



Universidade de Aveiro  
Ano (2021)

RAQUEL APARECIDA  
MENDES LIMA

AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE EM ANFÍBIOS DE  
PESTICIDAS PROVENIENTES DE ÁREAS AGRÍCOLAS DO  
ESTADO DO TOCANTINS, BRASIL

EVALUATION OF TOXICITY IN PESTICIDE AMPHIBIANS  
FROM AGRICULTURAL AREAS IN THE STATE OF  
TOCANTINS, BRAZIL



Universidade de Aveiro  
Ano (2021)

**RAQUEL APARECIDA  
MENDES LIMA**

**AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE EM ANFÍBIOS DE  
PESTICIDAS PROVENIENTES DE ÁREAS AGRÍCOLAS DO  
ESTADO DO TOCANTINS, BRASIL**

**EVALUATION OF TOXICITY IN PESTICIDE AMPHIBIANS  
FROM AGRICULTURAL AREAS IN THE STATE OF  
TOCANTINS, BRAZIL**

Tese apresentada à Universidade de Aveiro para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Doutora em Biologia e Ecologia das Alterações Globais, realizada sob a orientação científica do Doutor Amadeu Mortágua Velho da Maia Soares (Professor Catedrático do Departamento de Biologia da Universidade de Aveiro), da Doutora Isabel Maria Cunha Antunes Lopes (Investigadora Principal do CESAM e Departamento de Biologia da Universidade de Aveiro).

Este trabalho contou com apoio financeiro da Fundação de Apoio à Pesquisa -FAPT, Governo do Estado do Tocantins/ Brasil e do do Instituto Federal do Tocantins - IFTO/ Brasil.

Dedico este trabalho à minha mãe Nilda Mendes Lima pelo incansável apoio e à Stefanie pelo amor incondicional.

## o júri

### **Presidente:**

Doutor **João Filipe Colardelle da Luz Mano**  
Professor Catedrático, Universidade de Aveiro

### **Vogais:**

Doutora **Lúcia Maria Candeias Guilhermino**  
Professora Catedrática, Universidade do Porto

Doutor **Amadeu Mortágua Velho da Maia Soares**  
Professor Catedrático, Universidade de Aveiro (Orientador)

Doutor **Renato de Almeida Sarmento**  
Professor Associado, Universidade Federal do Tocantins

Doutora **Cátia Alexandra Ribeiro Venâncio**  
Investigadora Contratada, Universidade de Coimbra

Doutora **Sónia Dias Coelho**  
Investigadora Contratada, Universidade de Coimbra

## agradecimentos

À Deus por tudo que sou e tenho!!!

Ao Professor Catedrático Dr. Amadeu Mortágua Velho da Maia Soares, pela orientação e oportunidade concedida para a realização de todas as etapas deste curso;

À Dra. Isabel Lopes, pela co-orientação, incentivo, amizade no transcurso deste trabalho.

À Professora, Dr<sup>a</sup> Adriana Malvasio, pela colaboração, incentivo e amizade em todas as fases desse trabalho e também pela oportunidade concedida ao realizar os experimentos nas dependências laboratoriais sob sua responsabilidade na UFT, Campus Palmas, bem como pelo incentivo e amizade;

Ao Instituto Federal do Tocantins (IFTO), pela concessão do afastamento para realização do Doutorado;

Ao Centro de Energia Nuclear na Agricultura – CENA (Piracicaba-SP), da Universidade de São Paulo – USP, em nome do Prof<sup>o</sup> Dr. Plínio Barbosa de Camargo, pela colaboração e realização do estudo em ecologia isotópica, abordada neste trabalho, bem como pelo incentivo e amizade;

À Cooperativa - Cooperformoso em nome do Senhor Vilson, pela receptividade e concessão de autorização para acesso à área de produção agrícola de arroz e soja, Formoso do Araguaia – Tocantins;

Às instâncias brasileiras pelas autorizações concedidas para o desenvolvimento desta pesquisa, tais como: Sisbio/ RAN, Ibama, CEUA/ UFT;

Ao Ronildo Alves Benício (Museu Paraense Emílio Goeldi - MPEG) e a Mariluce Fonseca, (Professora na Universidade Federal do Piauí), pela contribuição valiosa na identificação das espécies de anfíbios anuros nesta pesquisa;

Aos professores Carlos Jared e Marta Maria Antoniazzi, Laboratório de Biologia Celular, Instituto Butantan - SP, pelas contribuições científicas valiosas ao longo deste trabalho;

Aos comerciantes e população de Formoso do Araguaia - TO, pelo acolhimento e colaboração para as coletas de campo;

A família Bonanza, pelo acolhimento e por ceder infraestrutura para realização de trabalhos técnicos desta pesquisa;

Aos meus amigos e colegas de profissão, pelos momentos de parceria ao longo dessa caminhada em especial a Giuliano Guimarães Silva, Eustáquio Canguçu, Edvaldo Sant'Ana, Guarino Colli, Edilson Leite, Ludimilla, Luciano, César Koppe Grisólia, Renato Sarmento, Melina Simoncini, Rafael Lajmanovich, Paola Peltzer e Agostini, Valdemar Tornisielo, Hélio Araújo, Rubens Brandão, Leandro Gordinho, Guarino Colli, Renato Sarmento Luciano Verdade, Katiuce, Denise Rossa-Feres, Neliton Lara, Juliana Antonio;

Em especial, às minhas amadas amigas, mais que especiais, Ediclea Lopes Araújo, Haiany Cristina Ribeiro de Miranda, Cecília Amélia Miranda, que me acompanharam incansavelmente;

Ao Dr. Márcio Antônio pelos cuidados que foram fundamentais para o meu bem estar.

Aos meus alunos, colegas e amigos dos grupos de pesquisa em Ecotoxicologia (IFTO/ Palmas); CROQUE (UFT), pela colaboração e caminhada juntos;

À minha família, principalmente aos meus pais (João e Nilda), meu avô (José Ferreira Mendes), Stefanie (minha princesa), meus bons exemplos de ser humano, a quem devo o encaminhamento para a vida;

Agradeço em especial, à Belizário Franco Neto, pelos exemplos e contra-exemplos; E, àqueles que passaram na minha vida durante esse tempo e, que de alguma forma deixaram as suas contribuições (direta ou indiretamente), fundamentais, para o meu crescimento (profissional, pessoal e científico)!!!

## palavras-chave

Anfíbios tropicais, ecotoxicologia, pesticidas, agrossistemas.

## resumo

Os anfíbios constituem a Classe de vertebrados com maior proporção de espécies ameaçadas de extinção (mais de 40%), sendo a perda de habitat e a poluição antropogênica duas das principais causas desta realidade. De todas as fontes de poluição ambiental, os agrotóxicos são de grande preocupação, pois a sua liberação para meio ambiente é enorme e os anfíbios comumente habitam os agroecossistemas onde esses produtos químicos são aplicados. Esse taxon é reconhecido como um bom indicador de saúde ambiental, contribuindo para o funcionamento saudável dos ecossistemas. Os anfíbios são importantes elos em teias tróficas, consumindo várias espécies de invertebrados que são consideradas prejudiciais à agricultura, proporcionando assim o controle biológico de pragas. Mas, seu papel nos ecossistemas vai além, pois eles também podem ser presas; sendo assim de extrema importância para as funções do ecossistema. No entanto, há uma ampla lacuna de conhecimento na literatura científica sobre os possíveis impactos de agrotóxicos, da gestão e da prática agrícola sobre as populações de anfíbios nas regiões tropicais. Especificamente, o Brasil é um dos maiores produtores agrícolas (com 7,64% do seu território cultivado). Com a crescente expansão agrícola, estima-se que em torno de 335 mil toneladas de agrotóxicos tenham sido vendidas em 2019, sendo que esse volume foi 16% maior do que no ano anterior (2018). Neste contexto, objetivou-se nesta tese avaliar os efeitos de diferentes graus de mudanças na paisagem, induzidos pela agricultura, e do uso de pesticidas sobre o estado de saúde de populações naturais de espécies de anuros tropicais. Para isso, foram definidos três objetivos específicos: (i) avaliar a influência da fitofisionomia de paisagem (microambiente agrícola, pastagem e paisagem de Cerrado não alterada), e do uso de pesticidas, na diversidade e condição corporal de populações naturais de anfíbios anuros, (ii) identificar se a exposição a diferentes fitofisionomias de paisagem e a pesticidas altera o nicho isotópico de girinos e adultos de populações naturais de anuros; (iii) identificar os efeitos adversos provocados por quatro formulações comerciais de pesticidas agrícolas em girinos de anfíbios anuros tropicais (Anura: Ranidae). Relativamente ao primeiro objectivo, os resultados obtidos revelaram diferenças nas diversidades e condições corporais nos ambientes antropizados e florestais. Os locais de referência apresentaram maior diversidade de anfíbios, em particular no local de paisagem de transição de Cerrado e Floresta Amazônia e no local de pastagem. No que refere às diferenças observadas na condição corporal de anfíbios adultos oriundos dos diferentes locais, não foi possível estabelecer uma associação com as diferentes fitofisionomias ou uso de pesticidas. No que respeita ao segundo objetivo, entre os três locais de estudo não foram observadas diferenças isotópicas de  $\delta^{15}\text{N}$  e de  $\delta^{13}\text{C}$ . No entanto, independente do ambiente considerado, observou-se variação entre os grupos florísticos. Sendo assim, a composição isotópica dos girinos do local Agrícola apresentou relação com os dados de isótopos ( $\delta^{15}\text{N}$  e de  $\delta^{13}\text{C}$ ) do sedimento. No entanto, no local Natural essa relação isotópica entre os girinos e o sedimento não foi observada. Os nichos isotópicos dos girinos dos ambientes Natural e de Pastagem apresentam alto grau de sobreposição. Os girinos apresentaram maior amplitude de nicho isotópico no Agrícola, com área média da elipse bayesiana padrão de 20,12 (14,76 - 148,60)‰, completamente distintos do Natural, com 16,04 (9,36 - 115,20)‰, e o nicho isotópico mais restrito foi em Pastagem de 13,80 (3,38 - 211,60)‰. A maior abundância de girinos no local Agrícola pode estar associada à presença de espécies generalistas ou com hábitos que acabam por se beneficiar das mudanças do uso do solo, como é o caso da espécie *Leptodactylus latrans*. Para os anuros adultos os valores médios registrados para  $\delta^{15}\text{N}$  e de  $\delta^{13}\text{C}$ , envolveu 75 adultos dos três locais, sendo a maior abundância e riqueza de espécies observadas para o local Natural (com 42 indivíduos); Agrícola (31 indivíduos) e Pastagem (apenas dois indivíduos). Os géneros analisados foram: *Dendropsophus*;

