de conservación de agua, en función de su peso. Esta ecuación fue utilizada por Buttemer y Thomas (2003). Para calcular área de superficie expuesta se utiliza la siguiente:

$$SA = 6.6W^{0.56} \quad (\text{Ecuación 2})$$

Donde SA corresponde al área de superficie expuesta expresada en cm^2 y W corresponde el peso inicial del individuo expresado en gramos. Para determinar el EWL_{SA} una vez que ya se ha calculado la superficie de la rana expuesta se utiliza la siguiente fórmula:

$$EWL_{sa} = \frac{EWL/3600}{SA} \quad (\text{Ecuación 3})$$

Donde EWL representa la tasa bruta de pérdida de agua expresada en g h^{-1} , SA representa el área de superficie expuesta y EWL_{SA} corresponde a la tasa de pérdida de agua por área expresada en $\text{g cm}^{-2} \text{s}^{-1}$.

Para calcular el EWL cuando la rana se encontraba en postura de conservación de agua (EWL_{WCP} por sus siglas en ingles), se utilizó una rutina de programación en R (R Core Team, 2016), lo cual permitió determinar la tasa de EWL únicamente para los periodos cuando las ranas vivas asumieron la postura de conservación de agua durante el mayor tiempo posible durante el experimento, basándose en los cálculos de Buttemer y Thomas (2003) para un sistema de flujo abierto, tal como el que se usó durante los experimentos.

5.7 RESISTENCIA CUTÁNEA

La resistencia cutánea se refiere a la resistencia residual que presenta el individuo una vez que los efectos de la capa borde o capa frontera son removidos, ya que es ahí donde el animal empieza a perder agua por evaporación de manera natural, esta pérdida de agua por evaporación se conoce como EWL (Wygoda, 1984).

Para el cálculo de la resistencia cutánea a la evaporación se usaron las siguientes fórmulas; empleadas por Buttemer (1990).

$$Ec = \frac{p}{ri+rb} \quad (\text{Ecuación 4})$$

Donde Ec representa la tasa de pérdida de agua por evaporación expresada en $\text{g cm}^{-2} \text{s}^{-1}$; ri representa la resistencia cutánea, rb representa la resistencia de la capa borde o capa frontera (tanto ri como rb se expresan en s cm^{-1}), y p representa el gradiente de densidad de vapor, el cual se calcula en base a la siguiente fórmula:

$$p = s_d(T_s) - RH s_d(T_a) \quad (\text{Ecuación 5})$$

Donde s_d representa la densidad de saturación de vapor del agua en base a la temperatura corporal (T_s), s_d representa la densidad de saturación de vapor del agua en base a la temperatura del aire durante el experimento (T_a), ambas expresadas en g cm^{-3} , y RH representa la humedad relativa del aire saliente de la cámara de experimentación, este se expresa fraccionalmente.

Para calcular la resistencia cutánea primero es necesario calcular la resistencia de la capa borde (Ecuación 4); para esto se utiliza los valores obtenidos de los modelos de agar, ya que estos poseen una resistencia cutánea igual a cero. Una vez que se ha obtenido el valor de la resistencia de la capa borde y los valores de las tasas de EWL_{SA} de las ranas vivas, se puede calcular la resistencia cutánea para cada uno de los individuos y su promedio viene a ser la resistencia cutánea de la especie.

5.8 ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

Para el análisis de los datos se utilizó el programa de análisis estadísticos SPSS Statistics (IBM Corp., 2016). Para determinar si los datos tanto de las medidas, como de las tasas de EWL y resistencias de los individuos y de los modelos de agar se podrían analizar con pruebas paramétricas, se aplicó una prueba de Levene para la homogeneidad de varianzas, y una prueba de Shapiro-Wilk para determinar la normalidad de los datos. Para establecer si existían diferencias significativas en las medidas de las ranas con sus respectivos modelos de agar se utilizó una prueba U de Mann-Whitney, ya que esta es una prueba no paramétrica equivalente a la prueba t de Student que se utiliza cuando los datos no son normales y existen ciertos datos atípicos como es en este caso. Para determinar si existían diferencias significativas entre especies para las tasas brutas de EWL, EWL_{SA} , EWL_{WCP} y resistencia cutánea, se aplicó la prueba no paramétrica de Wilcoxon; se utilizó esta prueba ya que la mayoría de datos no son normales y al no cumplir con los supuestos del ANOVA no era posible aplicar pruebas paramétricas.

6. RESULTADOS

6.1 COMPARACIÓN DE LAS MEDIDAS ENTRE ESPECIES CON SUS MODELOS DE AGAR

Los experimentos para *Dendropsophus minutus* se realizaron con 15 individuos cuyo peso fue de $\bar{x} = 0,588 \text{ g} \pm 0,17$; y con un SVL cuya media fue de $\bar{x} = 19,28 \text{ mm} \pm 1,70$ (Tabla 1). Por otro lado, los experimentos de *Epipedobates boulengeri* también se realizaron con 15 individuos, cuyo peso fue de $\bar{x} = 0,522 \text{ g} \pm 0,08$; y con un SVL cuya media fue de $\bar{x} = 18,00 \text{ mm} \pm 1,22$ (Tabla 1).

Se tomaron las medidas corporales (longitud rostro-cloacal; ancho de la cabeza; ancho del abdomen y profundidad del abdomen) tanto de las ranas, como de sus respectivos modelos de agar, para asegurarnos de que cualquier diferencia en las tasas de pérdida de agua al momento de comparar las ranas reales con sus modelos de agar no se deba a variaciones en el tamaño de los animales, sino a un mecanismo propio del animal que le ayude a evitar la evapotranspiración. Después de realizar los análisis pertinentes, se observó que no hubo diferencias significativas entre las ranas reales comparadas con sus modelos de agar para ninguno de los parámetros (Prueba U de Mann-Whitney – Anexos 1 al 8). Para probar los supuestos para realizar ANOVA se realizó una prueba de Levene (Tabla 2) para la homogeneidad de varianzas y de Shaphiro-Wilk (Tabla 3) para la normalidad. Estos resultados se encuentran del anexo 9 al 20.

Al comparar las medidas corporales entre ambas especies (*D. minutus* y *E. boulengeri*), se observó cómo la longitud rostro-cloacal (Prueba U de Mann-Whitney, $p = 0,038$) y ancho de la cabeza (Prueba U de Mann-Whitney, $p < 0,01$) presentaron diferencias significativas. De esta manera se comprobó que, si existen variaciones significativas en cuanto al tamaño entre las dos especies, siendo más grandes los individuos de *D. minutus*. Los resultados de la prueba U de Mann-Whitney (Tabla 4) se encuentran de los anexos 21 al 24.

6.2 TASAS DE PÉRDIDA DE AGUA

Al comparar los valores de las diferentes tasas de pérdida de agua (EWL, EWL_{SA} y EWL_{WCP}) entre ambas especies, se observó que los datos obtenidos son estadísticamente diferentes; es decir que no existen diferencias en las tasas antes mencionadas entre los individuos de *D. minutus* y *E. boulengeri*. Los valores para la prueba de Wilcoxon (Tabla 5), se muestran del anexo 25 hasta el 28.

Se midió las tasas brutas de pérdida de agua por evaporación (EWL) tanto para *D. minutus*, como para *E. boulengeri* para tener una idea general sobre la posible existencia de un mecanismo que evite la evapotranspiración de las especies estudiadas. Por un lado *D. minutus* presentó una media de $0,0787 \pm 0,02 \text{ g h}^{-1}$ (Tabla 6), representando una pérdida promedio de agua de 13,45% por hora. *E. boulengeri* por su parte presentó una media de $0,0773 \text{ g h}^{-1} \pm 0,01$ (Tabla 7) representando una pérdida promedio de peso de 13,62% por hora, bajo las condiciones experimentales. Al comparar las dos especies se vio que no hay diferencias significativas en cuanto a su EWL (Wilcoxon, $Z = -0,397$; $p = 0,691$) (Tabla 5).

Al comparar las tasas de pérdida de agua ajustadas en base al tamaño de las ranas; los individuos de *D. minutus*, tuvieron una superficie expuesta promedio de $12,33 \text{ cm}^2$, mientras que los individuos de *E. boulengeri* presentaron una superficie expuesta promedio de $10,25 \text{ cm}^2$. Para la tasa ajustada de pérdida de agua (EWL_{SA}) para *D. minutus* se obtuvo una media de $4,47\text{E-}06 \text{ g cm}^{-2} \text{ s}^{-1} \pm 7,18\text{E-}07$ (Tabla 6), mientras que para *E. boulengeri* su EWL_{SA} presentó una media de $4,69\text{E-}06 \text{ g cm}^{-2} \text{ s}^{-1} \pm 7,17\text{E-}07$ (Tabla 7). En cuanto a los modelos de agar para *D. minutus* la media fue de $4,10\text{E-}06 \text{ g cm}^{-2} \text{ s}^{-1} \pm 5,61\text{E-}07$, mientras que para *E. boulengeri* la media fue de $3,37\text{E-}06 \text{ g cm}^{-2} \text{ s}^{-1} \pm 5,23\text{E-}07$ (Tabla 7). Al comparar las dos especies se obtuvo que no hay diferencias significativas (Wilcoxon, $Z = -0,738$; p de 0,460) (Tabla 5). Estos resultados permiten descartar el efecto del tamaño de las ranas en las tasas de pérdida de agua.

En cuanto a la tasa ajustada de pérdida de agua en postura de conservación (EWL_{WCP}) para ambas especies; de los 15 individuos de *D. minutus* sometidos a la experimentación, únicamente 13 asumieron la postura de conservación de agua; el tiempo en el que los individuos

adquirieron esta postura varió entre 10 segundos y 6,2 minutos ($\bar{x} = 2,83$ minutos). En cuanto a las ranas de *E. boulengeri*, estas no fueron capaces de adoptar una postura de conservación de agua, ya que estas ranas no apoyaban su cuerpo completamente sobre el sustrato, y su cabeza casi siempre estaba levantada, por lo que el animal se encontraba semi-acostado y sus extremidades siempre se encontraban separadas del cuerpo (Figura 4); es por esto que para la realización del cálculo de la EWL_{WCP} para esta especie, se usó el periodo de tiempo más largo durante el cual la rana permaneció inmóvil. Considerando lo antes mencionado, fueron 12 los individuos que permanecieron inmóviles durante la fase de experimentación, y el tiempo varió entre 11,2 y 59,4 minutos ($\bar{x} = 41,13$ minutos).

Al comparar las EWL_{WCP} entre las dos especies se observó que tampoco hay diferencias significativas (Wilcoxon, $p = 0,109$; $Z = -1,601$) (Tabla 5). *D. minutus* presentó una media de $2,80E-06 \text{ g cm}^{-2} \text{ s}^{-1} \pm 5,38E-07$ (Tabla 6), mientras que *E. boulengeri* presentó una media de $3,06E-06 \text{ g cm}^{-2} \text{ s}^{-1} \pm 2,43E-07$ (Tabla 7).

Al comparar las EWL_{WCP} de las ranas con las EWL_{SA} de los modelos de agar, en el caso de *D. minutus* la pérdida de agua fue menor en las ranas en comparación con sus modelos de agar, presentando diferencias significativas (Wilcoxon, Z de $-3,180$; $p = 0,001$), mientras que para *E. boulengeri* no se encontraron diferencias significativas (Wilcoxon, $Z = -1,413$; $p = 0,158$), lo que nos indica que tanto los modelos de agar como las ranas de esta especie pierden agua de una manera “típica” (Tabla 5). Es así que se confirmaría que *D. minutus* posee algún mecanismo que le ayuda a regular la pérdida de agua, gracias a que las ranas reales pierden menos agua en comparación con sus modelos de agar (Anexo 29).

Los resultados de la prueba de Levene (Tabla 2) y de Shaphiro-Wilk (Tabla 3) para las diferentes tasas de pérdida de agua (EWL , EWL_{SA} y EWL_{WCP}) se observan 30 al 35 y del 36 al 38 respectivamente.

6.3 RESISTENCIAS CUTÁNEAS

Para la especie *D. minutus* la resistencia cutánea fue de $\bar{x} = 1,30 \text{ s cm}^{-1} \pm 0,90$. La resistencia de la capa borde calculada a partir de sus respectivos modelos de agar fue de $\bar{x} = 1,75 \text{ s cm}^{-1} \pm 0,22$ (Tabla 6). El hecho de poseer resistencia cutánea, nos indica que esta especie si posee algún tipo de mecanismo que le permite perder menos agua de la esperada, es decir evitar la desecación.

Para la especie *E. boulengeri* la resistencia cutánea fue de $\bar{x} = -0,72 \text{ s cm}^{-1} \pm 0,34$. La resistencia de la capa borde calculada a partir de sus respectivos modelos de agar fue de $\bar{x} = 2,65 \text{ s cm}^{-1} \pm 0,38$ (Tabla 7). El poseer una resistencia cutánea negativa nos indica que las ranas de esta especie no poseen ningún mecanismo que evite pierdan agua de manera normal (Anexos 39 y 40).

7. DISCUSIÓN

7.1 TASAS DE PÉRDIDA DE AGUA

Los anfibios enfrentan un desafío único entre los ectotermos debido a la manera en la que pierden agua. Por la constante evaporación del agua que sufren estos animales a través de la piel, los anfibios tienen dificultades para alcanzar temperaturas corporales tan altas como las temperaturas del aire del ambiente o del sustrato y con frecuencia se encuentran a temperaturas por debajo de la temperatura ambiental (Tracy et al., 2005). Debido a que poseen una piel vascularizada y sensible a los cambios climáticos, para prevenir la deshidratación, los anfibios deben permanecer cerca de una fuente de agua o tener algún mecanismo para reducir la EWL, por ejemplo, adoptar una postura de conservación de agua o producir secreciones (Tracy et al., 2005). Cuando hablamos de EWL la interacción entre la postura y la resistencia cutánea es particularmente importante para las especies "atípicas", es decir, aquellas especies que pierden una menor cantidad de agua por evapotranspiración que la que se esperaría de una especie promedio (Young et al., 2005).

La resistencia de la piel es una medida directa del efecto de las estructuras y procesos tegumentales sobre el movimiento del agua desde el interior de un animal, a través de su piel hasta su superficie exterior (Spotila y Berman, 1976). Debido a su necesidad de mantener una piel húmeda para el intercambio de gases respiratorios, la mayoría de las ranas tienen poca resistencia a la pérdida de agua (Spotila y Berman 1976; Withers et al. 1984; Wygoda 1984; Mc-Clanahan et al. 1978; Mc-Clanahan y Shoemaker, 1987; Wygoda y Williams 1991).

Durante mucho tiempo la EWL ha sido reconocida como un factor importante en la adaptación de los anfibios y reptiles a los ambientes terrestres y las diferencias en sus tasas de pérdida de agua, se han correlacionado con las especies, el tamaño, el sexo, el hábitat, la humedad del aire, la temperatura (Spotila y Berman, 1976).

Para este estudio se utilizó individuos de *Dendropsophus minutus* y de *Epipedobates boulengeri*. A pesar de que se esperaría que al comparar ambas especies si existan diferencias

en las tasas de pérdida de agua bruta (EWL), debido no solo a las diferencias comportamentales durante la fase de experimentación (como la adopción de una postura de conservación de agua), sino también debido a sus diferencias ecológicas, los datos obtenidos demuestran que no existen diferencias significativas.

El tamaño corporal puede influir en la tasa efectiva de pérdida de agua al afectar las relaciones entre el área y volumen, así como por las interacciones físicas con el medio ambiente (Tracy et al., 2010). Considerando que, en efecto, existen diferencias en el tamaño tanto del ancho de la cabeza como en el SVL entre las especies, siendo más grande *D. minutus*, y que tales diferencias podrían afectar las tasas de pérdida de agua, se determinó la superficie exacta por la cual la rana va a perder agua en un determinado experimento. El hecho de que no existan diferencias significativas en las tasas de pérdida de agua ajustadas entre ambas especies, implica que posiblemente la especie con el mayor tamaño posee algún mecanismo para evitar la pérdida de agua a través de su piel.

Otro de los factores que podría influenciar estos resultados es la adopción de una postura de conservación de agua, ya que esta minimiza la superficie de piel expuesta del animal. Como se mencionó con anterioridad, no todos los individuos de ambas especies asumieron dicha postura, y los individuos que si lo hicieron no la asumieron en el mismo tiempo. Además, las ranas de *E. boulengeri* fueron mucho más activas que las de *D. minutus* durante la fase de experimentación, y se tardaron mucho más tiempo para adoptar la postura de “descanso”, por lo que se esperaría que pierdan más agua proporcionalmente. Es importante considerar que dichas variaciones comportamentales afectan las tasas de pérdida de agua de las ranas, no solo porque la superficie de piel expuesta es mayor, sino que, además el tener una mayor actividad durante el experimento puede provocar que pierdan más agua que las que se encontraban en un estado de reposo, por un aumento en el metabolismo. Las diferencias en las tasas de pérdida de agua en postura de conservación de agua tampoco fueron significativas, por lo que también las variaciones comportamentales de la especie pequeña y/o la presencia de mecanismos contra la desecación podrían explicar la ausencia de diferencias en las EWL.

Al comparar las EWL_{WCP} de las ranas con las EWL_{SA} de los modelos de agar, se observó que la pérdida de agua fue menor en las ranas en comparación con sus modelos de agar. En el caso de *D. minutus*, las pruebas estadísticas mostraron diferencias significativas para estos valores, sin embargo, para *E. boulengeri* no se encontraron diferencias significativas, por lo que se puede concluir que *D. minutus* posee un mecanismo para evitar la pérdida de agua.

Considerando que ya se demostró que tanto las diferencias comportamentales (adopción de una postura de conservación de agua), como morfológicas (diferencias en el tamaño), no pueden explicar el por qué no existen diferencias en las tasas de pérdida de agua entre ambas especies y para explicar el por qué *D. minutus* no perdió la cantidad de agua que se hubiera esperado, podemos asumir que existe algún tipo de mecanismo fisiológico que evita que dichas ranas pierdan agua de manera normal, por lo que podemos considerar a *D. minutus* como un “anuro atípico o excepcional”. La adopción de dicho mecanismo seguramente tiene que ver con el tipo de hábitat de las ranas, es decir con el hecho de que sean arbóreas o terrestres, ya que las ranas arbóreas en general tienden a presentar resistencias más altas a la pérdida de agua, mientras que las terrestres no.

El mecanismo para disminuir el EWL en muchos de los casos es presumiblemente a través de la descarga de las glándulas mucosas (Withers et al., 1982). Otro de los posibles mecanismos que confieren propiedades de impermeabilización son las capas de iridóforos, sin embargo, el supuesto papel de las capas de iridóforos en la reducción de EWL todavía no se ha confirmado (Withers et al., 1982). En el caso de las dos especies que se sometió a experimentación en este estudio, se observó cómo los individuos de *D. minutus* tenían la tendencia a esparcirse una cera por todo su cuerpo con la ayuda de sus patas, lo cual podría explicar el por qué estos individuos no perdieron tanta agua como se esperaba.

D. minutus es una rana nocturna que se encuentra en el sotobosque a alturas de aproximadamente 1,70 m. Sin embargo, debido a su reproducción se la puede llegar a encontrar a alturas de entre 5 y 70 cm sobre la vegetación en lugares cercanos a riachuelos. *D. minutus* es una especie relativamente difícil de encontrar debido a su hábitat, y además según la información de AmphibiaWeb es una especie considerada casi amenazada en el Ecuador. El

hábitat de esta especie incluye áreas abiertas con gramíneas cercanas al margen, áreas cubiertas con vegetación acuática, áreas con vegetación herbácea e inclusive áreas con vegetación herbáceo-arbustiva cercanas al margen. Se ha visto que las áreas preferidas para la reproducción de estos animales son las áreas abiertas con gramíneas y áreas cubiertas por vegetación acuática (Oliveira et al., 2015). En general las ranas arbóreas, por el hecho de vivir a nivel del dosel y verse constantemente sometidas a vientos fuertes tienden a presentar niveles bajos de resistencia de la capa borde y por consiguiente suelen aumentar considerablemente sus niveles de resistencia cutánea, lo cual les ayuda a presentar tasas relativamente bajas de pérdida de agua.

Por otro lado, *E. boulengeri* es una especie común que posee cuidado parental y que es relativamente fácil de coleccionar, ya que generalmente se encuentra saltando en la hojarasca durante el día (Mueses-Cisneros et al., 2008). Estas ranas al ser terrestres no tienen una asociación estricta a pozas de agua o riachuelos, ya que pueden llegar a encontrarse en lugares alejados de los cuerpos de agua, como son los bordes de carreteras y otras áreas disturbadas, siempre y cuando estén cerca de la hojarasca o de musgos húmedos. El hecho de que estos animales no tengan una estricta asociación al agua y que su hábitat sea terrestre podría explicar el por qué esta especie no presenta valores estadísticamente significativos al comparar la pérdida de agua de las ranas reales con sus modelos de agar, es decir que tanto las ranas como sus modelos de agar pierdan la misma cantidad de agua, lo cual no sucedería en el caso de que tuvieran un mecanismo especial que les permita evitar la desecación. Esto debido a que, el micro hábitat en el que viven les provee de la humedad suficiente para su supervivencia y al vivir a nivel del suelo y no verse afectados por corrientes tan fuertes de viento como ocurre con las ranas arbóreas, los hace animales poco resistentes a la pérdida de agua.

El hecho de que las ranas de *E. boulengeri* hayan presentado una EWL_{WCP} mayor que sus modelos de agar podría explicarse por su comportamiento durante la fase de experimentación y no por características fisiológicas especializadas, ya que durante la mayor parte del experimento los individuos se encontraban en constante movimiento y rara vez permanecían quietos, además cuando lo hacían solo era por un corto periodo de tiempo. Hay que tomar en cuenta que estos animales nunca llegaron a tomar una postura de conservación de agua, sino más bien una postura algo parecida a cuando las ranas se encuentran alerta, por lo

que nunca minimizaron la superficie de piel expuesta. Y si consideramos que los modelos de agar se hicieron en postura de conservación de agua podemos entender el porqué de las diferencias antes mencionadas.

La pérdida de agua por evaporación de los anfibios también causa una pérdida de energía porque el calor se pierde como calor latente, y los animales expuestos a condiciones más cálidas perderán el agua más rápido que los animales expuestos a condiciones más frías porque la densidad de vapor de su piel será mayor (Tracy et al., 2010). Para los anuros que tienen una piel a través de la cual el agua se evapora a la misma velocidad que una superficie de agua libre, la selección de microhábitat y la postura de conservación son comportamientos que se deben usar para reducir la pérdida de agua, sin embargo, estas actividades no necesariamente conducen a la termorregulación (Tracy et al., 2010), ya que al ser animales ectotermos la regulación de su temperatura depende más bien del ambiente. Es necesario mencionar que las estrategias de termorregulación son importantes para los ectotermos al ser importantes para el desempeño de varias funciones (locomoción, digestión y crecimiento), ya que a menudo están relacionadas con la temperatura corporal (Huey y Stevenson 1979; Rome et al., 1992).

Para este estudio se analizó una rana de hábitat arbórea (*D. minutus*) y otra de hábitat terrestre (*E. boulengeri*), si consideramos el hábitat de estas especies podemos entender por qué el adoptar ciertas actividades, como una postura de conservación de agua no necesariamente implica tener una buena termorregulación; ya que, *D. minutus* debido al hábitat donde se encuentra se ve expuesta a condiciones más adversas que evitan que pueda termoregular de una manera eficiente, mientras que *E. boulengeri* al ser una rana terrestre tiene una mayor facilidad para termoregular.

Es importante considerar que los métodos que tienen los anfibios para reducir su EWL tienen diferentes consecuencias para la termorregulación; por ejemplo la adopción de una postura de conservación de agua en ranas arbóreas les ayuda a evitar la pérdida de agua, pero no permite una regulación muy precisa de la temperatura; por otro lado, las ranas acuáticas no tienen problemas al momento de mantenerse hidratadas, pero las oportunidades para regular la temperatura en el agua se limitan a seleccionar una temperatura particular del agua o al tomar

el sol justo debajo de la superficie del agua. Por lo tanto, las especies que pueden reducir el EWL mientras aún se mantienen móviles son las que tienen las mejores oportunidades para un control preciso de la temperatura (Tracy, Christian y Tracy, 2005). En este estudio se observa como a pesar de que existen diferencias en la temperatura basal de los individuos de ambas especies, las tasas en la pérdida de agua no son significativas; esto se explica si tomamos en cuenta que *D. minutus* al tener un mecanismo de resistencia contra la desecación y para evitar la evapotranspiración de agua también reduce la pérdida de temperatura corporal que se produce como consecuencia de este proceso físico.

7.2 RESISTENCIAS CUTÁNEAS

La tasa de pérdida de agua cutánea se da debido a la diferencia en la presión de vapor entre el interior y el exterior de la piel (Spotila y Berman, 1976). Este potencial de presión de vapor, a su vez, está restringido por dos elementos de resistencia al vapor: la resistencia de la piel al flujo de vapor (r_c) y la resistencia de la capa límite o capa borde (r_b), la cual se encuentra asociada con el aire que se adhiere a la superficie exterior del animal; además de la velocidad del aire la resistencia de la capa borde también depende de la geometría física del animal (Spotila y Berman, 1976). Las ranas que pasan el día a nivel del dosel se encuentran expuestas a vientos que reducen considerablemente la r_b , mientras que, por el contrario, las ranas que se encuentran a nivel del suelo experimentan niveles de viento mucho más bajos y es por esto que presentan un r_b mucho más alto en comparación con las ranas arbóreas. Esto implica que la resistencia total a la pérdida de agua podría no llegar a ser muy diferente para las ranas, a pesar de que sus hábitats sean distintas y a que presenten una gran diferencia en el r_c (Buttemer y Thomas, 2003).