*Elachistocleis*; *Hypsiboas*; *Leptodactylus*; *Lysiaps*; *Osteocephalus*; *Physalaemus*; *Rhinella*; *Scinax*. No local Natural foi registrada a maior diversidade no gênero *Leptodactylus* (cinco espécies), do que nos outros dois locais (Agrícola e de Pastagem). O gênero mais abundante tanto nos locais Natural quanto no Agrícola foi *Leptodactylus*. Finalmente, no que respeita ao terceiro objetivo delineado neste trabalho, verificou-se que das quatro formulações de pesticidas testadas a que apresentou maior toxicidade letal para girinos de *P. cuvieri*, *P. azurea*, e *L. labyrinthicus* foi o Roundup®. Foi então construída uma curva de distribuição de sensibilidade de espécies para este composto, tendo-se calculado uma concentração de perigo para 5% das espécies de 0,751 mg/L do ingrediente ativo (i.a.) glifosato. Considerando que já foram reportados valores de 0,56 mg/L deste i.a. em águas superficiais, estima-se que o Roundup® possa apresentar algum risco para anfíbios, principalmente para situações de exposição a longo prazo. A sensibilidade das espécies de anuros tropicais posicionou-se a meio da curva de distribuição de sensibilidades. No entanto, não é possível retirar conclusões sobre a sensibilidade relativa destas espécies comparativamente às espécies de anuros de outras regiões geográficas, pois os dados sobre a toxicidade de glifosato para espécies de anuros tropicais são ainda escassos. Mais ainda esta escassez de dados de toxicidade de pesticidas para anuros tropicais observou-se para as outras três formulações estudadas, o que impediu a realização de uma análise semelhante. Estes resultados apontam assim para a necessidade de se gerar mais conhecimento sobre a toxicidade que os agrotóxicos podem causar neste grupo de organismos, uma vez que a diversidade de espécies de anfíbios identificadas nas regiões tropicais é elevada e estão expostas a práticas de agricultura intensiva. O presente trabalho, permitiu concluir que a exposição prolongada de populações naturais a pesticidas e a diferentes fitofisionomias de paisagem contribuem para diminuir a diversidade específica de anuros. Mais ainda a composição isotópica de anuros adultos demonstrou sobreposição entre os locais Natural e Agrícola (devido prática empregada no manejo da cobertura do solo). Registou-se ainda que houve dominância de espécies generalistas de anfíbios nas paisagens estudadas. Com base nestes resultados, considera-se necessário desenvolver investigação adicional de modo a perceber a influência de cada um destes fatores (pesticidas e fitofisionomia de paisagem) no decréscimo de diversidade de anuros de forma a promover de forma mais eficaz a conservação dos anfíbios tropicais.

## keywords

Tropical amphibians, ecotoxicity, pesticides, agrosystems.

## abstract

Amphibians are among the vertebrates with the highest proportion of species threatened with extinction (more than 40 %), with habitat loss and anthropogenic pollution being the main threatening factors. Of all the sources of environmental pollution, pesticides are of great concern, as their release into the environment is enormous and amphibians commonly inhabit the agroecosystems where these chemicals are applied. This taxon is recognized as a good indicator of environmental health, contributing to the healthy functioning of ecosystems. Amphibians are important links in food webs, consuming several species of invertebrates that are considered harmful to agriculture, thus providing biological pest control. But their role in ecosystems goes further, as they can also be preys; thus, being of extreme importance for ecosystem functions. However, there is a wide knowledge gap in the scientific literature about the possible impacts of pesticides, management, and agricultural practice on amphibian populations in tropical regions. Specifically, Brazil is one of the largest agricultural producers (with 7.64% of its territory cultivated). With the growing agricultural expansion, following the sale of pesticides in the country, it is estimated that around 335,000 tons of plant protection products were sold in year 2019, with this volume being 16% higher than in the previous year (2018). In this context, the present thesis aimed to evaluate the effects of different degrees of changes in agriculture-induced landscape and pesticides use on the health status of natural populations of tropical anuran species. For this, the following three specific objectives were defined: (i) to evaluate the influence of landscape phytophysiology (agricultural microenvironment, pasture and unaltered Cerrado landscape), and the use of pesticides, on the diversity and body condition of natural amphibian populations frogs, (ii) identify whether exposure to different landscape physiognomies and pesticides alters the isotopic niche of tadpoles and adults of natural frog populations; (iii) identify the adverse effects caused by four commercial formulations of agricultural pesticides in tropical anuran amphibians tadpoles (Anura: Ranidae). The results obtained revealed differences in diversities and body conditions in anthropic and forest environments. The diversity of amphibian species was higher at the reference sites, namely at the site of transition between Cerrado and Amazonia Forest landscape and at site Pasture. With regard to the differences observed in the body condition of adult amphibians from different locations, it was not possible to establish an association with the different phytophysionomies or use of pesticides. Among the three study sites, isotopic differentiations of  $\delta^{15}\text{N}$  and  $\delta^{13}\text{C}$  were not observed. However, regardless of the environment considered, there was variation between the floristic groups. Thus, the isotopic composition of tadpoles from the Agricultural site was related to the isotope data ( $\delta^{15}\text{N}$  and  $\delta^{13}\text{C}$ ) of the sediment. In Natural sites this isotopic relationship between tadpoles and sediment was not observed. The isotopic niches of tadpoles from the Natural and Pasture environments show a high degree of overlap. Tadpoles showed greater isotopic niche amplitude in the Agricola site, with an average area of the standard Bayesian ellipse of 20.12 (14.76 - 148.60) million percent, completely different from Natural, with 16.04 (9.36 - 115.20) ‰, and the most restricted isotopic niche was in Pastagem de 13.80 (3.38 - 211.60) ‰. The greater abundance of tadpoles in the agricultural matrix may be associated with the presence of generalist species or with habits that end up benefiting from changes in land use, as is the case of the species



*Leptodactylus latrans*. For adult frogs, the mean values recorded for  $\delta^{15}\text{N}$  and  $\delta^{13}\text{C}$  involved 75 adults from the three locations, with the greatest abundance and richness of species observed for the Natural location (with 42 individuals); Agricultural (31 individuals) and Pasture (only two individuals). The analyzed genera were: *Dendropsophus*; *Elachistocleis*; *Hypsiboas*; *Leptodactylus*; *Lysiaps*; *Osteocephalus*; *Physalaemus*; *Rhinella*; *Scinax*. In the Natural environment, greater diversity was recorded in the genus *Leptodactylus* (five species), than in the other two locations (Agricultural and Pasture).

The most abundant group in both Natural and Agricultural was *Leptodactylus*. Regarding the third objective outlined in this work, it was found that of the four pesticide formulations tested, the one with the highest lethal toxicity for *P. cuvieri*, *P. azurea*, and *L. labyrinthicus* tadpoles was Roundup®. A species sensitivity distribution curve for this compound was then constructed, and a hazard concentration for 5% of species of 0.751 mg/L of the active ingredient (a.i.) glyphosate was calculated. Considering that values of 0.56 mg/L of this a.i. have already been reported in surface waters, it is estimated that Roundup® may present some risk to amphibians, especially for long-term exposure scenarios. The sensitivity of tropical anuran species was positioned in the middle of the sensitivity distribution curve. However, it is not possible to draw conclusions about the relative sensitivity of these species compared to anuran species from other geographic regions, as data on the toxicity of glyphosate for tropical anuran species are still scarce. Furthermore, a scarcity of pesticide toxicity data for tropical anurans was observed for the other three formulations studied, which prevented a similar analysis from being carried out. These results point to the need to generate more knowledge about the toxicity that pesticides can cause in this group of organisms, since the diversity of amphibian species identified in tropical regions is high and they are exposed to intensive agricultural practices. The present work allowed us to conclude that the prolonged exposure of natural populations to pesticides and different landscape phytophysiognomies contribute to reduce the species diversity of anurans. Furthermore, the isotopic composition of adult frogs showed an overlap between the Natural and Agricultural locations (due to the practice used in the management of soil cover). It was also observed that there was a predominance of generalist species of amphibians in the studied landscapes. Based on these results, it is considered necessary to develop additional research to understand the influence of each of these factors (pesticides and landscape phytophysiognomy) in the decrease in anuran diversity to promote a more effective conservation of tropical amphibians.

## SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS-----	13
LISTA DE TABELAS-----	17
<b>CAPÍTULO I-----</b>	<b>29</b>
1. INTRODUÇÃO-----	30
1.1. Características do Tocantins e Cerrado-----	30
1.2. Uso da ecologia isotópica para compreensão do ecossistema -----	38
1.3. Efeitos de pesticidas em anfíbios-----	41
1.4. Impacto ecológico do desmatamento -----	48
1.5. Aspectos gerais sobre o Tocantins: caso de estudo “perímetroagrícola formoso”--	57
2. ESTRUTURA E OBJETIVOS DA TESE -----	62
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS -----	66
<b>CAPÍTULO II -----</b>	<b>84</b>
1. INTRODUÇÃO-----	85
2. MATERIAL E MÉTODOS -----	92
2.1 Autorizações para realização da pesquisa -----	92
2.2. Localização e caracterização dos locais de estudo -----	92
2.3. Dados meteorológicos (2013-2017) -----	98
2.4. Matrizes ambientais e procedimentos de coletas e processamento -----	98
2.5. Populações naturais de anuros nos locais de estudo -----	105
2.6. Análises estatísticas -----	107
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO-----	108
3.1 Dados meteorológicos-----	108
3.2 Água superficial-----	110
3.3 Solo-----	119
3.4 Pesticidas nas matrizes ambientais-----	124

3.5	Flora	126
3.6	Anuros	128
3.7	Ensaio de ecotoxicidade a amostras de água superficial e sedimentos	139
4	CONSIDERAÇÕES FINAIS	145
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS		147
<b>CAPÍTULO III</b>		<b>158</b>
1.	INTRODUÇÃO	159
2.	MATERIAL E MÉTODOS	165
2.1.	Área de estudo	165
2.2.	Coleta e processamento das amostras	166
2.3.	Análises estatísticas	168
3.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	170
3.1.	Vegetação	170
3.2.	Sedimento	173
3.3.	Invertebrados	174
3.4.	Anfíbios anuros	175
4.	CONSIDERAÇÕES FINAIS	188
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS		191
<b>CAPÍTULO IV</b>		<b>200</b>
1.	INTRODUÇÃO	201
2.	MATERIAL E MÉTODOS	203
2.1.	Formulações comerciais dos pesticidas estudados	203
2.2.	Espécies de anfíbios modelo	206
2.3.	Coleta e cultura de girinos	210
2.4.	Condições experimentais dos ensaios ecotoxicológicos	210
2.5.	Análises estatísticas	213
3.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	213

3.1. Efeitos letais das formulações Cruiser <sup>®</sup> , Score <sup>®</sup> , Larvin <sup>®</sup> e RoundupOriginal <sup>®</sup>	214
3.2. Efeitos subletais das formulações Score <sup>®</sup> , Larvin <sup>®</sup> e Roundup Original <sup>®</sup>	225
3.3. Curva de distribuição de sensibilidade de espécies de anfíbios anuros à Roundup <sup>®</sup>	235
4. CONSIDERAÇÕES FINAIS	237
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	239
<b>CAPÍTULO V</b>	<b>255</b>
1. INTRODUÇÃO	256
2. RESULTADOS OBTIDOS POR CAPÍTULO	256
2.1. Capítulo I	256
2.2. Capítulo II	257
2.3. Capítulo III	267
2.4. Capítulo IV	270
3. DISCUSSÃO FINAL DA TESE	272
3.1 Efeitos dos pesticidas agrícolas à anuros tropicais	272
3.2. Composição isotópica e toxicidade a girinos de anuros tropicaisflutuantes	281
CONCLUSÃO	284
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	287
ANEXOS	291

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 2.1: Mapas com a localização do Projeto Agrícola Formoso do Araguaia (Tocantins, Brasil), com a representação da distribuição geográfica dos cinco locais de estudo: C1, C2, R1, R2 e R3. ----- 93
- Figura 2.2: Locais de estudo, sendo que o (C1 ou Agrícola 1) é aquele situado no interior do cultivo agrícola de arroz irrigado por inundação; o (C2 ou Agrícola 2), Misto de Agrícola e Pastagem; o (R1 ou Cerrado), na margem da Lagoa do Taboca; o (R2) é o Ecótono; o (R3 ou Pastagem), no interior de pastagem plantada, Formoso do Araguaia - TO. ----- 94
- Figura 2.3: Valores de médias e desvios padrão (barras de erro) dos parâmetros meteorológicos identificados para o município de Formoso do Araguaia, durante os anos de 2013 à 2017. ----- 109
- Figura 2.4: Média do comprimento rostro-cloaca (CRC), diâmetro do tímpano (DT), comprimento do membro posterior (CP), e massa dos indivíduos de *Rhinella granulosa*, capturados nos locais C1 (azul) e C2 (laranja) na região de Formoso do Araguaia - TO, Brasil (2015). As barras de erro correspondem aos desvios padrão. ----- 130
- Figura 2.5: Média do comprimento rostro-cloaca (CRC), diâmetro do tímpano (DT), comprimento do membro posterior (CP), e massa dos indivíduos de *Dendropsophus nanus* capturados nos locais R2 (azul) e C2 (laranja), na região de Formoso do Araguaia - TO, Brasil (2015). As barras de erro correspondem aos desvios padrão. ----- 131
- Figura 2.6: Média do comprimento rostro-cloaca (CRC), diâmetro do tímpano (DT), comprimento do membro posterior (CP), e massa dos indivíduos de *Elachistocleis ovalis*, capturados nos locais R2 (azul) e C1 (laranja), na região de Formoso do Araguaia - TO, Brasil (2015). As barras de erro correspondem aos desvios padrão. ----- 131
- Figura 2.7: Média do comprimento rostro-cloaca (CRC), diâmetro do tímpano (DT), comprimento do membro posterior (CP), e massa dos indivíduos de *Hypsiboas albomarginatus*, capturados nos locais R2 (azul) e R3 (laranja), na região de Formoso do Araguaia - TO, Brasil (2015). As barras de erro correspondem aos desvios padrão. ----- 132
- Figura 2.8: Média do comprimento rostro-cloaca (CRC), diâmetro do tímpano (DT), comprimento do membro posterior (CP), e massa dos indivíduos de *Leptodactylus pustulatus*, capturados nos locais R1 (azul) e C2 (laranja), na região de Formoso do Araguaia - TO, Brasil (2015). As barras de erro correspondem aos desvios padrão. a, b - indicam diferenças significativas entre R1 e C2 para cada parâmetro morfométrico  $p \leq 0,0179$ . ----- 133
- Figura 2.9: Média do comprimento rostro-cloaca (CRC), diâmetro do tímpano (DT), comprimento do membro posterior (CP), e massa dos indivíduos de *Elachistocleis cesarii*, capturados nos locais R2 (azul), R3 (laranja) e C1 (cinza), na região de Formoso do Araguaia - TO, Brasil (2015). As barras de erro padrão correspondem aos desvios padrão. ----- 133
- Figura 2.10: Média do comprimento rostro-cloaca (CRC), diâmetro do tímpano (DT), comprimento do membro posterior (CP), e massa dos indivíduos de *Hypsiboas raniceps*, capturados nos locais R2 (azul), R3 (laranja), C1 (cinza)

e C2 (amarelo), na região de Formoso do Araguaia - TO, Brasil (2015). As barras de erro correspondem aos desvios padrão. a, b - indicam diferenças significativas entre R1 e C2 para cada parâmetro morfométrico  $p \leq 0,028$ ).  
----- 134

Figura 2.11: Média do comprimento rostro-cloaca (CRC), diâmetro do tímpano (DT), comprimento do membro posterior (CP), e massa dos indivíduos de *Leptodactylus chaquensis*, capturados nos locais R2 (azul), R3 (laranja) e C1 (cinza), na região de Formoso do Araguaia - TO, Brasil (2015). As barras de erro correspondem aos desvios padrão.----- 135

Figura 2.12: Média do comprimento rostro-cloaca (CRC), diâmetro do tímpano (DT), comprimento do membro posterior (CP), e massa dos indivíduos de *Leptodactylus fuscus*, capturados nos locais R2 (azul), R3 (laranja), C1 (cinza) e C2 (amarelo), na região de Formoso do Araguaia - TO, Brasil (2015). As barras de erro correspondem aos desvios padrão. ----- 135

Figura 2.13: Média do comprimento rostro-cloaca (CRC), diâmetro do tímpano (DT), comprimento do membro posterior (CP), e massa dos indivíduos de *Leptodactylus latrans*, capturados nos locais C1 (amarelo), C2 (azul claro), R1 (azul), R2 (laranja) e R3 (cinza), na região de Formoso do Araguaia - TO, Brasil (2015). As barras de erro correspondem aos desvios padrão. a, b - indicam diferenças significativas entre C2 e R1, para cada parâmetro morfométrico  $p \leq 0,00$ . ----- 136

Figura 2.14: Média do comprimento rostro-cloaca (CRC), diâmetro do tímpano (DT), comprimento do membro posterior (CP), e massa dos indivíduos de *Leptodactylus podicipinus*, capturados nos locais C1 (amarelo), C2 (azul claro), R1 (azul), R2 (laranja) e em R3 (cinza), na região de Formoso do Araguaia - TO, Brasil (2015). As barras de erro correspondem aos desvios padrão. - 137

Figura 2.15: Média do comprimento rostro-cloaca (CRC), diâmetro do tímpano (DT), comprimento do membro posterior (CP), e massa dos indivíduos de *Physalaemus cuvieri*, capturados nos locais R2 (azul), C1 (laranja) e C2 (cinza), na região de Formoso do Araguaia - TO, Brasil (2015). As barras de erro correspondem aos desvios padrão.----- 137

Figura 2.16: Média do comprimento da cauda (CC), rostro-cloaca (CRC), e total (CT), de girinos de *P. cuvieri*, após sete dias de exposição às amostras de ambientais (água +sedimento) recolhidas nos sete locais de estudo (C1, C2, R1, R2, R3, R4, C0) e ao controle. As barras de erro correspondem aos valores de desvios padrão. As letras a, b, c indicam grupos homogêneos dentro de cada parâmetros morfométricos. ----- 140

Figura 2.17: Média das medidas (mm) realizadas em girinos de *P. cuvieri* expostos, por um período de 7 dias (168 h), a oito tratamentos (mistura de água e sedimentos), de seis locais de estudo (expressos no gráfico), com base no CRC = comprimento do corpo; CC = comprimento da cauda; CT = comprimento total do girino. Dois controles foram empregados no teste, Ctrl (Controle) = réplicas controles em meio artificial Fetax (*hardwater*) mais areia esterilizada e o C0 = réplicas controles em meio artificial Fetax (*hardwater*) sem areia esterilizada. As barras de erro representam o desvio padrão. Os asteriscos representam locais que apresentaram medidas dos girinos naquele parâmetro (ou CRC ou CC ou CT), diferentes significativamente ( $p < 0,005$ ), quando comparados aos girinos do respectivo Controle - Ctrl. O estágio de desenvolvimento dos girinos 26 (Gosner, 1960).  
----- 141