En nuestro caso para la especie *D. minutus* la resistencia cutánea fue de $\bar{x} = 1,30 \text{ s cm}^{-1}$; por otro lado, para la especie *E. boulengeri* la resistencia cutánea fue de $\bar{x} = -0,72 \text{ s cm}^{-1}$. En general puede considerarse a una especie como "atípica", cuando presentan una resistencia cutánea media que varía de 1,5 a 63 s cm^{-1} (Young et al., 2005), sin embargo si consideramos la notable diferencia que existe entre la resistencia cutánea para ambas especies y sobre todo por el hecho de que *E. boulengeri* presenta una resistencia cutánea negativa podemos considerar a *D. minutus* como una especie atípica, ya que su valor es muy cercano a 1,5; además es

importante considerar que el hecho de que un anfibio se considere como “típico” o “atípico” depende en gran parte del hecho de que pierda igual o menor cantidad de agua que sus modelos de agar. Para el género *Litoria*, perteneciente a la familia Hylidae, se han registrado resistencias cutáneas que van desde 1,8 a 2,3 s cm⁻¹, sin embargo, se han descubierto ranas con pieles tan resistentes a la pérdida de agua que podrían llegar a compararse con los reptiles terrestres, con valores que van de 200 a 300 s cm⁻¹ (Buttemer y Thomas, 2003).

Los hylidos son animales muy diversos no solo con respecto al hábitat que ocupan, yendo desde lugares con una permanente asociación al agua, hasta zonas completamente áridas en donde estos animales permanecen bajo tierra durante varios años; sino que también muestran una gran variedad fisiológica sobre todo con respecto a la permeabilidad de su piel, habiendo ranas tan permeables al agua que su piel se comporta como una superficie de agua libre, y otras que son extremadamente resistentes a la pérdida de agua por evapotranspiración (Buttemer y Thomas, 2003). En su estudio Buttemer y Thomas (2003), demostraron que la permeabilidad más baja en ranas australianas no se encontró en ranas de zonas áridas ni terrestres (como es el caso de *L. alboguttata*, *L. rubella*), sino más bien en ranas asociadas a bosques tropicales, entre las cuales se encuentran algunas especies del género *Litoria* (por ejemplo *L. gracilentia*, *L. chloris*).

En el estudio hecho por Tracy et al. (2010), encontraron que especies verdaderamente arbóreas, como *L. caerulea* o *L. rothii*, presentan una resistencia cutánea relativamente alta a la pérdida de agua (14,3 y 16,2 s cm⁻¹, respectivamente), mientras que ranas acuáticas como *L. dahlia* o *L. meiriana*, tienen una resistencia relativamente baja (2,3 y 0,6 s cm⁻¹, respectivamente). Adicionalmente, en el estudio de Wygoda (1984) en donde se compararon las tasas específicas por área de pérdida de agua por evaporación cutánea entre especies arbóreas (géneros *Hyla* y *Osteocephalus*) y especies no arbóreas (géneros *Acris*, *Atelopus*, *Bufo*, *Gastrophryne*, *Rana*, *Scaphiopus* y *Xenopus*), se obtuvo una resistencia cutánea promedio de 0,05 s cm⁻¹, valor que fue 41 veces mayor en las arborícolas. En el caso de *D. minutus* la resistencia fue relativamente baja para ser una rana arbórea, pero no fue tan baja como para considerarse una “especie típica”, por lo que deducimos que la existencia de algún mecanismo específico le permite tener una resistencia cutánea considerable.

Las especies de la familia Dendrobatidae ocupan una gran variedad de hábitats, entre los que se incluyen arroyos, bosques densos, campos abiertos, bosques húmedos de tierras bajas, bosques nublados, páramos y hábitats acuáticos, terrestres y arbóreos que van desde Nicaragua hasta Bolivia y el bosque atlántico de Brasil y desde la costa del Pacífico de América del Sur hasta Martinica en las Antillas francesas. Todas las especies a excepción de una son diurnas, terrestres y ponen huevos en la superficie terrestre, además se caracterizan por poseer comportamientos reproductivos elaborados (Grant et al., 2006).

Las ranas terrestres generalmente no poseen una alta resistencia a la desecación, lo que sugiere un costo para mantener una alta resistencia de la piel. Esto es posiblemente debido a los costos metabólicos de sintetizar las secreciones que aumentan la resistencia cutánea (Tracy et al., 2010), o a sus hábitats ecológicos variados (hojarasca, lugares cercanos a carreteras, musgo húmedo), que no les exigen desarrollar un mecanismo específico para evitar la pérdida de agua por evapotranspiración. En conclusión, si consideramos la ecología de estas ranas, podemos explicar el por qué los individuos de *E. boulengeri* no presentaron resistencia cutánea.

Es necesario mencionar que el valor negativo que se obtiene para la resistencia cutánea de *E. boulengeri* ($\bar{x} = -0,72 \text{ s cm}^{-1}$), se da debido a que el valor del gradiente de densidad de vapor que se obtiene de la fórmula expresada en la ecuación 5 (métodos) es negativo, ya que el s_{d_a} que representa la densidad de saturación de vapor del agua en base a la temperatura del aire durante el experimento (T_a), es mayor al s_{d_s} , que representa la densidad de saturación de vapor del agua en base a la temperatura corporal (T_s). Es debido a esto que cuando se calcula el valor para la resistencia cutánea obtenemos un número negativo. En la parte práctica esto se podría explicar por el comportamiento que tuvieron los especímenes de esta especie durante la fase de experimentación, al no adquirir una “típica” postura de conservación de agua, además de que los individuos se encontraron en constante movimiento durante casi todo el experimento. Finalmente, el hecho de que el valor que se obtiene para la resistencia cutánea es muy cercano a 0 y no presentó diferencias estadísticas con el modelo de agar, implica la potencial inexistencia de una resistencia cutánea, lo cual se ajusta a los valores esperados en la literatura para las especies terrestres (Tracy et al., 2010).

En general se acepta que la mayoría de anfibios carecen de mecanismos ya sea anatómicos o fisiológicos para limitar la EWL (Shoemaker y McClanahan, 1975; Pough et al., 1983); sin embargo, como ya se ha mencionado con anterioridad varios estudios han probado que las ranas arbóreas claramente pierden agua por evaporación más lentamente que las ranas no arbóreas (Tracy et al., 2010). De hecho, se ha visto que las ranas arbóreas tienden a tener tiempos de desecación más largos (hasta el 70% de la masa estándar) en comparación con las ranas que son terrestres o acuáticas (Tracy et al., 2010). Uno de los mecanismos que utilizan los anfibios para evitar la desecación es la secreción de una sustancia cerosa que untan sobre toda la superficie de su cuerpo, como es en el caso de *Phyllomedusa* (Blaylock et al., 1976). Las secreciones mucosas producidas por las ranas sirven para prevenir la desecación cutánea y, por lo tanto, para mantener las funciones termorreguladoras y respiratorias de la piel de las mismas cuando se ven expuestas al sol (Buttemer, 1990). En su estudio Buttemer (1990) sugiere que la descarga de moco en algunos anfibios, como en el caso de las ranas del género *Litoria*, juega un papel clave en la disminución de las tasas de pérdida de agua, ya que a medida que aumenta su temperatura corporal, también aumenta la producción de moco (Shoemaker et al., 1987). Considerando que la especie *D. minutus* presentó comportamientos similares, se puede sugerir que también podría tener la capacidad de hacer lo mismo. Esto en conjunto con su ecología al ser una rana arbórea que forma parte de la familia Hylidae, potencialmente podría explicar el por qué presentaron tasas de desecación relativamente bajas y a la vez una resistencia cutánea considerable.

8. CONCLUSIONES

La EWL es de suma importancia para entender no solo el funcionamiento de los anfibios, sino también como ha sido su adaptación a los ambientes terrestres, ya que se cree que esta juega un papel determinante en su evolución.

Considerando que los individuos de *Dendropsophus minutus* son más grandes se esperaría que estos perdieran más agua comparándolos con los individuos de *Epipedobates boulengeri* que son más pequeños, sin embargo, esto no ocurrió posiblemente debido a que *D. minutus* es una especie atípica, que presenta adaptaciones para evitar la desecación. Esto puede explicar el por qué *D. minutus* presenta una tasa ajustada de pérdida de agua en postura de conservación (EWL_{WCP}) promedio de $2,80E-06$, mientras que *Epipedobates boulengeri* presenta una EWL_{WCP} de $3,06E-06$.

Se puede confirmar que *D. minutus* a diferencia de *E. boulengeri*, si posee mecanismos que le ayudan a evitar la pérdida de agua, al comparar las EWL_{WCP} de las ranas con las EWL_{SA} de sus modelos de agar. Ya que se observó diferencias significativas para los valores de la pérdida de agua en *D. minutus*, mientras que para *E. boulengeri* no se encontraron diferencias significativas. Demostrando así que *D. minutus* al ser una rana arbórea si posee mecanismos que le ayudan a evitar la pérdida de agua, mientras que *E. boulengeri* al ser una rana terrestre, no los posee.

Las diferencias ecológicas entre las especies analizadas serían las responsables de que *D. minutus* presente una resistencia cutánea de $1,30 \text{ s cm}^{-1}$, mientras que *E. boulengeri* tenga una resistencia cutánea de $-0,72 \text{ s cm}^{-1}$. Esto probablemente se deba a que *D. minutus* al ser una rana arbórea tiene tendencia a presentar bajos niveles de evapotranspiración, en comparación con *E. boulengeri* que al ser una rana terrestre que no presenta una asociación estricta con el agua, no ha desarrollado características ni comportamientos especiales para evitar la desecación.

El hecho de que *D. minutus* presentara comportamientos como la expansión de una sustancia cerosa sobre su cuerpo durante la fase de experimentación, comportamiento que ya se

ha registrado en otros miembros de la familia Hylidae, seguramente sea uno de los motivos por los cuales esta especie presentó mucha más resistencia a la evapotranspiración en comparación con *E. boulengeri*, ya que este es un mecanismo que ayuda a las ranas a no perder tanta agua.

El conocer los valores de las tasas de pérdida de agua y de las resistencias cutáneas de estas especies nos ayudan a tener una idea mucho más clara sobre cómo pierden agua estos animales. De esta manera es mucho más fácil predecir cómo les afectaría de manera más precisa el cambio climático, para así tomar medidas efectivas para la conservación de las mismas.

9. RECOMENDACIONES

Considerando que no todas las ranas asumieron una postura de conservación de agua, en especial en el caso de *Epipedobates boulengeri*, se sugiere aumentar el tiempo de los experimentos y hacer más repeticiones en el caso de que no todos los individuos adquirieran la postura deseada.

La temperatura y la humedad relativa son factores clave para medir las tasas de pérdida de agua por evapotranspiración, por lo que se sugiere que para futuros experimentos no solo se mida las tasas de desecación a temperatura ambiental, sino que también se varíe la temperatura y la humedad para poder tener una idea más clara del papel que juegan estos factores en la variación de la pérdida de agua de los anfibios, y de esta manera poder hacer predicciones más acertadas sobre cómo afectará la variación en el cambio climático a su ecología.

Finalmente se sugiere que, en el caso de que se comparen especies con distinto hábitat, se tome en cuenta el ciclo circadiano de las mismas. Ya que dependiendo de esto las ranas pueden presentar un índice de actividad distinta durante la fase de experimentación, lo cual podría llegar a afectar la toma de datos.

10.REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adolph, E. F. (1933). Exchanges of water in the frog. *Biological. Reviews.* 8, 224-240.
- Bellard, C., Bertelsmeier, C., Leadley, P., Thuiller, W. y Courchamp, F. (2012). Impacts of climate change on the future of biodiversity. *Ecology letters*, 15(4), 365-377.
- Bentley, P. J. y T, Yorio. (1979). Evaporative water loss in anuran amphibia: a comparative study. *Comparative Biochemistry and Physiology* 62A: 1005-1009.
- Blaustein, A. R., Walls, S. C., Bancroft, B. A., Lawler, J. J., Searle, C. L., y Gervasi, S. S. (2010). Direct and indirect effects of climate change on amphibian populations. *Diversity*, 2(2), 281-313.
- Blaylock, L. A., Ruibal, R. y Platt-Aloia, K. (1976). Skin structure and wiping behavior of phyllomedusine frogs. *Copeia* 1976, 283-295pough
- Butchart, S. H., Walpole, M., Collen, B., Van Strien, A., Scharlemann, J. P., Almond, R. E. y Carpenter, K. E. (2010). Global biodiversity: indicators of recent declines. *Science*, 1187512.
- Buttemer, W. A. (1990). Effect of temperature on evaporative water loss of the Australian tree frogs *Litoria caerulea* and *Litoria chloris*. *Physiological Zoology*, 63(5), 1043-1057.
- Buttemer, W. A. y Thomas, C. (2003). Influence of temperature on evaporative water loss and cutaneous resistance to water vapour diffusion in the orange-thighed frog (*Litoria xanthomera*). *Australian Journal of Zoology*, 51(2), 111-118.
- Buttemer, W. A., Van der Wielen, M., Dain, S., y Christy, M. (1996). Cutaneous properties of the Green and Golden Bell Frog *Litoria aurea*. *Australian Zoologist*, 30, 134-8.
- Carey, C., Cohen, N. y Rollins-Smith, L. (1999). Amphibian declines: an immunological perspective. *Developmental and Comparative Immunology* 23:459-472
- Christian, K. y Parry, D. (1997). Reduced rates of water loss and chemical properties of skin secretions of the frogs *Litoria caerulea* and *Cyclorana australis*. *Australian Journal of Zoology*, 45(1), 13-20.
- Cisneros-Heredia, D. F. y Yáñez-Muñoz, M. H. (2010). A new poison frog of the genus *Epipedobates* (Dendrobatoidea: Dendrobatidae) from the north-western Andes of Ecuador. *Avances en Ciencias e Ingenierías* 3: B83-B86.

Coloma, L. A., Ortiz, D. A., Frenkel, C. y Pazmiño-Armijos, G. (2018). *Epipedobates boulengeri* En: Ron, S. R., Merino-Viteri, A. y Ortiz, D. A. (Eds). Anfibios del Ecuador. Version 2019.0. Museo de Zoología, Pontificia Universidad Católica del Ecuador. <https://bioweb.bio/faunaweb/amphibiaweb/FichaEspecie/Epipedobates%20boulengeri>, acceso lunes, 28 de Enero de 2019

D'Amen, M. y Bombi, P. (2009). Global warming and biodiversity: Evidence of climate-linked amphibian declines in Italy. *Biological Conservation*, 142(12), 3060-3067.

de Sá, R. O. (2005). Crisis global de biodiversidad: importancia de la diversidad genética y la extinción de anfibios. *Agrociencia*, 9(1-2), 513-522.

Drewes, R. C., Hillman, S. S., Putnam, R. W. y Sokol, O. (1977). Water, nitrogen and ion balance in the African treefrog, *Chiromantis petersi* Boulenger (Anura: Rhacophoridae), with comments on the structure of the integument. *J. comp. Physiol.* 116, 257-267.

Faivovich, J., Haddad, C. F., García, P. C., Frost, D. R., Campbell, J. A. y Wheeler, W. C. (2005). Systematic review of the frog family Hylidae, with special reference to Hylinae: phylogenetic analysis and taxonomic revision. *Bulletin of the American Museum of Natural History* 294:1-240.

Gordon, R. E. (1952). A contribution to the life history and ecology of the plethodontid salamanders *Aneides aeneus* (Cope and Packard). *The American Midland Naturalist* 47, 666-701.

Grant, T., Frost, D. R., Caldwell, J. P., Gagliardo, R. W., Haddad, C. F. B., Kok, P., Means, D. B., Noonan, B. P., Schargel, E. y Wheeler, W. C. (2006). Phylogenetic systematics of dart-poison frogs and their relatives (Amphibia: Athesphatanura, Dendrobatidae). *Bulletin of the American Museum of Natural History* 299:262.

Hasegawa, M., Suzuki, Y., y Wada, S. (2005). Design and performance of a wet sponge model for amphibian thermal biology. *Current Herpetology*, 24, 27-32.

Heatwole, H., Torres, F., De Austin, S. B. y Heatwole, A. (1969). Studies on anuran water balance—I. Dynamics of evaporative water loss by the coqui, *Eleutherodactylus portoricensis*. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 28(1), 245-269.

Hooper, D. U., Adair, E. C., Cardinale, B. J., Byrnes, J. E., Hungate, B. A., Matulich, K. L. y O'Connor, M. I. (2012). A global synthesis reveals biodiversity loss as a major driver of ecosystem change. *Nature*, 486(7401), 105.

Huey R. B. y Stevenson R. D. (1979). Integrating thermal physiology and ecology of ectotherms: a discussion of approaches. *American Zoologist*. 19:357-366.

Hutchinson V. H. (1958) The distribution and ecology of the cave salamander, *Eurycea lucifuga*. *Ecological Monographs*. 28, 1-20

IUCN, Conservation International y NatureServe. (2018). Amphibians on the IUCN Red List. 29 de junio del 2018, de IUCN Red List Sitio web: <http://www.iucnredlist.org/initiatives/amphibians/analysis/red-list-status>

Kennedy, A. D. (1997). Bridging the gap between general circulation model (GCM) output and biological microenvironments. *International Journal of Biometeorology*, 40, 119-22

Littleford R. A., Keller W. F. y Phillips N. E. (1947). Studies on the vital limits of water loss in the Plethodont salamanders. *Ecology* 28, 440-447.

Loveridge, J. P. (1970). Observations on nitrogenous excretion and water relations of *Chirornantis xerampelina*. *Arnoldia* 5:1-6.

Maxim Integrated Products. (2010). OneWireViewer versión 3.15.50

McClanahan, L. L., y Shoemaker, V. H. (1987). Behavior and thermal relations of the arboreal frog *Phyllomedusa sauvagei*. *National Geographic Research* 3:11-21.

Mueses-Cisneros, J. J., Cepeda-Quilindo, B. y Moreno-Quintero, V. (2008). Una nueva especie de *Epipedobates* (Anura: Dendrobatidae) del suroccidente de Colombia. *Papéis Avulsos de Zoologia (São Paulo)*, 48(1), 1-10.

Navas, C. A. y Araujo, C. (2000). The use of agar models to study amphibian thermal ecology. *Journal of Herpetology*, 34(2): 330-334.

Oliveira, E. F., Feio, R. N. y da Matta, S. L. P. (2015). Aspectos reprodutivos de *Dendropsophus minutus* (Peters, 1872) no município de Viçosa, Minas Gerais. *Ceres*, 54(313).

Pough, F. H., Taigen, T. L., Stewart, M. M. y Brussard, P. F. (1983). Behavioral modification of evaporative water loss by a Puerto Rican frog. *Ecology*, 64(2): 244-252.

Preest, M. R., Brust, D. G. y M. L. Wygoda. (1992). Cutaneous water loss and the effects of temperature and hydration state on aerobic metabolism of canyon treefrogs, *Hyla arenicolor*. *Herpetologica* 48:210-219.

R Core Team (2018). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <http://www.R-project.org/>.

Ray, C. (1958). Vital limits and rates of desiccation in salamanders. *Ecology* 39, 75-83.

Rodríguez, L. O. y Duellman, W. E. (1994). Guide to the frogs of the Iquitos Region, Amazonian Perú. Asociación de Ecología y Conservación, Amazon Center for Environmental Education and Research and Natural History Museum, The University of Kansas. Lawrence, Kansas 22:1-80.

Rodríguez, L. O. y Duellman, W. E. (1994). Guide to the frogs of the Iquitos Region, Amazonian Perú. Asociación de Ecología y Conservación, Amazon Center for Environmental Education and Research and Natural History Museum, The University of Kansas. Lawrence, Kansas 22:1-80.

Rome L.C., Stevens E.D. y John-Alder H.B. (1992). The influence of temperature and thermal acclimation on physiological function. Pp. 183-205 in Burggren W.W., ed. *Environmental Physiology of the Amphibians*. University of Chicago Press, Chicago.

Ron, S. R. y Read, M. (2018). *Dendropsophus minutus* En: Ron, S. R., Merino-Viteri, A. y Ortiz, D. A. (Eds). Anfibios del Ecuador. Version 2019.0. Museo de Zoología, Pontificia Universidad Católica del Ecuador. <https://bioweb.bio/faunaweb/amphibiaweb/FichaEspecie/Dendropsophus%20minutus>, acceso lunes, 28 de Enero de 2019

Ron, S. R., Yáñez-Muñoz, M. H., Merino-Viteri, A. y Ortiz, D. A. (2018). Anfibios del Ecuador. Versión 2018.0. Museo de Zoología, Pontificia Universidad Católica del Ecuador. < <https://bioweb.bio/faunaweb/amphibiaweb>>, fecha de acceso 14 de julio, 2018.

Rowley, J. J. L. y Alford, R. A. (2007). Movement patterns and habitat use of rainforest stream frogs in northern Queensland, Australia: implications for extinction vulnerability. *Wildlife Research*, 34, 371-8.

Rowley, J. y Alford, R. A. (2009). Models in field studies of temperature and moisture. En: Dood, K. (Ed.), *Amphibian Ecology and Conservation: A handbook of Techniques*. (pp. 389-393). ISBN-13: 978-0199541195.

Schwarzkopf, L. y Alford, R. A. (1996). Desiccation and shelter-site use in a tropical amphibian: comparing toads with physical models. *Functional Ecology* 10:193-200.

Seebacher, F. y Alford, R. A. (2002). Shelter microhabitats determine body temperature and dehydration rates of a terrestrial amphibian (*Bufo marinus*). *Journal of Herpetology*, 36, 69-75.

Shoemaker, V. H. D. Balding, R. Ruibal. y L. L. Mcclanahan. (1972). Uricotelism and low evaporative water loss in a South American treefrog. *Science*, 175:1018-1020.

Shoemaker, V. H. y Mcclanahan, L. L. (1975). Evaporative water loss, nitrogen excretion and osmoregulation in phyllomedusine frogs. *Journal of Comparative Physiology B: Biochemical, Systemic, and Environmental Physiology*, 100(4): 331-345.

Shoemaker, V. H. y Nagy, K. A. (1977). Osmoregulation in amphibians and reptiles. *Annual Review of Physiology*, 39, 449-71.

Shoemaker, V. H., Mcclanahan, L. L., Withers, P. C., Hillman, S. S. y Drewes. R. C. (1987). Thermoregulatory response to heat in the waterproof frogs *Phyllomedusa* and *Chiromantis*. *Environmental Physiology of the Amphibians*. 60:365-372.

Shoemaker, V. S. S., Hillman, S. D., Hillyard, D. C., Jackson, L. L., McClanahan, P.C., Withers, y M. L. Wygoda. (1992). Exchange of water, ions and respiratory gases in terrestrial amphibians. Pp. 125-150 in M.E. Feder, ed. *Environmental Physiology of the Amphibians*. University of Chicago Press, Chicago.

Spotila, J. R. y Berman, E. N. (1976). Determination of skin resistance and the role of the skin in controlling water loss in amphibians and reptiles. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, 55(4), 407-411.

Thomas, C. D., Cameron, A., Green, R. E., Bakkenes, M., Beaumont, L. J., Collingham, Y. C., Erasmus, B. F. N., de Siquera, M. F., Grainger, A., Hannah, L. (2004). Riesgo de extinción por el cambio climático. *Nature*, 427, 145-8.

Thorson, T. B. (1955). The relationship of water economy to terrestriality in amphibians. *Ecology* 36, 100-116.

Thorson, T. B. y Svihla, A. (1943). Correlation of the habitats of amphibians with their ability to survive the loss of body water. *Ecology* 24, 374-381.

Tracy, C. R., Betts, G., Tracy, C. R. y Christian, K. A. (2007). Plaster models to measure operative temperatures and evaporative water loss of amphibians. *Journal of Herpetology*. 41: 597-603.

Tracy, C. R., Christian, K. A. y Tracy, C. R. (2010). Not just small, wet, and cold: effects of body size and skin resistance on thermoregulation and arboreality of frogs. *Ecology*, 91(5), 1477-1484.

Tracy, C. R. y Christian, K. A. (2005). Preferred temperature correlates with evaporative water loss in hylid frogs from northern Australia. *Physiological and Biochemical Zoology*, 78(5), 839-846.

Wake, D. B. y Vredenburg, V.T. (2008). Are we in the midst of the sixth mass extinction? A view from the world of amphibians. *Proceeding of the National Academy of Science* 105, 11466-11473.

Withers P.C., S.S. Hillman, y R.C. Drewes. (1984). Evaporative water loss and nitrogen excretion in sharp-nosed reed frogs (*Hyperolius nasutus*: Anura, Hyperoliidae). *Journal of Experimental Biology* 97: 335-343.

Withers, P. C., Hillman, S. S., Drewes, R. C. y Sokol, O. M. (1982). Water loss and nitrogen excretion in sharp-nosed frogs (*Hyperolius nasutus*: Anura, Hyperoliidae). *Journal of Experimental Biology*. 97:335-343.

Woodhams, D. C., Alford, R. A. y Marantelli, G. (2003). Emerging disease of amphibians cured by elevated body temperature. *Diseases of aquatic organisms*, 55(1), 65-67.

Wygoda M.L. y A.A. Williams. (1991). Body temperature in free-ranging green tree frogs (*Hyla cinerea*): a comparison with “typical” frogs. *Herpetologica* 47:328-335.

Wygoda, M. L. (1984). Low cutaneous evaporative water loss in arboreal frogs. *Physiological Zoology*, 57(3): 329-337.