- Figura 3.1: Valores Médios de  $\delta^{13}\text{C}$  e  $\delta^{15}\text{N}$  medidos em  $\delta$  ‰ na vegetação dos três locais (Natural, Agrícola e Pastagem), Formoso do Araguaia, estado do Tocantins, Brasil. ----- 170
- Figura 3.2: Valores Médios de  $\delta^{13}\text{C}$  e  $\delta^{15}\text{N}$  medidos em  $\delta$  ‰ no sedimento dos três locais (Natural, Agrícola e Pastagem), Formoso do Araguaia, estado do Tocantins, Brasil. ----- 173
- Figura 3.3: Valores Médios de  $\delta^{13}\text{C}$  e  $\delta^{15}\text{N}$  medidos em  $\delta$  ‰ nos invertebrados (artrópodes) dos três locais (Natural, Agrícola e Pastagem), Formoso do Araguaia, estado do Tocantins, Brasil. ----- 175
- Figura 3.4: Valores Médios de  $\delta^{13}\text{C}$  e  $\delta^{15}\text{N}$  medidos em  $\delta$  ‰ nos girinos dos três locais (Natural, Agrícola e Pastagem), Formoso do Araguaia, estado do Tocantins, Brasil. ----- 176
- Figura 3.5: Elipse padrão bayesiana (SEAB) dos girinos dos três locais (Natural, Agrícola e Pastagem), Formoso do Araguaia, estado do Tocantins, Brasil. ----- 177
- Figura 3.6: Paisagens de dois locais (Natural e de Pastagem), Formoso do Araguaia, estado do Tocantins, Brasil. ----- 178
- Figura 3.7: Comparação dos valores Médios de  $\delta^{13}\text{C}$  e  $\delta^{15}\text{N}$  medidos em  $\delta$  ‰ dos anuros adultos comparados aos recursos analisados nos três locais (Natural, Agrícola e Pastagem), Formoso do Araguaia, estado do Tocantins, Brasil. 181
- Figura 3.8: Elipse padrão bayesiana (SEAB) dos anuros adultos dos três locais (Natural, Agrícola e Pastagem), localizados em Formoso do Araguaia, estado do Tocantins, Brasil. ----- 182
- Figura 3.9: A. Correlação entre os valores de  $\delta^{13}\text{C}$  e de CRC (comprimento rostro-cloacal) dos anuros adultos amostrados nos três locais (Natural, Agrícola e Pastagem), Formoso do Araguaia, estado do Tocantins, Brasil. B. Correlação entre os valores de  $\delta^{15}\text{N}$  e de CRC (comprimento rostro-cloacal) dos anuros adultos amostrados nos três locais (Natural, Agrícola e Pastagem), Formoso do Araguaia, estado do Tocantins, Brasil. ----- 183
- Figura 4.1: Média da mortalidade (%) ocorrida em girinos de *P. cuvieri* expostos, por um período de 96 h, a várias concentrações de Larvin® (expressas nos gráficos em mg/l de tiodicarbe). A. *P. cuvieri*, estágio 24G; B. *P. cuvieri*, estágio 25G. As barras de erro representam desvio padrão. ----- 216
- Figura 4.2: Média da mortalidade (%) ocorrida em girinos de *P. cuvieri* expostos, por um período de 96 h, a várias concentrações de Roundup Original® (expressas nos gráficos em mg e.a./l de glifosato). D. *P. azurea*, estágio 24G; E. *P. cuvieri*, estágio 24G; F. *P. cuvieri*, estágio 25G; G. *L. labyrinthicus*, estágio 26G; H. *P. cuvieri*, estágio 25G. As barras de erro representam o desvio padrão. ---- 220
- Figura 4.3: Valores das medidas medianas corpóreas (mm) e de biomassa (g) ocorrida em girinos de *P. cuvieri* expostos, por um período de 96 h, a várias concentrações de Score® (expressas nos gráficos em mg/l de difenoconazol). I. CCO = comprimento do corpo; J. CC = comprimento da cauda; K. CT = comprimento total do girino; L. M = biomassa. Ctrl (Controle) = réplicas controles em meio artificial Fetax *softwater*. As barras de erro representam o desvio padrão. ----- 227
- Figura 4.4: Média das medidas (mm) e de biomassa (g) ocorrida em girinos de *P. cuvieri* expostos, por um período de 96 h, a várias concentrações de Larvin®

(expressas nos gráficos em mg/ l de tiodicarbe). M. CCO = comprimento do corpo; N. CC = comprimento da cauda; O. CT = comprimento total do girino; P. M = biomassa. Ctrl (Controle) = réplicas controles em meio artificial Fetax (*softwater*). As barras de erro representam o desvio padrão. ----- 229

Figura 4.5: Média das medidas (mm) e de biomassa (g) ocorrida em girinos de *P. cuvieri* expostos, por um período de 96 h, a várias concentrações de Roundup Original® (expressas nos gráficos em mg e.a./ l de glifosato). M. CCO = comprimento do corpo; N. CC = comprimento da cauda; O. CT = comprimento total do girino; P. M = biomassa. Ctrl (Controle) = réplicas controles em meio artificial Fetax (*softwater*). As barras de erro representam o desvio padrão. ----- 232

Figura 4.6: Curva de distribuição de sensibilidade (linha laranja) de girinos de para níveis letais de Roundup®, com o respectivo intervalo de confiança a 95% (linhas cinzentas). Os valores apresentados correspondem a valores de concentração letal mediana de Roundup®, expressas em equivalente ácido de glifosato, após 96 horas de exposição. HC<sub>x</sub> = concentrações de perigo que afetam cinco, vinte e cinquenta por cento dos girinos de anfíbios. A unidade de medida utilizada para a HC foi miligramas por litro (mg/ l). ----- 236



## LISTA DE TABELAS

Tabela 2.1: Parâmetros analisados em amostras de água, solo e sedimento que foram recolhidas nos cinco locais da área de estudo, em Formoso do Araguaia - Tocantins, Brasil(2015 e 2016). ....	99
Tabela 2.2: Médias e desvios padrão (barras de erro) dos parâmetros físico-químicos das águas dos cinco locais de estudo (C1, C2, R1, R2, R3), Formoso do Araguaia - TO (2015). VA= Virtualmente ausentes. NA = Não informado. Análises realizadas pela Conágua Ambiental (relatórios de ensaios números 5336/15, 5337/15, 5338/15, 5339/15, 5340/15, Goiânia - Goiás. ....	110
Tabela 2.3: Resultados dos parâmetros físico-químicos das águas do local de captação no Córrego Papagaio, destinadas ao abastecimento urbano do município de Formoso do Araguaia, conforme laudos técnicos informados pela Odebrech/ Saneatins, para os anos de 2013 à 2015. As coletas e as referidas análises são de responsabilidade da Companhia de Saneamento do Tocantins - Odebrech/ Saneatins. VMP = Valor Máximo Permitido; NR = não regulamentado; VA = virtualmente ausente, LQ = limite de quantificação, NA = não analisado ou não informado. ....	112
Tabela 2.4: Resultados dos parâmetros físico-químicos do solo, caracterização dos cinco locais de estudo, Formoso do Araguaia - TO), 2016 .....	120
Tabela 2.5: Pesticidas detectados em sedimentos de dois locais de estudo (C1 e C2), Formoso do Araguaia - TO, (2016). Os compostos analisados são apresentados em miligramas por quilogramas (mg/ kg) e não há referência de Valor Máximo Permitido - VMP regulamentado pela legislação brasileira (Conama 420/ 2009). LQ = limite de quantificação do equipamento (HPLC-DAD) (laboratórios de análises ACS Laboratórios, em Goiânia - GO). ....	125
Tabela 2.6: Tipo de vegetação, identificada até ao taxon Família, predominante nos locais de estudo C1, C2 R1, R2 e em R3, Formoso do Araguaia, TO (2015 e 2016). ....	127
Tabela 2.7: Espécies de anfíbios anuros localizados nos cinco locais de estudo, na região de Formoso do Araguaia, Brasil (2015). ....	129
Tabela 4.1: Características físico-químicas do pesticida Cruiser®, de acordo com o rótulo do produto adquirido para realização dos ensaios e informação sobre autorização de uso no Brasil e Europa (EU). ....	204
Tabela 4.2: Características físico-químicas do pesticida Score®, de acordo com o rótulo do produto adquirido para realização dos ensaios e informação sobre autorização de uso no Brasil e Europa (EU). ....	205
Tabela 4.3: Características físico-químicas do pesticida Larvin®, de acordo com o rótulo do produto adquirido para realização dos ensaios e informação sobre autorização de uso no Brasil e Europa (EU). ....	205
Tabela 4.4: Características físico-químicas do pesticida Roundup Original®, de acordo com o rótulo do produto adquirido para realização dos ensaios e informação sobre autorização de uso no Brasil e Europa (EU). ....	206
Tabela 4.5: Condições experimentais utilizadas nos ensaios ecotoxicológicos em que se expuseram girinos das espécies <i>Phyllomedusa azurea</i> , <i>Physalaemus cuvieri</i> e <i>Leptodactylus labyrinthicus</i> , às formulações comerciais dos pesticidas Cruiser®, Score®, Larvin® e Roundup Original®. As concentrações testadas estão apresentadas para o ingrediente ativo (i.a.) no caso das primeiras três formulações comerciais e para equivalente ácido (e.a.) no caso de Roundup®. A quantidade de réplicas é representada por R. A composição do Fetax empregado em cada teste (Hardwater ou Softwater), conforme descrito no item 2.4 (Material e Métodos). ....	212