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

11.FIGURAS

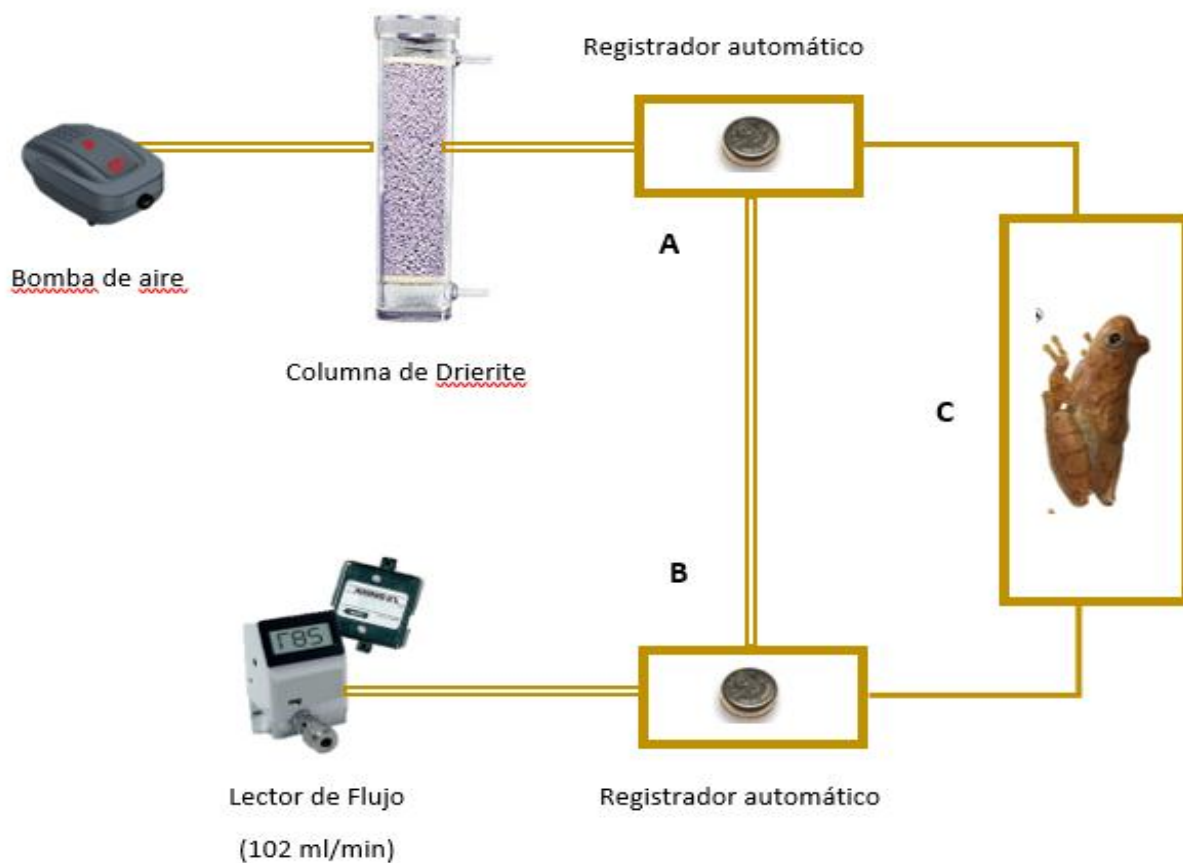


Figura 1. Sistema de desecación empleado para los experimentos: (A) y (B) representan las cámaras en donde se colocaron los registradores automáticos para la humedad y la temperatura (A de entrada y B de salida); (C) representa la cámara en la cual se colocó tanto a las ranas como a los modelos de agar para la experimentación.

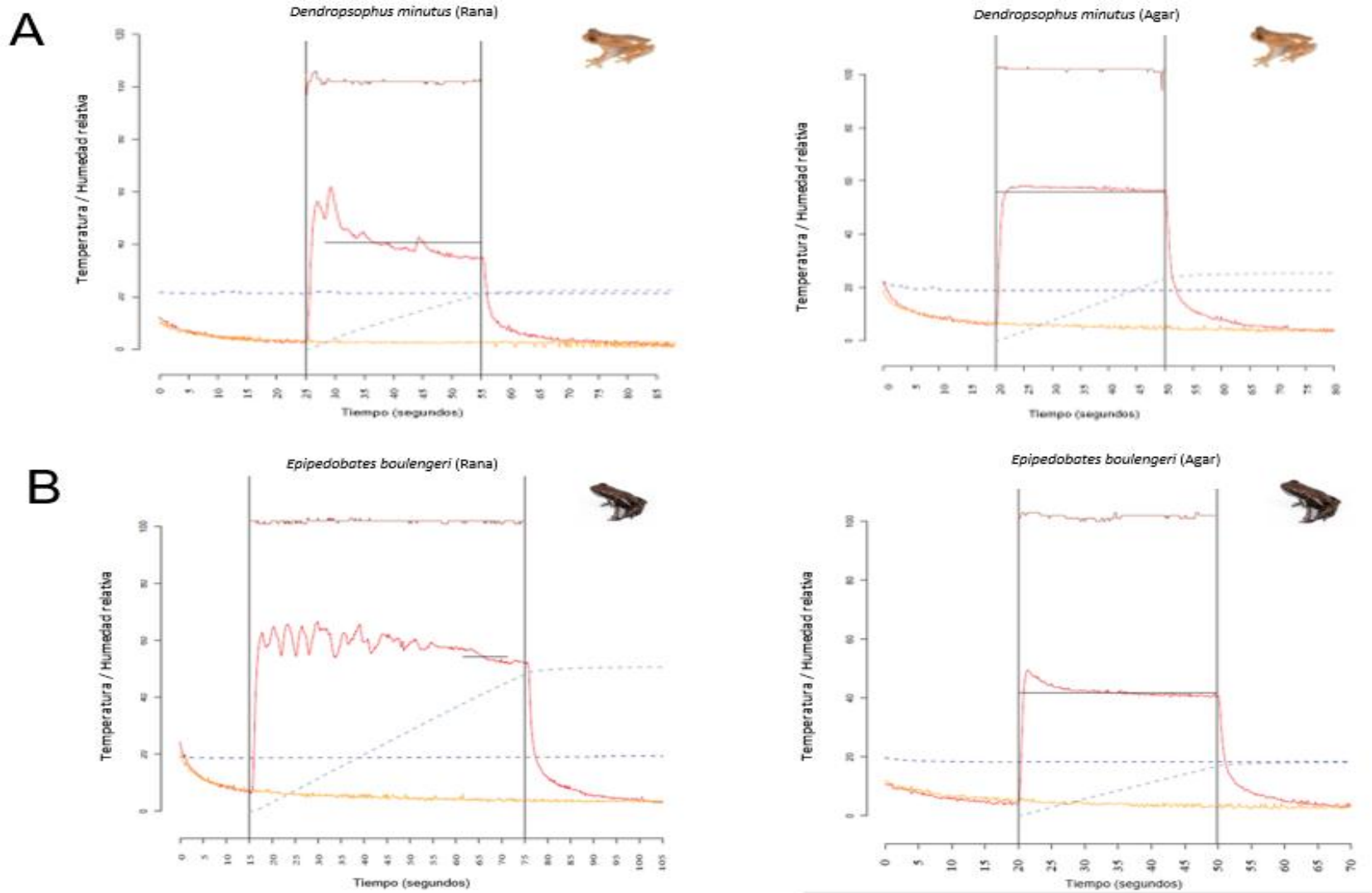


Figura 2. Fluctuación de la humedad en los experimentos. Se registra la fluctuación de la humedad para las ranas (izquierda) y sus modelos de agar (derecha). (A) Se muestra la fluctuación para *D. minutus*; (B) Se muestra la fluctuación para *E. boulengerii*. El eje transversal representa la temperatura y la humedad relativa mientras que el eje horizontal muestra la duración del experimento. La línea roja representa la variación de humedad a lo largo del experimento; los picos de fluctuación de humedad observados corresponden a los movimientos de la rana dentro de la cámara. La línea negra ubicada sobre la fluctuación de humedad, indica el periodo más largo durante el cual la rana asumió la WCP.



Figura 3. Elaboración de moldes y modelos de agar. Moldes y modelos de agar: (A) Realización del molde en alginato con el individuo vivo (*E. boulengeri*); (B) Moldes de las ranas terminados; (C) Se vierte el agar en los moldes de tres diferentes tamaños; (D) Modelos de agar terminados en tres distintos tamaños para *E. boulengeri* (pequeño, mediano y grande).

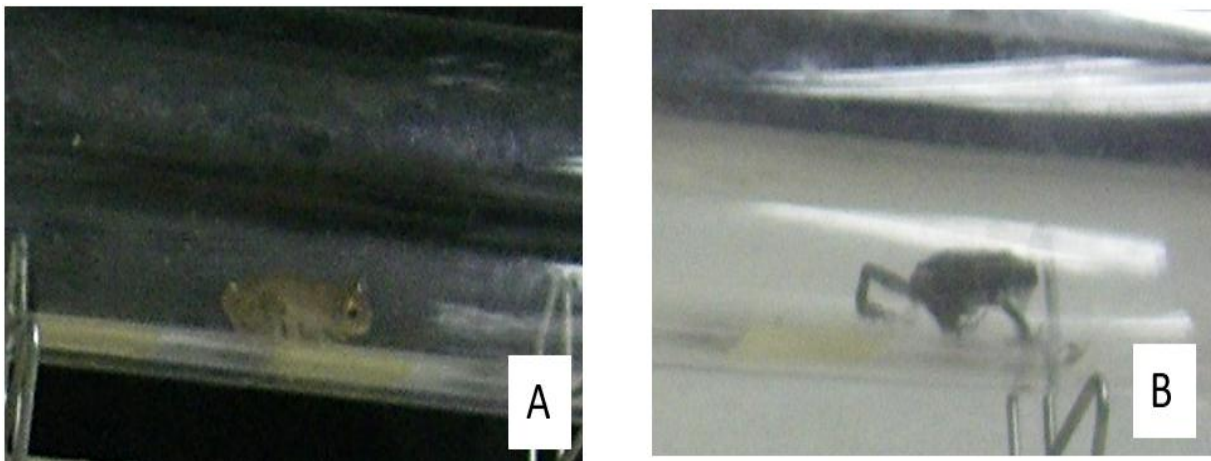


Figura 4. Postura de conservación de agua. Comportamiento que adquieren las ranas para evitar la pérdida de agua: (A) *Dendropsophus minutus*; (B) *Epipedobates boulengeri*, en este último se puede observar como el animal no apoya el cuerpo por completo a la cámara y la manera en que sus extremidades se encuentran alejadas de su cuerpo.

12. TABLAS

Tabla 1. Medidas corporales de las ranas de *Dendropsophus minutus*, *Epipedobates boulengeri* y sus modelos de agar.

	Masa (g)	SVL (mm)	W _h (mm)	W _a (mm)	H _a (mm)
<i>Dendropsophus minutus</i>					
Rana	0,59 ± 0,17	19,28 ± 1,70	6,91 ± 0,51	8,23 ± 1,41	5,46 ± 0,89
Agar	0,59 ± 0,17	19,27 ± 1,72	6,99 ± 0,55	8,25 ± 1,37	5,41 ± 0,88
<i>Epipedobates boulengeri</i>					
Rana	0,52 ± 0,08	18 ± 1,22	5,70 ± 0,39	7,50 ± 0,74	5,40 ± 0,69
Agar	0,52 ± 0,08	17,91 ± 1,22	5,84 ± 0,41	7,58 ± 0,86	5,42 ± 0,62

Medias y la desviación estándar (±) para las medidas de masa, longitud rostro-cloacal (SVL); ancho de la cabeza (W_h); ancho del abdomen (W_a) y profundidad del abdomen (H_a) para las ranas y sus modelos de agar.

Tabla 2. Prueba de Levene para las medidas y las tasas de pérdida de agua de las ranas de *Dendropsophus minutus* y *Epipedobates boulengeri* comparadas con sus modelos de agar.

		<i>D. minutus</i> - <i>D. minutus</i> Agar	<i>E. boulengeri</i> - <i>E. boulengeri</i> Agar
Medidas	SVL (mm)	p = 0,953	p = 0,999
	W _h (mm)	p = 0,821	p = 0,944
	W _a (mm)	p = 0,992	p = 0,364
	H _a (mm)	p = 0,944	p = 0,503
Tasas de EWL	EWL (g h ⁻¹)	p = 0,510	p = 0,731
	EWL _{SA} (g cm ⁻² s ⁻¹)	p = 0,116	p = 0,754
	EWL _{WCP} (g cm ⁻² s ⁻¹)	p = 0,106	p = 0,676

Longitud rostro-cloacal (SVL); ancho de la cabeza (W_h); ancho del abdomen (W_a) y profundidad del abdomen (H_a); y para las tasas de pérdida de agua bruta (EWL); tasa de pérdida de agua ajustada por la superficie expuesta (EWL_{SA}) y tasa de pérdida de agua en postura de conservación (EWL_{WCP}), tanto para *D. minutus* como para *E. boulengeri* comparándolos con sus respectivos modelos de agar.

Tabla 3. Prueba de Shaphiro-Wilk para las medidas y las tasas de pérdida de agua tanto de las ranas de *Dendropsophus minutus* y *Epipedobates boulengeri*, como de sus modelos de agar.

	<i>D. minutus</i>		<i>E. boulengeri</i>		
	Rana	Modelo de agar	Rana	Modelo de agar	
Medidas	SVL (mm)	p = 0,244	p = 0,266	p = 0,724	p = 0,481
	W_h (mm)	p = 0,840	p = 0,348	p = 0,752	p = 0,887
	W_a (mm)	p = 0,651	p = 0,797	p = 0,670	p = 0,903
	H_a (mm)	p = 0,271	p = 0,457	p = 0,079	p = 0,033
Tasas de EWL	EWL (g h⁻¹)	p = 0,050	p = 0,008	p = 0,003	p = 0,082
	EWL_{SA} (g cm⁻²s⁻¹)	p = 0,256	p = 0,024	p = 0,001	p = 0,017
	EWL_{WCP} (g cm⁻²s⁻¹)	p = 0,010	p = 0,458	p = 0,318	p = 0,047

Longitud rostro-cloacal (SVL); ancho de la cabeza (W_h); ancho del abdomen (W_a) y profundidad del abdomen (H_a); y para las tasas de pérdida de agua bruta (EWL); tasa de pérdida de agua ajustada al modelo de Buttemer y Thomas (2003) (EWL_{SA}) y tasa de pérdida de agua en postura de conservación (EWL_{WCP}), para *D. minutus*, *E. boulengeri* y para sus respectivos modelos de agar.

Tabla 4. Prueba U de Mann-Whitney para las medidas de las ranas de *Dendropsophus minutus*, *Epipedobates boulengeri* y de sus modelos de agar.

	<i>D. minutus</i> - <i>D. minutus</i> Agar	<i>E. boulengeri</i> - <i>E. boulengeri</i> Agar	<i>D. minutus</i> - <i>E. boulengeri</i>
SVL (mm)	p = 0,950	p = 0,820	p = 0,038
W_h (mm)	p = 0,619	p = 0,351	p < 0,01
W_a (mm)	p = 0,950	p = 0,678	p = 0,056
H_a (mm)	p = 0,740	p = 0,934	p = 0,772

Medianas de los individuos vivos comparados con sus modelos de agar y entre las dos especies, para las medidas de longitud rostro-cloacal (SVL); ancho de la cabeza (W_h); ancho del abdomen (W_a) y profundidad del abdomen (H_a).

Tabla 5. Prueba de Wilcoxon para las tasas de pérdida de agua, resistencia cutánea y de la capa frontera de los individuos de *Dendropsophus minutus*, *Epipedobates boulengeri* y de sus respectivos modelos de agar.

		<i>D. minutus</i> – <i>E. Boulengeri</i>	<i>D. minutus</i> Agar – <i>E. boulengeri</i> Agar	<i>D. minutus</i> - <i>D. minutus</i> Agar	<i>E. boulengeri</i> – <i>E. boulengeri</i> Agar
Tasas de EWL	EWL (g h ⁻¹)	p = 0,691 ; Z = -0,397			
	EWL_{SA} (g cm ⁻² s ⁻¹)	p = 0,460 ; Z = -0,738			
	EWL_{WCP} (g cm ⁻² s ⁻¹)	p = 0,109 ; Z = -1,601			
	EWL_{WCP} - EWL_{SA} (g cm ⁻² s ⁻¹)			p = 0,001 ; Z = -3,180	p = 0,158 ; Z = -1,413
Resistencias	R_C (s cm ⁻¹)	p = 0,003 ; Z = -2,934			
	R_F (s cm ⁻¹)		p = 0,001 ; Z = -3,409		

Tasas de pérdida de agua bruta (EWL); tasa de pérdida de agua ajustada al modelo de Buttemer y Thomas (2003) (EWL_{SA}) y tasa de pérdida de agua en postura de conservación (EWL_{WCP}) para los individuos de *D. minutus* y *E. Boulengeri*; también se observa el valor p y el valor Z de la EWL_{WCP} de las ranas de *D. minutus* y *E. boulengeri* comparada con la EWL_{SA} de sus modelos de agar. Finalmente se observa el valor p y el valor Z de la resistencia cutánea (R_C) de los modelos vivos de *D. minutus* y *E. boulengeri* y la resistencia de la capa borde (R_b) para sus respectivos modelos de agar.

Tabla 6. Tasas de pérdida de agua y resistencias para los individuos de *Dendropsophus minutus* y sus modelos de agar.

Código	Rana				Código	Agar			
	EWL (g h ⁻¹)	EWL _{SA} (g cm ⁻² s ⁻¹)	R _C (s cm ⁻¹)	EWL _{wcp} (g cm ⁻² s ⁻¹)		EWL (g h ⁻¹)	EWL _{SA} (g cm ⁻² s ⁻¹)	R _b (s cm ⁻¹)	EWL _{wcp} (g cm ⁻² s ⁻¹)
DenMinu2	0,07	3,55E-06	2,33	2,23E-06	DenMinuAgar1	0,07	3,67E-06	1,55	2,49E-06
DenMinu4	0,08	4,99E-06	1,01	3,03E-06	DenMinuAgar2	0,07	4,32E-06	1,71	2,58E-06
DenMinu5	0,11	5,13E-06	0,44	2,81E-06	DenMinuAgar3	0,09	4,00E-06	1,7	2,34E-06
DenMinu6	0,1	5,17E-06	NA	NA	DenMinuAgar4	0,07	3,97E-06	1,48	2,50E-06
DenMinu10	0,07	3,74E-06	3,34	2,16E-06	DenMinuAgar5	0,11	5,68E-06	1,28	2,48E-06
DenMinu11	0,07	4,40E-06	1,19	2,88E-06	DenMinuAgar6	0,08	4,66E-06	1,57	2,92E-06
DenMinu13	0,09	4,94E-06	1,08	3,03E-06	DenMinuAgar7	0,07	3,94E-06	1,79	2,57E-06
DenMinu14	0,1	4,47E-06	0,64	2,73E-06	DenMinuAgar8	0,08	3,34E-06	2,01	2,16E-06
DenMinu16	0,08	3,64E-06	1,69	2,34E-06	DenMinuAgar9	0,08	3,64E-06	1,67	2,25E-06
DenMinu17	0,06	3,80E-06	1,01	2,96E-06	DenMinuAgar10	0,06	3,68E-06	1,81	2,59E-06
DenMinu18	0,07	3,96E-06	1,49	2,61E-06	DenMinuAgar11	0,07	3,96E-06	2,06	2,56E-06
DenMinu19	0,07	5,36E-06	-0,37	4,32E-06	DendoMinuAgar12	0,06	4,41E-06	1,86	2,91E-06
DenMinu20	0,07	5,81E-06	NA	NA	DendoMinuAgar13	0,06	4,42E-06	2,05	2,83E-06
DenMinu21	0,08	4,15E-06	1,42	2,63E-06	DendoMinuAgar14	0,07	3,95E-06	1,7	2,67E-06
DenMinu22	0,06	3,91E-06	1,58	2,70E-06	DendoMinuAgar15	0,06	3,79E-06	1,98	2,58E-06
Media	0,08	4,47E-06	1,30	2,80E-06		0,07	4,10E-06	1,75	2,56E-06
Desviación estándar	0,02	7,18E-07	0,90	5,38E-07		0,01	5,61E-07	0,22	2,17E-07

Valores de las tasas de pérdida de agua bruta (EWL); tasa de pérdida de agua ajustada (EWL_{SA}); tasa de pérdida de agua en postura de conservación (EWL_{wcp}), resistencia cutánea (R_C) y la resistencia de la capa borde (R_b). NA es usado para los individuos que no asumieron la postura de conservación de agua.

Tabla 7. Tasas de pérdida de agua y resistencias para los individuos de *Epipedobates boulengeri* y sus modelos de agar.

Código	Rana				Código	Agar			
	EWL (g h ⁻¹)	EWL _{SA} (g cm ⁻² s ⁻¹)	R _C (s cm ⁻¹)	EWL _{WCP} (g cm ⁻² s ⁻¹)		EWL (g h ⁻¹)	EWL _{SA} (g cm ⁻² s ⁻¹)	R _b (s cm ⁻¹)	EWL _{WCP} (g cm ⁻² s ⁻¹)
EpiBoul1	0,11	6,16E-06	-1,54	3,47E-06	EpiBoulAgar1	0,06	3,20E-06	2,57	1,81E-06
EpiBoul2	0,1	6,53E-06	NA	NA	EpiBoulAgar2	0,05	3,26E-06	2,73	1,91E-06
EpiBoul3	0,07	4,00E-06	-0,57	2,69E-06	EpiBoulAgar3	0,06	3,04E-06	2,87	1,63E-06
EpiBoul4	0,07	4,67E-06	NA	NA	EpiBoulAgar4	0,06	4,06E-06	2,04	2,40E-06
EpiBoul5	0,08	4,52E-06	-0,97	3,09E-06	EpiBoulAgar5	0,06	3,24E-06	2,55	1,74E-06
EpiBoul6	0,08	4,35E-06	NA	NA	EpiBoulAgar6	0,05	2,87E-06	2,86	1,69E-06
EpiBoul7	0,07	4,21E-06	-0,74	3,00E-06	EpiBoulAgar7	0,05	2,98E-06	3,08	1,65E-06
EpiBoul8	0,08	4,55E-06	-0,62	3,04E-06	EpiBoulAgar8	0,07	3,82E-06	2,31	1,58E-06
EpiBoul9	0,08	4,94E-06	-0,90	3,47E-06	EpiBoulAgar9	0,06	3,85E-06	2,27	2,02E-06
EpiBoul10	0,07	4,45E-06	-0,21	2,84E-06	EpiBoulAgar10	0,04	2,93E-06	3,17	1,81E-06
EpiBoul11	0,08	4,21E-06	-0,72	2,89E-06	EpiBoulAgar11	0,07	3,98E-06	2,24	1,66E-06
EpiBoul12	0,07	4,82E-06	-0,76	3,28E-06	EpiBoulAgar12	0,05	3,09E-06	2,98	1,83E-06
EpiBoul13	0,07	4,41E-06	-0,35	2,94E-06	EpiBoulAgar13	0,05	2,91E-06	3,03	1,87E-06
EpiBoul14	0,06	4,23E-06	-0,41	2,89E-06	EpiBoulAgar14	0,07	4,49E-06	2,07	1,80E-06
EpiBoul15	0,07	4,34E-06	-0,83	3,07E-06	EpiBoulAgar15	0,04	2,88E-06	2,95	2,19E-06
Media	0,08	4,69E-06	-0,72	3,06E-06		0,06	3,37E-06	2,65	1,84E-06
Desviación estándar	0,01	7,17E-07	0,34	2,43E-07		0,01	5,23E-07	0,38	2,22E-07

Valores de las tasas de pérdida de agua bruta (EWL); tasa de pérdida de agua ajustada (EWL_{SA}); tasa de pérdida de agua en postura de conservación (EWL_{WCP}), resistencia cutánea (R_C) y la resistencia de la capa borde (R_b). NA es usado para los individuos que no asumieron la postura de conservación de agua.

13. ANEXOS

Prueba U de Mann-Whitney

D. minutus –*D. minutus* agar

Prueba de Mann-Whitney				
Rangos				
	SVL	N	Rango promedio	Suma de rangos
SVL	DENMINU	15	15,60	234,00
	DENMINUAGAR	15	15,40	231,00
	Total	30		

Estadísticos de prueba ^a	
	SVL
U de Mann-Whitney	111,000
W de Wilcoxon	231,000
Z	-.062
Sig. asintótica (bilateral)	.950
Significación exacta [2* (sig. unilateral)]	.967 ^b

a. Variable de agrupación: SVL
b. No corregido para empates.

Anexo 1. Resultados de la prueba U de Mann-Whitney para las medidas de la longitud rostro-cloacal (SVL), de las ranas de *D. minutus* comparadas con sus modelos de agar.

Prueba de Mann-Whitney				
Rangos				
	ANCHO DE LA CABEZA	N	Rango promedio	Suma de rangos
ANCHO DE LA CABEZA	DENMINU	15	14,70	220,50
	DENMINUAGAR	15	16,30	244,50
	Total	30		

Estadísticos de prueba ^a	
	ANCHO DE LA CABEZA
U de Mann-Whitney	100,500
W de Wilcoxon	220,500
Z	-.498
Sig. asintótica (bilateral)	.619
Significación exacta [2* (sig. unilateral)]	.624 ^b

a. Variable de agrupación: ANCHO DE LA CABEZA
b. No corregido para empates.

Anexo 2. Resultados de la prueba U de Mann-Whitney para las medidas del ancho de la cabeza (W_h), de las ranas de *D. minutus* comparadas con sus modelos de agar.

Prueba de Mann-Whitney				
Rangos				
	ANCHO DEL ABDOMEN	N	Rango promedio	Suma de rangos
ANCHO DEL ABDOMEN	DENMINU	15	15,40	231,00
	DENMINUAGAR	15	15,60	234,00
	Total	30		

Estadísticos de prueba^a	
	ANCHO DEL ABDOMEN
U de Mann-Whitney	111,000
W de Wilcoxon	231,000
Z	-,062
Sig. asintótica (bilateral)	,950
Significación exacta [2* (sig. unilateral)]	,967 ^b

a. Variable de agrupación: ANCHO DEL ABDOMEN

b. No corregido para empates.

Anexo 3. Resultados de la prueba U de Mann-Whitney para las medidas del ancho del abdomen (W_a), de las ranas de *D. minutus* comparadas con sus modelos de agar.

Prueba de Mann-Whitney				
Rangos				
	PROFUNDIDAD DEL ABDOMEN	N	Rango promedio	Suma de rangos
PROFUNDIDAD DEL ABDOMEN	DENMINU	15	16,03	240,50
	DENMINUAGAR	15	14,97	224,50
	Total	30		

Estadísticos de prueba^a	
	PROFUNDIDAD DEL ABDOMEN
U de Mann-Whitney	104,500
W de Wilcoxon	224,500
Z	-,332
Sig. asintótica (bilateral)	,740
Significación exacta [2* (sig. unilateral)]	,744 ^b

a. Variable de agrupación: PROFUNDIDAD DEL ABDOMEN

b. No corregido para empates.

Anexo 4. Resultados de la prueba U de Mann-Whitney para las medidas de la profundidad del abdomen (H_a), de las ranas de *D. minutus* comparadas con sus modelos de agar.