Tabela 4.6: Parâmetros físico-químicos monitorados nas soluções dos ensaios de toxicidade realizados, Tocantins (2016/ 17). .....	214
Tabela 4.7: Valores de concentrações letais medianas (CL50), com os respectivos Intervalo de Confiança a 95% (I.C.), obtidos após uma exposição de 96 h de girinos de <i>Physalaemus cuvieri</i> , <i>Phyllomedusa azurea</i> e <i>Leptodactylus labyrinthicus</i> , às formulações comerciais Score® e Roundup Original®. Todos os valores estão em mg/ l, sendo (e.a.) de glifosato e (i.a.) de difenoconazol. ....	215
Tabela 4.8: Valores de concentrações subletais medianas de efeito não observável - CENO e de efeito observável - CEO, obtidos após uma exposição de 96 h de girinos de <i>Physalaemus cuvieri</i> , às formulações comerciais, Score®, Larvin® e Roundup Original®. Todos os valores estão em mg/ l, sendo (e.a.) de glifosato e (i.a.) de difenoconazol, sendo que os dois primeiros compostos estão em (i.a.) e o Roundup Original® em (e.a.) de glifosato. ....	225

## SIGLAS/ ABREVIATURAS

<b>ANA</b>	Agência Nacional de Águas e Saneamento Básico
<b>ANVISA</b>	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
<b>B1wA'a'</b>	Classificação climática de <i>Köppen</i> e de <i>Thorntwaite</i> , correspondente ao tipo úmido, com moderada deficiência hídrica
<b>C2w2A'a'</b>	Classificação climática de <i>Köppen</i> e de <i>Thorntwaite</i> , correspondente ao tipo subúmido, megatérmico, com grande deficiência hídrica no inverno e concentração de 30,3% da evapotranspiração potencial no trimestre setembro-outubro-novembro
<b>C2wA'a'</b>	Classificação climática de <i>Köppen</i> e de <i>Thorntwaite</i> , correspondente ao tipo subúmido, com moderada deficiência hídrica no inverno
<b>C<sub>3</sub></b>	Ciclo do Carbono terciário
<b>C<sub>4</sub></b>	Ciclo do Carbono quaternário
<b>CC</b>	Comprimento da cabeça
<b>CENA</b>	Centro de Energia Nuclear na Agricultura
<b>CF</b>	Comprimento do fêmur
<b>CONAMA</b>	Conselho Nacional do Meio Ambiente
<b>CP</b>	Comprimento da pata
<b>CRC</b>	Comprimento rostro-cloacal
<b>CRC</b>	Comprimento rostro-cloacal
<b>DIN</b>	Distância internasal
<b>DIO</b>	Distância interorbital
<b>DNO</b>	Distância narina-olho
<b>DO</b>	Diâmetro do olho
<b>DT</b>	Diâmetro do tímpano
<b>EMBRAPA</b>	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

<b>g</b>	grama
<b>ha</b>	Hectares
<b>hab.km<sup>2</sup></b>	Habitante por quilômetro quadrado
<b>IBAMA</b>	Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis
<b>IBGE</b>	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
<b>INPA</b>	Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia
<b>INPE</b>	Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais
<b>IUCN</b>	International Union for Conservation of Nature and Natural Resources
<b>kg</b>	quilograma
<b>km</b>	quilômetro
<b>km<sup>2</sup></b>	Quilômetros quadrados
<b>l</b>	Litro
<b><i>L. latrans</i></b>	<i>Leptodactylus latrans</i>
<b>LC</b>	Largura do corpo
<b>LC</b>	Largura da cabeça
<b>ml</b>	Mililitro
<b>mm</b>	Milímetro
<b>SEMADES</b>	Secretaria do Meio Ambiente e Recursos Hídricos
<b>SEPLAN</b>	Secretaria do Planejamento do Estado do Tocantins
<b>UA</b>	Universidade de Aveiro
<b>UFG</b>	Universidade Federal de Goiás
<b>UFT</b>	Universidade Federal do Tocantins
<b>UNB</b>	Universidade de Brasília
<b>UNEMAT</b>	Universidade Estadual de Mato Grosso

<b>UNESP</b>	Universidade Estadual Paulista
<b>USP</b>	Universidade de São Paulo
<b>δ</b>	Delta
<b>δ<sup>13</sup>C</b>	Isótopo 13 do Carbono
<b>δ<sup>14</sup>N</b>	Isótopo 14 do Nitrogênio
<b>C1</b>	Antropizado 1
<b>C2</b>	Antropizado 2
<b>C3</b>	Antropizado 3
<b>R1</b>	Referência 1
<b>R2</b>	Referência 2
<b>R3</b>	Referência 3
<b>R4</b>	Referência 4
<b>CTRL</b>	Controle
<b>CL<sub>50</sub></b>	Concentração Letal Média
<b>e.a.</b>	Equivalente ácido
<b>i.a.</b>	Ingrediente ativo
<b>sp.</b>	Espécie
<b>UVB</b>	Ultravioleta B
<b>m<sup>3</sup>/s</b>	Metros cúbicos por segundo
<b>hm<sup>3</sup></b>	Hectômetros Cúbicos
<b>vs.</b>	Versus
<b>μl</b>	Microlitro
<b>°C</b>	Grau Celsius/centígrado
<b>ml/min</b>	mililitros por minuto
<b>CG</b>	Cromatógrafo a gás
<b>KMO</b>	Kaiser-Meyer-Olkin

<b>H<sup>2</sup></b>	Gás hidrogênio
<b>VMP</b>	Valor Máximo Permitido
<b>APP</b>	Área de Proteção Ambiental
<b>m</b>	Metros
<b>Mg<sup>2+</sup></b>	Íon de magnésio
<b>Ca<sup>2+</sup></b>	Íon de Cálcio
<b>Al<sup>3+</sup></b>	Alumínio
<b>cmol<sub>c</sub>/dm<sup>3</sup></b>	Centimol/decímetro cúbico
<b>CTC</b>	Capacidade de troca catiônica
<b>m</b>	Saturação por alumínio
<b>Mg/dm<sup>3</sup></b>	Microgramas por decímetro cúbico
<b>m.o.</b>	Matéria orgânica
<b>P</b>	Fósforo
<b>K</b>	Potássio
<b>pH</b>	Potencial hidrogeniônico
<b>V%</b>	Saturação de bases
<b>LQ</b>	Limite de quantificação
<b>HPLC-DAD</b>	Cromatografia líquida de alta eficiência, (do inglês, high performance liquid chromatography)
<b>NR</b>	Não regulamentado
<b>NA</b>	Não analisado ou não informado
<b>VA</b>	Virtualmente ausente
<b>‰</b>	Permilagem
<b>%</b>	Porcentagem
<b>NaCl</b>	Cloreto de sódio
<b>NaHCO<sub>3</sub></b>	Bicarbonato de sódio

<b>KCl</b>	Cloreto de potássio
<b>CaCl<sub>2</sub></b>	Cloreto de cálcio
<b>CaSO<sub>4</sub></b>	Sulfato de cálcio
<b>MgSO<sub>4</sub></b>	Sulfato de magnésio
<b>G</b>	Gosner (estágio do girino)
<b>h</b>	Horas
<b>ANOVA</b>	análises de variância
<b>CENO</b>	Concentrações de efeitos não observável
<b>CEO</b>	Concentrações de efeitos observável
<b>SSD</b>	Distribuição de sensibilidade de espécies
<b>HC</b>	Concentrações de perigo
<b>POEA</b>	Surfactante polioxietileno amina
<b>CCO</b>	comprimento do corpo
<b>CC</b>	comprimento da cauda
<b>CT</b>	comprimento total

## CAPÍTULO I

### INTRODUÇÃO GERAL E OBJETIVOS DA TESE



## 1. INTRODUÇÃO

A contaminação ambiental advinda da aplicação indiscriminada de pesticidas constitui uma das maiores preocupações a nível mundial. No entanto, o seu uso na agricultura tem sido considerado como fundamental para a erradicação de insetos e outras pragas que comprometem a produção das plantações. Esse motivo, num contexto global, tem levado à dependência da atividade agrícola, desses compostos químicos. Impulsionado pela produção de alimentos, o consumo de pesticidas tem crescido substancialmente e, conseqüentemente, o seu uso excessivo e indevido (Ecobichon, 2001), tem contribuído para a contaminação de ecossistemas adjacentes aos campos agrícolas.

O Brasil é um dos países que mais uso faz destes produtos (Rodríguez, 2016). O primeiro registro do uso de compostos organoclorados, na agricultura brasileira, foi em 1946. A disponibilidade de solos férteis, abundância de recursos hídricos, clima favorável (Brasil, 1997, 2017; Martins et al., 2013; Noletto Jr., 2005; Tobergte & Curtis, 2010), assim como outros fatores, de fato, favorecem o desenvolvimento agrícola nesta região do globo (IPEA, 2010; Diniz-filho et al., 2009).

O crescimento econômico do país, nos anos 70 proporcionou maior renda per capita, expansão demográfica e ampliação da produção e das exportações de alimentos. A abertura de novas áreas foi considerada uma importante medida para a expansão da agricultura para as quais a região do Cerrado, logo se despontou como a mais indicada, não só por se encontrar no interior do país, apresentar baixa densidade demográfica e terras baratas mas, sobretudo por sua aptidão às atividades agropecuárias (Brasil, 2009).

### 1.1. Características do Tocantins e Cerrado

Embora pertença formalmente à região Norte, o estado do Tocantins encontra-se na zona de transição geográfica entre o domínio Cerrado e a Floresta Amazônica. Dos cinco grandes tipos de vegetação que formam as fisionomias vegetacionais (Resende et al., 2004) que cobrem o país, o Tocantins apresenta duas delas: a Floresta Amazônica de terra firme, ou Floresta Ombrófila, e a Savana,

denominados, respectivamente, de Biomas Amazônia e de Cerrado (Batalha, 2011; Coutinho, 2006). Além dessas regiões, ocorrem as Áreas de Tensão Ecológica ou de Contato entre tipos de vegetação e as Formações Pioneiras. Essas últimas, quase sempre, correlacionadas com ambientes aquáticos. Sendo a região subdividida em dois domínios: o amazônico e o extra-amazônico (Silva, 2007).

A agricultura praticada em solo de Cerrado é vista como muito lucrativa, motivo que promove a continuidade de sua expansão em ritmo acelerado. A demanda por melhorias da infraestrutura para baratear os custos de transporte da safra agrícola, também tem impactado, significativamente, o Cerrado (Klink & Machado, 2005). Até 2002, aproximadamente 55 % da área original desse bioma brasileiro havia sido desmatada para atividades agropecuárias, permanecendo inalterada apenas 34,2% (Machado et al., 2004).

A prática intensiva do solo adotada pelo país, em prol de maior produtividade agrícola tem promovido a transformação antrópica do Cerrado de forma prejudicial, já que geralmente, acarreta a compactação significativa do solo, compromete as funções vitais dos ecossistemas e tornando- o solo improdutivo (Brasil, 2007; Brady & Weil, 2002).

A partir da improdutividade do solo, os produtores agrícolas migram de área em área, na busca por solos férteis, e para tanto, desmatam novas áreas principalmente, de Cerrado, para a continuidade do cultivo agrícola. Dessa maneira, colocam em risco não só espécies da flora mas, da fauna além de, comprometer a qualidade das águas e do ar (Primavesi, 2002).

O desmatamento acumulado em 2002, ficou em torno de 89 milhões de hectares, com destaque para as lavouras e a pecuária (Brasil, 2009), principalmente para plantio de soja, cana-de-açúcar e produção de carvão vegetal para abastecimento de siderúrgicas estão entre as maiores motivações (Klink & Machado, 2005).

O Cerrado está responsável por 5% da biodiversidade do planeta. Ao mesmo passo que é considerado uma das savanas mais ricas do mundo, se torna um dos mais ameaçados do Brasil (Brasil, 2009), devido aos impactos ocasionados pelo manejo inadequado (Lion et al., 2011; Maffei, 2014; Miguel & Melo, 2016; Quirino et al., 2017; Sano et al., 2008; Santos, 2000; Scariot et al., 2005; Valdujo et al.,

2012). O bioma de Cerrado, foi enquadrado como um dos *hotspots* mundiais de conservação, em razão de sua elevada diversidade biológica e forte ação antrópica (Ribeiro et al., 2020; Brasil, 2017).

A ocupação desordenada de áreas desse bioma, antes intocadas, com a finalidade de gerar outros tipos de valores, tem destruído sua biodiversidade, os quais são geralmente, demandados por consumidores urbanos, muitas vezes pertencentes a outra ecorregião diferente, inclusive, de fora do país (Klink & Machado, 2005).

As consequências desses impactos negativos e, muitas vezes significativos, tem transformado a estrutura ecológica do Cerrado. Dentre as principais ameaças à biodiversidade estão: a erosão do solo, a degradação de vegetação e a invasão biológica causada por gramíneas (de origem africana). Embora seja um ecossistema adaptado ao fogo, o uso do fogo para a abertura de áreas e para estimular o rebrotamento das pastagens também pode ser prejudicial (Klink & Machado, 2005).

Do total de 5,5 milhões de toneladas de carvão vegetal produzido no Brasil em 2005, 34,5% foram oriundos da vegetação nativa do Cerrado. Ademais, considerando o total de áreas desmatadas, 54 milhões de hectares ocupados por pastagens cultivadas e 21,56 milhões de hectares por culturas agrícolas (Brasil, 2009).

Além das condições ambientais intrínsecas observadas no bioma Cerrado, as variáveis como: a baixa umidade e precipitação no chamado “período seco”, aliado às altas taxas de temperaturas, neste período, mostram que os municípios tocantinenses com maiores áreas queimadas, estiveram associados também com maiores Produtos Interno Bruto - PIB da agropecuária e menores PIB de serviços e indústria e número de habitantes (Neves, 2016).

O Cerrado ocupa 91% do território tocantinense. Em detrimento de quase todo o estado estar coberto por Cerrado, associado aos costumes de uso de fogo no manejo deste, o Tocantins frequentemente, é classificado como o estado brasileiro com maiores registros de focos de queimadas (36,5%), perdendo somente para a Floresta Amazônica, com 49% de registro de focos de calor (Tocantins, 2012b; Silva & Almeida, 2007).

O sistema de zona climática é um dos esquemas de classificação climático amplamente aceito para o Tocantins, com nove grandes divisões, baseados no curso anual de temperatura e precipitação, que corresponde às condições de estresse de umidade e frio que são especialmente determinantes das formas de vegetação existentes (Ricklefs, 2003). Em decorrência de diferenças climáticas tem-se o desenvolvimento de diferentes biomas florestais (Klink & Machado, 2005).

Trata-se de um bioma de destaque em regiões tropicais, devido à sua diversidade, principalmente aquela ainda tida por desconhecida, amplificando para as consequências de relações com atividades antrópicas e mudanças climáticas vivenciadas, lembrando que este cobre praticamente 100% das terras do estado do Tocantins. Arelado ao Cerrado está a disponibilidade em abundância de recursos hídricos além de rica fauna e flora (Tocantins, 2012a).

As regiões fitogeográficas do Tocantins são: Cerrado com 169.139,46 km<sup>2</sup> (60,90%), Floresta Estacional 46.095,35 km<sup>2</sup> (16,60%), Floresta Ombrofila com 21.262,90 km<sup>2</sup> (7,70%), Tensão Ecológica - Ecótono Florestal Estacional/ Floresta Ombrofila - com 5.099,91 km<sup>2</sup> (1,80%), Tensão Ecológica - Encrave Cerrado/ Floresta Estacional - com 32.006,67 km<sup>2</sup> (11,50%), e Formações Pioneiras com 809,39 km<sup>2</sup> (0,30%) (Matteo et al., 2016).

Apresenta clima estacional, com mais de cinco meses secos, e é revestido por solos lixiviados e aluminizados. Comporta formações vegetais de estrutura campestre, savânica ou florestal. Entre as formações savânicas têm o campo-limpo (Savana gramíneo-lenhosa), e o campo-sujo. Os subtipos savânicos caracterizam-se por uma camada rasteira predominantemente herbácea e por uma cobertura lenhosa que varia de 5 a 20% em áreas de Cerrado ralo (savana parque); de 20 a 50% em Cerrado Típico (savana arborizada), e de 50 a 70% em Cerrado Denso (savana arborizada). O Cerrado Rupestre (savana arborizada), desenvolve-se em afloramento rochoso. Nas planícies inundáveis do estado desenvolve-se o Parque de Cerrado (savana parque). As Veredas são formações savânicas que ocupam as cabeceiras (nascentes) dos corpos hídricos. O Cerradão (savana florestada) é considerado uma formação florestal e ocorre em menor proporção em relação às demais fitofisionomias de Cerrado dentro do Tocantins (Tocantins, 2012b).

A consciência da riqueza ambiental e cultural do Cerrado aumenta a cada dia e o apelo para a sua proteção é muito forte, a fim de que encontre nas ações do Poder Público uma atenção condizente com sua diversidade, fragilidade, exuberância e importância (Brasil, 2009) e os desdobramentos da atividade agrícola contribuem significativamente, para fortalecimento dos danos sob os ecossistemas.

Entre ecossistemas constituídos por comunidades diferentes há uma zona de transição, conhecida por ecótono, onde são encontrados exemplares das comunidades limítrofes, além das espécies da própria região (Klink & Machado, 2005). O ecótono Cerrado-Amazônia no Tocantins, por exemplo, abrange 4,85% do país. As diferentes espécies da flora e da fauna se desenvolvem nas regiões climáticas onde melhor se adaptam. Portanto, são neles que estão reunidas características de diversos biomas e identidades próprias passando a merecer atenção especial de conservação ambiental (Brasil, 2017).

Um dos principais desafios do milênio tem sido conciliar desenvolvimento econômico com o uso sustentável da biodiversidade (Queiroz et al., 2006). Mesmo com todos os alertas que têm sido dados sobre a perda da biodiversidade, existem registros que 13 milhões de hectares de terra são convertidos (principalmente, de áreas com florestas) em agrossistemas, em todo o mundo. Ao comparar a agricultura convencional com a tradicional, registra-se que a convencional impacta mais a diversidade de Hymenoptera: Formicidae, do que a tradicional (Queiroz et al., 2006; Araújo & Ribeiro, 2005).

Outro impacto indireto da agricultura sobre a fauna é a fragmentação florestal devido a remoção da cobertura vegetal natural que altera a qualidade do ambiente, a partir da redução da fauna em geral, modifica a riqueza e composição de espécies de habitats, a exemplo de grupos de invertebrados (Hymenoptera: Formicidae) que compõem a cadeia alimentar de anfíbios (Andresen, 2003; Lewinsohn et al., 2005; Philippi-Jr. & Pelicioni, 2005; Miranda, 2016).

Alterações da qualidade do ambiente podem ocorrer no Tocantins em função da fragmentação da vegetação tendo em vista que contínuos processos de desmatamento e queimadas, ocorrem para a expansão de atividades econômicas (por exemplo a exploração madeireira e agrícola).

Em função do Ecótono (entre Cerrado e Floresta Amazônica) se fazer presente do estado do Tocantins, assim como ser expressivo em termos de diversidade de espécies, (Ibama, 2017; Haidar et al., 2013; Tocantins, 2017), percebe-se que os anfíbios dessa localidade são expostos à ações antrópicas. Cerca de 109 espécies de anfíbios anuros, associados ao Cerrado, registrados para o estado de Goiás e no Distrito Federal. No entanto, para o Tocantins, esse número ainda é bem menor, menos de 40 espécies registradas (Vaz-Silva et al., 2020; Valdujo et al., 2011; Tocantins, 2006). É possível que atividades agropecuárias estejam influenciando na riqueza e diversidade das espécies de anfíbios tanto no Cerrado quanto no Ecótono tocantinense (Ribeiro et al., 2020).

A maioria das espécies de anfíbios anuros estão ativos durante o período chuvoso, que geralmente é marcado de setembro à março. A sazonalidade dos índices pluviométricos, no bioma do Cerrado do Tocantins é claramente definido por: período chuvoso (se estende de outubro a abril) e período seco (maio a setembro) (Marcuzzo et al., 2011; Batalha et al., 2005). Os anfíbios habitam ambientes sazonais, como no bioma Cerrado dessa região (Vaz-Silva et al., 2020; Nomura et al., 2012).