E. boulengeri – *E. boulengeri* agar

Prueba de Mann-Whitney

Rangos

SVL	N	Rango promedio	Suma de rangos
SVL EPIBOUL	15	15,87	238,00
EPIBOULAGAR	15	15,13	227,00
Total	30		

Estadísticos de prueba^a

	SVL
U de Mann-Whitney	107,000
W de Wilcoxon	227,000
Z	-.228
Sig. asintótica (bilateral)	,820
Significación exacta [2* (sig. unilateral)]	,838 ^b

a. Variable de agrupación: SVL
b. No corregido para empates.

Anexo 5. Resultados de la prueba U de Mann-Whitney para las medidas de la longitud rostro-cloacal (SVL), de las ranas de *E. boulengeri* comparadas con sus modelos de agar.

Prueba de Mann-Whitney

Rangos

ANCHO DE LA CABEZA	N	Rango promedio	Suma de rangos
ANCHO DE LA CABEZA EPIBOUL	15	14,00	210,00
EPIBOULAGAR	15	17,00	255,00
Total	30		

Estadísticos de prueba^a

	ANCHO DE LA CABEZA
U de Mann-Whitney	90,000
W de Wilcoxon	210,000
Z	-.933
Sig. asintótica (bilateral)	,351
Significación exacta [2* (sig. unilateral)]	,367 ^b

a. Variable de agrupación: ANCHO DE LA CABEZA
b. No corregido para empates.

Anexo 6. Resultados de la prueba U de Mann-Whitney para las medidas del ancho de la cabeza (W_h), de las ranas de *E. boulengeri* comparadas con sus modelos de agar.

Prueba de Mann-Whitney

Rangos

ANCHO DEL ABDOMEN		N	Rango promedio	Suma de rangos
ANCHO DEL ABDOMEN	EPIBOUL	15	14,83	222,50
	EPIBOULAGAR	15	16,17	242,50
	Total	30		

Estadísticos de prueba^a

	ANCHO DEL ABDOMEN
U de Mann-Whitney	102,500
W de Wilcoxon	222,500
Z	-,415
Sig. asintótica (bilateral)	,674
Significación exacta [2* (sig. unilateral)]	,683 ^b

a. Variable de agrupación: ANCHO DEL ABDOMEN

b. No corregido para empates.

Anexo 7. Resultados de la prueba U de Mann-Whitney para las medidas del ancho del abdomen (W_a), de las ranas de *E. boulengeri* comparadas con sus modelos de agar.

Prueba de Mann-Whitney

Rangos

PROFUNDIDAD DEL ABDOMEN		N	Rango promedio	Suma de rangos
PROFUNDIDAD DEL ABDOMEN	EPIBOUL	15	15,63	234,50
	EPIBOULAGAR	15	15,37	230,50
	Total	30		

Estadísticos de prueba^a

	PROFUNDIDAD DEL ABDOMEN
U de Mann-Whitney	110,500
W de Wilcoxon	230,500
Z	-,083
Sig. asintótica (bilateral)	,934
Significación exacta [2* (sig. unilateral)]	,935 ^b

a. Variable de agrupación: PROFUNDIDAD DEL ABDOMEN

b. No corregido para empates.

Anexo 8. Resultados de la prueba U de Mann-Whitney para las medidas de la profundidad del abdomen (H_a), de las ranas de *E. boulengeri* comparadas con sus modelos de agar.

Prueba de Levene

D. minutus – *D. minutus* agar

→ **Unidireccional**

Prueba de homogeneidad de varianzas

SVL

Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
,004	1	28	,953

ANOVA

SVL

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	,000	1	,000	,000	,992
Dentro de grupos	82,011	28	2,929		
Total	82,012	29			

Anexo 9. Resultados de la prueba de Levene para la homogeneidad de varianzas de la longitud rostro-cloacal (SVL) de las ranas de *D. minutus* comparadas con sus modelos de agar. El valor p igual a 0,953 nos indica que los datos son homogéneos.

→ **Unidireccional**

Prueba de homogeneidad de varianzas

ANCHO DE LA CABEZA

Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
,052	1	28	,821

ANOVA

ANCHO DE LA CABEZA

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	,060	1	,060	,214	,648
Dentro de grupos	7,847	28	,280		
Total	7,907	29			

Anexo 10 Resultados de la prueba de la prueba de Levene para la homogeneidad de varianzas del ancho de la cabeza (W_h) de las ranas de *D. minutus* comparadas con sus modelos de agar.

→ Unidireccional

Prueba de homogeneidad de varianzas

ANCHO DEL ABDOMEN

Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
,000	1	28	,992

ANOVA

ANCHO DEL ABDOMEN

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	,003	1	,003	,001	,970
Dentro de grupos	53,955	28	1,927		
Total	53,958	29			

Anexo 11. Resultados de la prueba de la prueba de Levene para la homogeneidad de varianzas del ancho del abdomen (W_a) de las ranas de *D. minutus* comparadas con sus modelos de agar.

→ Unidireccional

Prueba de homogeneidad de varianzas

PROFUNDIDAD DEL ABDOMEN

Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
,005	1	28	,944

ANOVA

PROFUNDIDAD DEL ABDOMEN

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	,017	1	,017	,022	,884
Dentro de grupos	21,806	28	,779		
Total	21,823	29			

Anexo 12. Resultados de la prueba de Levene para la homogeneidad de varianzas de la profundidad del abdomen (H_a) de las ranas de *D. minutus* comparadas con sus modelos de agar.

E. boulengeri – *E. boulengeri* agar

→ **Unidireccional**

Prueba de homogeneidad de varianzas

SVL

Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
,000	1	28	,999

ANOVA

SVL

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	,062	1	,062	,041	,840
Dentro de grupos	41,823	28	1,494		
Total	41,884	29			

Anexo 13. Resultados de la prueba de Levene para la homogeneidad de varianzas de la longitud rostro-cloacal (SVL) de las ranas de *E. boulengeri* comparadas con sus modelos de agar.

→ **Unidireccional**

Prueba de homogeneidad de varianzas

ANCHO DE LA CABEZA

Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
,005	1	28	,944

ANOVA

ANCHO DE LA CABEZA

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	,150	1	,150	,914	,347
Dentro de grupos	4,590	28	,164		
Total	4,740	29			

Anexo 14. Resultados de la prueba de Levene para la homogeneidad de varianzas del ancho de la cabeza (W_h) de las ranas de *E. boulengeri* comparadas con sus modelos de agar.

→ **Unidireccional**

Prueba de homogeneidad de varianzas

ANCHO DEL ABDOMEN

Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
,851	1	28	,364

ANOVA

ANCHO DEL ABDOMEN

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	,051	1	,051	,080	,780
Dentro de grupos	18,001	28	,643		
Total	18,052	29			

Anexo 9. Resultados de la prueba de Levene para la homogeneidad de varianzas del ancho del abdomen (W_a) de las ranas de *E. boulengeri* comparadas con sus modelos de agar.

→ **Unidireccional**

Prueba de homogeneidad de varianzas

PROFUNDIDAD DEL ABDOMEN

Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
,460	1	28	,503

ANOVA

PROFUNDIDAD DEL ABDOMEN

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	,003	1	,003	,007	,934
Dentro de grupos	12,124	28	,433		
Total	12,127	29			

Anexo 10. Resultados de la prueba de Levene para la homogeneidad de varianzas de la profundidad del abdomen (H_a) de las ranas de *E. boulengeri* comparadas con sus modelos de agar.

Prueba de Shapiro - Wilk

Pruebas de normalidad							
SVL		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
SVL	DENMINU	,169	15	,200 [*]	,927	15	,244
	DENMINUAGAR	,151	15	,200 [*]	,929	15	,266
	EPIBOUL	,155	15	,200 [*]	,962	15	,724
	EPIBOULAGAR	,134	15	,200 [*]	,947	15	,481

*. Esto es un límite inferior de la significación verdadera.
a. Corrección de significación de Lilliefors

SVL

Anexo 11. Resultados de la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk de la longitud rostro-cloacal (SVL), para los individuos de agar de *D. minutus* ($p = 0,266$); para las ranas de *D. minutus* ($p = 0,244$); para los individuos de agar de *E. boulengeri* ($p = 0,481$) y para las ranas de *E. boulengeri* ($p = 0,724$).

Pruebas de normalidad							
ANCHO DE LA CABEZA		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
ANCHO DE LA CABEZA	DENMINU	,106	15	,200 [*]	,969	15	,840
	DENMINUAGAR	,156	15	,200 [*]	,937	15	,348
	EPIBOUL	,124	15	,200 [*]	,963	15	,752
	EPIBOULAGAR	,131	15	,200 [*]	,972	15	,887

*. Esto es un límite inferior de la significación verdadera.
a. Corrección de significación de Lilliefors

ANCHO DE LA CABEZA

Anexo 12. Resultados de la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk del ancho de la cabeza (W_h), para los individuos de agar de *D. minutus* ($p = 0,348$); para las ranas de *D. minutus* ($p = 0,840$); para los individuos de agar de *E. boulengeri* ($p = 0,887$) y para las ranas de *E. boulengeri* ($p = 0,752$).

Pruebas de normalidad							
ANCHO DEL ABDOMEN		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
ANCHO DEL ABDOMEN	DENMINU	,146	15	,200 [*]	,958	15	,651
	DENMINUAGAR	,118	15	,200 [*]	,966	15	,797
	EPIBOUL	,131	15	,200 [*]	,959	15	,670
	EPIBOULAGAR	,113	15	,200 [*]	,973	15	,903

*. Esto es un límite inferior de la significación verdadera.

a. Corrección de significación de Lilliefors

ANCHO DEL ABDOMEN

Anexo 13. Resultados de la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk del ancho del abdomen (W_a), para los individuos de agar de *D. minutus* ($p = 0,797$); para las ranas de *D. minutus* ($p = 0,651$); para los individuos de agar de *E. boulengeri* ($p = 0,903$) y para las ranas de *E. boulengeri* ($p = 0,670$).

Pruebas de normalidad							
PROFUNDIDAD DEL ABDOMEN		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
PROFUNDIDAD DEL ABDOMEN	DENMINU	,188	15	,160	,930	15	,271
	DENMINUAGAR	,182	15	,195	,946	15	,457
	EPIBOUL	,179	15	,200 [*]	,895	15	,079
	EPIBOULAGAR	,169	15	,200 [*]	,869	15	,033

*. Esto es un límite inferior de la significación verdadera.

a. Corrección de significación de Lilliefors

PROFUNDIDAD DEL ABDOMEN

Anexo 14. Resultados de la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk de la profundidad del abdomen (H_a), para los individuos de agar de *D. minutus* ($p = 0,457$); para las ranas de *D. minutus* ($p = 0,271$); para los individuos de agar de *E. boulengeri* ($p = 0,033$) y para las ranas de *E. boulengeri* ($p = 0,079$).

Prueba U de Mann-Whitney

D. minutus – *E. boulengeri*

Prueba de Mann-Whitney				
Rangos				
	SVL	N	Rango promedio	Suma de rangos
SVL	DENMINU	15	18,83	282,50
	EPIBOUL	15	12,17	182,50
	Total	30		

Estadísticos de prueba ^a	
	SVL
U de Mann-Whitney	62,500
W de Wilcoxon	182,500
Z	-2,074
Sig. asintótica (bilateral)	,038
Significación exacta [2* (sig. unilateral)]	,037 ^b

a. Variable de agrupación: SVL
b. No corregido para empates.

Anexo 15. Resultados de la prueba U de Mann-Whitney para las medidas de la longitud rostro-cloacal (SVL), de las ranas de *E. boulengeri* comparadas con las ranas de *D. minutus*.

Prueba de Mann-Whitney				
Rangos				
	ANCHO DE LA CABEZA	N	Rango promedio	Suma de rangos
ANCHO DE LA CABEZA	DENMINU	15	22,63	339,50
	EPIBOUL	15	8,37	125,50
	Total	30		

Estadísticos de prueba ^a	
	ANCHO DE LA CABEZA
U de Mann-Whitney	5,500
W de Wilcoxon	125,500
Z	-4,439
Sig. asintótica (bilateral)	,000
Significación exacta [2* (sig. unilateral)]	,000 ^b

a. Variable de agrupación: ANCHO DE LA CABEZA
b. No corregido para empates.

Anexo 16. Resultados de la prueba U de Mann-Whitney para las medidas del ancho de la cabeza (W_h), de las ranas de *E. boulengeri* comparadas con las ranas de *D. minutus*.

Prueba de Mann-Whitney				
Rangos				
	ANCHO DEL ABDOMEN	N	Rango promedio	Suma de rangos
ANCHO DEL ABDOMEN	DENMINU	15	18,57	278,50
	EPIBOUL	15	12,43	186,50
	Total	30		

Estadísticos de prueba^a	
	ANCHO DEL ABDOMEN
U de Mann-Whitney	66,500
W de Wilcoxon	186,500
Z	-1,908
Sig. asintótica (bilateral)	,056
Significación exacta [2* (sig. unilateral)]	,056 ^b

a. Variable de agrupación: ANCHO DEL ABDOMEN

b. No corregido para empates.

Anexo 17. Resultados de la prueba U de Mann-Whitney para las medidas del ancho del abdomen (W_a), de las ranas de *E. boulengeri* comparadas con las ranas de *D. minutus*.

Prueba de Mann-Whitney				
Rangos				
	PROFUNDIDAD DEL ABDOMEN	N	Rango promedio	Suma de rangos
PROFUNDIDAD DEL ABDOMEN	DENMINU	15	15,97	239,50
	EPIBOUL	15	15,03	225,50
	Total	30		

Estadísticos de prueba^a	
	PROFUNDIDAD DEL ABDOMEN
U de Mann-Whitney	105,500
W de Wilcoxon	225,500
Z	-2,90
Sig. asintótica (bilateral)	,772
Significación exacta [2* (sig. unilateral)]	,775 ^b

a. Variable de agrupación: PROFUNDIDAD DEL ABDOMEN

b. No corregido para empates.

Anexo 18. Resultados de la prueba U de Mann-Whitney para las medidas del ancho del abdomen (W_a), de las ranas de *E. boulengeri* comparadas con las ranas de *D. minutus*.

Prueba de Wilcoxon

Prueba de rangos con signo de Wilcoxon

Rangos

		N	Rango promedio	Suma de rangos
EWL - EWL	Rangos negativos	5 ^a	8,80	44,00
	Rangos positivos	7 ^b	4,86	34,00
	Empates	3 ^c		
	Total	15		

a. EWL < EWL
b. EWL > EWL
c. EWL = EWL

Estadísticos de prueba^a

	EWL - EWL
Z	-,397 ^b
Sig. asintótica (bilateral)	,691

a. Prueba de rangos con signo de Wilcoxon
b. Se basa en rangos positivos.

Anexo 19. Resultados de la prueba de Wilcoxon para las tasas de pérdida de agua bruta (EWL) de las ranas de *D. minutus* comparadas con las ranas de la especie *E. boulengeri*.

Prueba de rangos con signo de Wilcoxon

Rangos

		N	Rango promedio	Suma de rangos
EWL AJUSTADA - EWL AJUSTADA	Rangos negativos	6 ^a	7,83	47,00
	Rangos positivos	9 ^b	8,11	73,00
	Empates	0 ^c		
	Total	15		

a. EWL AJUSTADA < EWL AJUSTADA
b. EWL AJUSTADA > EWL AJUSTADA
c. EWL AJUSTADA = EWL AJUSTADA

Estadísticos de prueba^a

	EWL AJUSTADA - EWL AJUSTADA
Z	- 7,38 ^b
Sig. asintótica (bilateral)	,460

a. Prueba de rangos con signo de Wilcoxon
b. Se basa en rangos negativos.

Anexo 20. Resultados de la prueba de Wilcoxon para las tasas de pérdida de agua ajustada al modelo de Buttemer y Thomas (2003) (EWL_{SA}) de las ranas de *D. minutus* comparadas con las ranas de la especie *E. boulengeri*.

Prueba de rangos con signo de Wilcoxon

Rangos

		N	Rango promedio	Suma de rangos
EWL WCP - EWL WCP	Rangos negativos	4 ^a	3,75	15,00
	Rangos positivos	7 ^b	7,29	51,00
	Empates	0 ^c		
	Total	11		

a. EWL WCP < EWL WCP

b. EWL WCP > EWL WCP

c. EWL WCP = EWL WCP

Estadísticos de prueba^a

	EWL WCP - EWL WCP
Z	-1,601 ^b
Sig. asintótica (bilateral)	,109

a. Prueba de rangos con signo de Wilcoxon

b. Se basa en rangos negativos.

Anexo 21. Resultados de la prueba de Wilcoxon para las tasas de pérdida de agua en postura de conservación (EWL_{WCP}) de las ranas de *D. minutus* comparadas con las ranas de la especie *E. boulengeri*.

Prueba de rangos con signo de Wilcoxon

Rangos

		N	Rango promedio	Suma de rangos
EWL AJUSTADA - EWL WCP	Rangos negativos	0 ^a	,00	,00
	Rangos positivos	13 ^b	7,00	91,00
	Empates	0 ^c		
	Total	13		

a. EWL AJUSTADA < EWL WCP

b. EWL AJUSTADA > EWL WCP

c. EWL AJUSTADA = EWL WCP

Estadísticos de prueba^a

	EWL AJUSTADA - EWL WCP
Z	-3,180 ^b
Sig. asintótica (bilateral)	,001

a. Prueba de rangos con signo de Wilcoxon

b. Se basa en rangos negativos.

Anexo 22. Resultados de la prueba de Wilcoxon para las tasas de pérdida de agua ajustada al modelo de Buttemer y Thomas (2003) (EWL_{SA}) de las ranas de *D. minutus* comparadas con la tasa de pérdida de agua en postura de conservación (EWL_{WCP}) de sus respectivos modelos de agar.

Prueba de rangos con signo de Wilcoxon

Rangos

		N	Rango promedio	Suma de rangos
EWL AJUSTADA - EWL WCP	Rangos negativos	5 ^a	4,20	21,00
	Rangos positivos	7 ^b	8,14	57,00
	Empates	0 ^c		
	Total	12		

a. EWL AJUSTADA < EWL WCP
b. EWL AJUSTADA > EWL WCP
c. EWL AJUSTADA = EWL WCP

Estadísticos de prueba^a

	EWL AJUSTADA - EWL WCP
Z	-1,413 ^b
Sig. asintótica (bilateral)	,158

a. Prueba de rangos con signo de Wilcoxon
b. Se basa en rangos negativos.

Anexo 23. Resultados de la prueba de Wilcoxon para las tasas de pérdida de agua ajustada al modelo de Buttemer y Thomas (2003) (EWL_{SA}) de las ranas de *E. boulengeri* comparadas con la tasa de pérdida de agua en postura de conservación (EWL_{WCP}) de sus respectivos modelos de agar.

Prueba de Levene

D. minutus – *D. minutus* agar

➔ **Unidireccional**

Prueba de homogeneidad de varianzas

EWL

Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
,446	1	28	,510

ANOVA

EWL

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	,000	1	,000	1,047	,315
Dentro de grupos	,006	28	,000		
Total	,006	29			

Anexo 30. Resultados de la prueba de Levene para la homogeneidad de varianzas de la tasa de pérdida de agua bruta (EWL) de las ranas de *D. minutus* comparadas con sus modelos de agar.

→ Unidireccional

Prueba de homogeneidad de varianzas

EWL AJUSTADA

Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
2,627	1	28	,116

ANOVA

EWL AJUSTADA

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	,000	1	,000	2,514	,124
Dentro de grupos	,000	28	,000		
Total	,000	29			

Anexo 31. Resultados de la prueba de Levene para la homogeneidad de varianzas de la tasa de pérdida de agua ajustada al modelo de Buttemer y Thomas (2003) (EWL_{SA}) de las ranas de *D. minutus* comparadas con sus modelos de agar.

→ Unidireccional

Prueba de homogeneidad de varianzas

EWL WCP

Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
2,797	1	26	,106

ANOVA

EWL WCP

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	,000	1	,000	2,530	,124
Dentro de grupos	,000	26	,000		
Total	,000	27			

Anexo 32. Resultados de la prueba de Levene para la homogeneidad de varianzas de la tasa de pérdida de agua en postura de conservación (EWL_{WCP}) de las ranas de *D. minutus* comparadas con sus modelos de agar.

E. boulengeri – *E. boulengeri* agar

→ Unidireccional

Prueba de homogeneidad de varianzas

EWL

Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
,121	1	28	,731

ANOVA

EWL

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	,003	1	,003	26,161	,000
Dentro de grupos	,004	28	,000		
Total	,007	29			

Anexo 24. Resultados de la prueba de Levene para la homogeneidad de varianzas de la tasa de pérdida de agua bruta (EWL) de las ranas de *E. boulengeri* comparadas con sus modelos de agar.

→ Unidireccional

Prueba de homogeneidad de varianzas

EWL AJUSTADA

Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
,100	1	28	,754

ANOVA

EWL AJUSTADA

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	,000	1	,000	33,154	,000
Dentro de grupos	,000	28	,000		
Total	,000	29			

Anexo 25. Resultados de la prueba de Levene para la homogeneidad de varianzas de la tasa de pérdida de agua ajustada al modelo de Buttemer y Thomas (2003) (EWL_{SA}) de las ranas de *E. boulengeri* comparadas con sus modelos de agar.

→ **Unidireccional**

Prueba de homogeneidad de varianzas

EWL WCP

Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
,179	1	25	,676

ANOVA

EWL WCP

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	,000	1	,000	184,424	,000
Dentro de grupos	,000	25	,000		
Total	,000	26			

Anexo 26. Resultados de la prueba de Levene para la homogeneidad de varianzas de la tasa de pérdida de agua en postura de conservación (EWL_{WCP}) de las ranas de *E. boulengeri* comparadas con sus modelos de agar.

Prueba de Shapiro – Wilk

Pruebas de normalidad

EWL		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
EWL	DENMINU	,251	15	,012	,881	15	,050
	DENMINUAGAR	,265	15	,006	,827	15	,008
	EPIBOUL	,284	15	,002	,796	15	,003
	EPIBOULAGAR	,195	15	,128	,896	15	,082

a. Corrección de significación de Lilliefors

EWL

Anexo 27. Resultados de la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk para la tasa de pérdida de agua bruta (EWL), para los individuos de agar de *D. minutus* ($p = 0,008$); para las ranas de *D. minutus* ($p = 0,050$); para los individuos de agar de *E. boulengeri* ($p = 0,082$) y para las ranas de *E. boulengeri* ($p = 0,003$).

Pruebas de normalidad							
EWL AJUSTADA		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
EWL AJUSTADA	DENMINU	,161	15	,200*	,928	15	,256
	DENMINUAGAR	,234	15	,026	,860	15	,024
	EPIBOUL	,246	15	,015	,740	15	,001
	EPIBOULAGAR	,252	15	,011	,850	15	,017

*. Esto es un límite inferior de la significación verdadera.

a. Corrección de significación de Lilliefors

EWL AJUSTADA

Anexo 28. Resultados de la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk para la tasa de pérdida de agua ajustada al modelo de Buttemer y Thomas (2003) (EWL_{SA}), para los individuos de agar de *D. minutus* ($p = 0,024$); para las ranas de *D. minutus* ($p = 0,256$); para los individuos de agar de *E. boulengeri* ($p = 0,017$) y para las ranas de *E. boulengeri* ($p = 0,001$).

Pruebas de normalidad							
EWL WCP		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
EWL WCP	DENMINU	,259	13	,017	,815	13	,010
	DENMINUAGAR	,182	15	,195	,946	15	,458
	EPIBOUL	,194	12	,200*	,924	12	,318
	EPIBOULAGAR	,183	15	,187	,880	15	,047

*. Esto es un límite inferior de la significación verdadera.

a. Corrección de significación de Lilliefors

EWL WCP

Anexo 29. Resultados de la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk para la tasa de pérdida de agua en postura de conservación (EWL_{WCP}) para los individuos de agar de *D. minutus* ($p = 0,458$); para las ranas de *D. minutus* ($p = 0,010$); para los individuos de agar de *E. boulengeri* ($p = 0,047$) y para las ranas de *E. boulengeri* ($p = 0,318$).

Prueba de Wilcoxon

Prueba de rangos con signo de Wilcoxon

Rangos

		N	Rango promedio	Suma de rangos
RESISTENCIA CUTANEA	Rangos negativos	11 ^a	6,00	66,00
- RESISTENCIA CUTANEA	Rangos positivos	0 ^b	,00	,00
	Empates	0 ^c		
	Total	11		

a. RESISTENCIA CUTANEA < RESISTENCIA CUTANEA

b. RESISTENCIA CUTANEA > RESISTENCIA CUTANEA

c. RESISTENCIA CUTANEA = RESISTENCIA CUTANEA

Estadísticos de prueba^a

	RESISTENCIA CUTANEA - RESISTENCIA CUTANEA
Z	-2,934 ^b
Sig. asintótica (bilateral)	,003

a. Prueba de rangos con signo de Wilcoxon

b. Se basa en rangos positivos.

Anexo 30. Resultados de la prueba de Wilcoxon para las resistencias cutáneas (R_c) de las ranas de *D. minutus* comparadas con las ranas de la especie *E. boulengeri*.

Prueba de rangos con signo de Wilcoxon

Rangos

		N	Rango promedio	Suma de rangos
RESISTENCIA FRONTERA	Rangos negativos	0 ^a	,00	,00
- RESISTENCIA FRONTERA	Rangos positivos	15 ^b	8,00	120,00
	Empates	0 ^c		
	Total	15		

a. RESISTENCIA FRONTERA < RESISTENCIA FRONTERA

b. RESISTENCIA FRONTERA > RESISTENCIA FRONTERA

c. RESISTENCIA FRONTERA = RESISTENCIA FRONTERA

Estadísticos de prueba^a

	RESISTENCIA FRONTERA - RESISTENCIA FRONTERA
Z	-3,409 ^b
Sig. asintótica (bilateral)	,001

a. Prueba de rangos con signo de Wilcoxon

b. Se basa en rangos negativos.

Anexo 31. Resultados de la prueba de Wilcoxon para las resistencias de la capa frontera (R_b) de los modelos de agar de *D. minutus* comparadas con los modelos de agar de la especie *E. boulengeri*.