Nos trópicos, a zona climática tropical do estado é distinguida da zona climática equatorial pela ocorrência de falta de água durante uma estação seca pronunciada. As zonas climáticas subtropicais são permanentemente carentes de água. A vegetação típica dessas três zonas climáticas é floresta pluvial perene, a floresta decídua ou savana e o arbusto de deserto, respectivamente (Ricklefs, 2003).

O estado do Tocantins representa um dos 26 estados, mais o Distrito Federal que compõem o Brasil, com área de 277.620,914 km<sup>2</sup> representa 3,26% do território nacional e 7,2% da região Norte do país. Com superfície inserida na Amazônia Legal equivale aproximadamente à 97,9% de sua área total. Politicamente, dividida em regiões, conta com 18 regiões administrativas, sendo que Palmas, Porto Nacional e Monte do Carmo fazem parte da IX – região metropolitana de Palmas (20.154,438 km<sup>2</sup>) (Tocantins, 2012b).

A capital Palmas foi criada em 20 de maio de 1989 (Aires-Dourado, 2004), situada em posição central no estado, à margem direita do rio Tocantins, é cercada

pelos serras do Carmo e do Lajeado. Conta com uma área de 2.218,934 km<sup>2</sup>, população de 235.316 habitantes (Senra, 2014), taxa de crescimento de 5,02 e densidade demográfica em 106,05 hab.km<sup>2</sup> (Seplan, 2012). Em outubro de 2020, o Tocantins completou 33 anos de emancipação política, junto com a promulgação da Constituição Federal, sendo a mais jovem unidade federativa do país.

O Tocantins possui a maior área contínua de várzea tropical do Brasil (1,2 milhão de hectares), localizada no Vale do Javaés, um solo de alta fertilidade e capacidade de irrigação, que abre oportunidade para até três safras por ano. Com essas características edafoclimáticas apresentadas pelo estado do Tocantins, favorece a produção agrícola. A exemplo, o estado é o terceiro maior produtor de arroz irrigado do Brasil e a expectativa é de que a produção aumente mais 21,83 mil toneladas. As várzeas são excelentes para o cultivo de frutas, soja, arroz, feijão e milho, além de produzirem sementes naturalmente saudáveis (com destaque para a própria soja). Considerando a safra 2010/2017, o Tocantins estimou ter área plantada de 1,3 milhões de hectares (1.376), um aumento de 12,1%, com relação à safra anterior. Já a produção, que teve perdas de cerca de 30% no ano passado, para esta safra a expectativa é recorde, de aumento 55,2% saindo de 2,9 milhões de toneladas (2.931,2) para 4,5 milhões (4.549,40) (Tocantins, 2016; Tocantins, 2002).

No Tocantins há três tipos climáticos, (i). B1wA'a' – Do tipo úmido, com moderada deficiência hídrica, abrange considerável área do estado, maior parte da região norte e parte da região sudoeste; (ii). C2wA'a' – subúmido, com moderada deficiência hídrica no inverno, domina a maior área do território tocantinense, desde parte da região norte, toda a faixa central, as regiões leste e oeste até parte da região sul (centro); (iii). C2w2A'a' – Subúmido, megatérmico, com grande deficiência hídrica no inverno e concentração de 30,3% da evapotranspiração potencial no trimestre setembro-outubro-novembro. É o tipo que compreende a menor área, com ocorrência apenas na parte da região sudeste. De modo geral, o clima do estado é tropical, quente, variando em transição de úmido a subúmido seco do oeste para o leste do estado. A distribuição sazonal das precipitações pluviais está bem caracterizada, apresentando dois períodos durante o ano: a

estação chuvosa, entre outubro e abril, e a estação seca, entre maio e setembro. A precipitação média anual varia de 1.300 a 1.500 mm (Matteo et al., 2016).

Considerado a Mesopotâmia brasileira, o estado está totalmente inserido na bacia Araguaia-Tocantins, o colocando em situação vantajosa com relação aos seus recursos naturais. Dividido em 30 sub-bacias hidrográficas, as quais contribuem para a bacia dos dois principais rios, sendo 14 sub-bacias pertencentes ao sistema hidrográfico do Tocantins (ocupando 62% do território), e 16 sub-bacias pertencentes ao sistema hidrográfico do rio Araguaia. Dentre os oito principais rios, em razão de seu porte, está o rio Formoso. Sua bacia hidrográfica ocupa 7,44% da área do estado e sua bacia possui 20.791,79 km<sup>2</sup> (Matteo et al., 2016). O relevo do estado é predominantemente formado por planícies em altitudes máximas de 500 metros, e na maioria das vezes são encontrados planaltos, patamares e depressões com pouca variação de altitude em relação ao nível do mar (Matteo et al., 2016).

A diversidade de solos observados no Tocantins determina, em parte a aptidão para o uso das terras. Sendo as classes de solo mais representativas: Plintossolos, Neossolos, Latossolos, Argissolos, Gleissolos, Cambissolos, Nitossolos, Luvisolos, Planossolos, afloramentos de rochas, Chernossolos, e dunas. Os Plintossolos cobrem aproximadamente 35% do estado, cerca de 23% na bacia do rio Tocantins (Matteo et al., 2016).

O surgimento de pragas significa que o ambiente está favorável e ao modificar este meio fá-las desaparecer ou, no mínimo dificulta a sua multiplicação. A medida que se promove o controle de pragas, entende-se que condições adversas à sua multiplicação são criadas, como por exemplo, rotação de culturas, culturas protetoras, sombreamento do solo por cobertura morta na época de seca, a adubação fosfatada e calagem, o suprimento adequado com potássio, a incorporação superficial dos restos de culturas são medidas capazes de controlar eficazmente bactérias, fungos, nematóides e insetos. Deve-se almejar um número grande de espécies de seres vivos do solo com número reduzido de exemplares dentro de cada uma, evitando-se a proliferação de parasitas (Primavesi, 2002).

No estado do Tocantins, está reunido um mosaico de habitats contrastantes de ambientes abertos e florestais assim como úmidos e secos,



uma heterogeneidade ambiental do Cerrado, que têm sido bastante utilizados para explicar a riqueza e distribuição da herpetofauna. As espécies possuem exigências ecofisiológicas diferenciadas, os limites de nichos inerentes de cada organismo promovem um gradiente de distribuição das espécies. Além disso, a descontinuidade dos habitats ajudam a explicar a existência de espécies anfíbios com distribuição descontínua que as áreas agrícolas existentes no estado tem imposto (Ribeiro et al., 2017; Campos et al., 2013).

Em decorrência disso, maior esforço para a conservação ambiental no Tocantins deve ser realizado. As características históricas e fitofisionômicas/ biogeográficas podem influenciar na riqueza e abundância local das populações de anfíbios. A correlação entre clima, riqueza e a energia disponível no ambiente, podem ainda ser caracterizados como fatores limitantes ao comportamento e distribuição espacial de uma espécie. Para tanto, é necessário compreender a influência dessas características na estruturação das populações de anfíbios, associadas aos conhecimentos prévios sobre os fatores abióticos e bióticos, a sistemática das relações e como esses fatores podem influenciar os padrões de riqueza e abundância local, assim como, o uso dos recursos e as atividades dos anfíbios ao longo do ano.

## **1.2. Uso da ecologia isotópica para compreensão do ecossistema**

No âmbito de alterações promovidas à cobertura vegetal do solo, em prol da expansão da agricultura, a presença de resíduos de pesticidas tem sido registrada inclusive na vegetação natural e/ ou plantada, pode ter como ferramenta de investigação a ecológica isotópica a fim de caracterizar os fragmentos florestais cercados por zonas agrícolas a fim de precisar a interferência.

Muitos estudos desenvolvidos consideram a ecologia isotópica, principalmente, por meio dos isótopos de carbono, nitrogênio, para uma melhor compreensão dos ecossistemas. A partir do isótopo de carbono é passível de se determinar a origem da matéria orgânica particulada na coluna de água ou no sedimento de fundo de um corpo hídrico, bem como entender relações tróficas em teias alimentares. Já a partir do isótopo estável de nitrogênio em macrófitas

contribui para diagnosticar a existência de poluição em ecossistemas (Carvalho, 2008).

Os elementos considerados isótopos estáveis (carbono, nitrogênio, enxofre, hidrogênio e oxigênio), estão presentes nos ecossistemas e, são considerados ferramentas úteis a pesquisadores em estudo dos ciclos de matéria e energia no ambiente. O seu uso em estudos ambientais baseia-se no fato que a composição isotópica varia de uma forma previsível, conforme o elemento cicla no ecossistema (Martinelli et al., 2009). Sua distribuição natural reflete, de forma integrada, a história dos processos físicos e metabólicos do ambiente (Pereira, 2001).

Os isótopos estáveis podem ser definidos como elementos atômicos que possuem um mesmo elemento químico e massas diferentes pelo fato do número de nêutrons em seus núcleos ser distinto. São considerados do tipo estáveis devido ao fato de a sua massa não se alterar ao longo de sua existência, como é o caso dos instáveis ou radioativos que mudam suas massas, por emissão de energia ou partículas subatômicas (Martinelli et al., 2009).

A composição de isótopos estáveis traduz-se em informações sobre a dieta do indivíduo de longo tempo, assim a variação isotópica entre indivíduos pode ser interpretada como a variação da dieta alimentar (Pereira, 2001). De qualquer maneira, as variações de isótopos populacionais sozinhas não podem ser diretamente comparadas entre as populações, pois depende tanto do nível de variação da dieta quanto, da variância das razões dos isótopos das presas (Layman et al., 2012).

A análise de isótopos de Carbono ( $\delta^{13}\text{C}$ ) e de Nitrogênio ( $\delta^{14}\text{N}$ ) em detritos, vegetação circundante e componente faunísticos da comunidade, além de organismos em estudo é recomendada para se determinar a localização dos registros isotópicos (Raz-Guzman et al., 1993).

No âmbito das alterações promovidas pela agropecuária ao ambiente, no que diz respeito ao uso de pesticidas objetivando a produção de alimento em grandes quantidades (Rajaguru et al., 2001). Em atendimento às demandas, ainda que mal distribuídas mundialmente, resíduos de agrotóxicos tem sido detectados em alimentos resultantes de produção agrícola (Brasil, 2014; Macagnan et al., 2012; Carneiro et al., 2015; Garcia, 1996).

No contexto da presente tese, o uso desta metodologia isotópica, em populações de anfíbios é pertinente e vantajosa para avaliar possíveis alterações em populações naturais de anfíbios devido a exposição a pesticidas usados na agricultura. Contudo, foi desenvolvido um método que permite aplicar anuros para converter variâncias de isótopos de população em um índice padronizado de especialização individual, que pode ser comparado entre populações, ou a variação de conteúdo de intestino. O método é sensível à amostragem incompleta da presa e à variação entre indivíduos no fracionamento. Portanto, é necessário que se tenha uma amostragem completa de presas e estimativas de variância de fracionamento. Caso contrário, o método é direto e fornece uma nova ferramenta para quantificar a variação da dieta individual em populações naturais, que combinando o conteúdo do intestino como os dados dos isótopos (Araújo et al., 2007).

As plantas de ciclo  $C_3$  desempenham um papel relevante na dieta de anfíbios anuros, conforme exemplificado para a espécie *Leptodactylus latrans*, amplamente distribuídas no estado do Tocantins. Os valores de  $\delta^{13}C$  dos indivíduos de *L. latrans* de habitat natural quando comparados a habitat em área agrícola, estão explorando recursos oriundos tanto de plantas  $C_3$  como de gramíneas  $C_4$  em ambas as áreas. Tomando por base que *L. latrans* é uma espécie oportunista, podem apresentar influência da agricultura ou da pastagem no tipo de alimentação praticado (já que são animais generalistas). No entanto, a espécie não apresentou diferenças significativas na dieta em função das variações existentes para o uso do tipo agrícola com arroz irrigado (Miranda & Malvasio, 2013).

A composição de nitrogênio em floresta tropical e em floresta temperada varia de acordo com a profundidade do solo, ou seja, quanto mais profundo menor será o valor de Nitrogênio. Os solos de florestas tropicais são pobres em nitrogênio disponível para a maioria do sistema solo-planta e demonstraram valores menores que os solos de florestas temperadas (Alves et al., 2005; Primavesi, 2002; Santos & Câmara, 2002; Potafos, 1998). Comparando solos de florestas de várzeas e de terra firme os valores de nitrogênio não apresentaram diferenças significativas, entretanto, em solos de florestas de campina acusou valores ao qual se atribui a presença de plantas com alta capacidade de fixação de nitrogênio, a exemplo das leguminosas, bem como a formação dos solos de várzeas serem formados e

renovados a cada ano pela carga de sedimento carregado pelas águas dos rios da Amazônia (Martinelli et al., 1999).

As atividades humanas têm aumentado a quantidade de nitrogênio inorgânico liberado nos ecossistemas, por meio da aplicação de fertilizantes na agricultura e em pastagem. Os excessos de nitrogênio são eventualmente, transportados para corpos d'água, onde podem na forma de nitrato, nitrito e amônio, atingir concentrações tóxicas para organismos aquáticos, inclusive a anfíbios tropicais (Jiquiriçá, 2010).

### **1.3. Efeitos de pesticidas em anfíbios**

Desde a década de 80, que a monitorização de populações de anfíbios ocorre a nível mundial. De acordo com Pough et al. (2008), o declínio mundial dos anfíbios, é alarmante especialmente, porque em muitos casos, não se sabe o motivo de determinada espécie ter desaparecido do local onde antes era abundante. Há cerca de 8.231 espécies de anfíbios identificados hoje (Amphibiaweb, 2020), e grande parte delas são estimadas existirem para o Brasil (Rossa-Feres et al., 2011). A Classe Amphibia, a nível mundial, é composta com 7.539 espécies, sendo que a Ordem Anura possui 6.671 espécies (de corpo curto e sem cauda, a maioria com adaptações para o salto); Caudata com 703 sp. (possuem cauda e aspecto de lagartos) e Gymnophiona com 205 sp. (sem patas, com aspecto de pequenas serpentes e hábito geralmente fossorial) (Frost, 2016; Pough et al., 1998; Duellman & Trueb, 1994).

Em 2016, o número de espécies reconhecidas subiu para 1.080 espécies ocorrentes no país: 1.039 Anuros; 5 Caudata; 36 Gymnophiona (SBH, 2016). A Lista Brasileira de Anfíbios está composta com 1.119 espécies de anfíbios reconhecidas até o ano de 2020, sendo: 1076 Anura; 5 Caudata; 38 Gymnophiona (Amphibiaweb, 2020). Esse aumento registrado em número de espécies de anfíbios demonstra o desconhecimento da real situação em termos da riqueza da diversidade que o país possui.

O uso do solo para a agricultura tem efeito sobre a ecologia reprodutiva dos anfíbios, ou seja, a agricultura pode modificar os sistemas naturais por meio da perda e fragmentação do habitat, bem como do efeito de agroquímicos em

características biológicas, como a reprodução. Dessa forma, os anfíbios anuros passam a utilizar micro-habitat em área agrícola, podendo ter modificados, tanto o habitat de reprodução quanto os períodos (Sanchez et al., 2013), antes regulados pelas chuvas.

Embora, boa parte das espécies registradas em área agrícola sejam características de fitofisionomias abertas, Campos et al., (2013), consideraram que áreas agrícolas apresentam elevada riqueza de espécies de anuros (*Rhinella schneideri*, *Dendropsophus melanargyreus*, *D. minutus*, *D. nanus*, *Hypsiboas geographicus*, *H. punctatus*, *H. raniceps*, *Scinax fuscomarginatus*, *S. fuscovarius*, *S. nebulosus*, *Physalaemus cuvieri*, *Leptodactylus fuscus*, *L. labyrinthicus*, *L. mystacinus* e *L. podicipinus*), justificada pela formação de corpos d'água temporários comumente, constituindo-se importantes refúgios para anurofauna, que são favorecidas com a criação desses micro-habitat (poças formadas em meio às culturas agrícolas), cercados por fragmentos de florestas tropicais.

O destino dos pesticidas depende das propriedades físico-químicas do ambiente, bem como da quantidade e frequência de uso, métodos de aplicação, características bióticas, abióticas e condições meteorológicas (Santos, 2014; Stefanello-Júnior et al., 2012; Moraes & Rossi, 2010; Scorza-Júnior, 2010).

Os estágios iniciais do desenvolvimento dos anuros (embriões e larvas/girinos) são de modo geral aquáticos enquanto os adultos são usualmente terrestres, portanto, envolvem diferentes vias de exposição aos pesticidas. No caso dos embriões, dada a ausência de cascas rígidas (dura), os deixam mais vulneráveis à contaminação via exposição de pesticidas. Já os girinos tornam-se mais expostos a contaminação por pesticidas tanto pela ingestão quanto por via dérmica. Na fase de adultos, uma vez que são terrestres, podem deslocar-se para os campos agrícolas, onde são expostos não só pelo contato com solo contaminado (ou ainda em água contaminada), mas também pelo contato direto (via epiderme), no momento da aplicação dos pesticidas (Weltje et al., 2017; Todd et al., 2011; Tatum, 2005; McDiarmid & Altig, 1999).

Algumas das causas apontadas como ameaças ao declínio dos anfíbios são: perda da fragmentação do habitat; estiagem prolongada; poluição, principalmente devido à exposição a pesticidas, (que os podem tornar mais vulneráveis a doenças

bacterianas, viróticas e fúngicas, e causar disfunção endócrina); a exposição de embriões ou jovens devido ao aumento da radiação ultravioleta provocado pela redução de ozônio na estratosfera ou ainda, em função de elevada intensidade de UV-B podem comprometer a viabilidade de embriões de anfíbios em lagoas rasas, sofrer efeitos adversos devido a exposição a parasitas; excesso de capturas; doenças viróticas e fúngicas; imigração natural ou introdução deliberada de predadores e competição (como peixes) com espécies não-nativas e organismos patogênicos (Brühl et al., 2011; Venturino et al., 1998).

No Brasil, uma das maiores causas de perda de diversidade de anfíbio é a perda de habitats já relatada anteriormente potenciada pelas políticas públicas que promovem o desenvolvimento de infraestruturas de transporte, energia e comunicações, diante da abertura de novas áreas para conversão, colonização e outros usos (Brandon et al., 2005).

Para Primavesi (2002), é ilógico combater uma determinada espécie (denominada de pragas agrícolas), quer seja da flora quer seja da fauna, erradicando-a do local e condições que a “originaram” em favor de outras espécies. Seria mais racional “manejar do que exterminar” e os pesticidas, vistos como indispensáveis para a maioria dos agricultores, só deveriam ser empregados em casos de emergência, mediante falha decorrida do manejo correto.

Basicamente, a dieta de anfíbios adultos consiste em ampla gama de invertebrados da água doce e terrestres. A maioria dos anfíbios são alimentadores oportunistas, com os tipos de presas capturadas, muitas vezes dependentes da disponibilidade e sazonalidade. Enquanto, boa parte consome apenas invertebrados, outros maiores, como *Pyfcicephus adspersus Africano*, podem capturar pequenos vertebrados, como: roedores, aves, répteis ou anfíbios. Já houve registro oportunisticamente, em restos de animais em decomposição, alimentos para animais de estimação, resíduos orgânicos e sucatas semelhantes. E poucos são os exemplos, em que o adulto também consome vegetais ou frutos. Os anuros arbóreos, *Xenohyla truncata* (adultos), consomem regularmente frutos pequenos e, algumas sementes (Piatti & Souza, 2011; Araújo et al., 2007; Stuart et al., 2008).

As larvas de anfíbios têm diversidade maior de mecanismos de alimentação e dieta do que o adulto. Boa parte dos anuros, durante a sua fase de desenvolvimento, alimentam-se através de órgãos altamente especializados que permitem filtrar os itens alimentares, estes órgãos são denominados armadilhas e filtros branquiais para coletar alimentos. O alimento preso é transportado dessas armadilhas para o esôfago por fios mucais (Rossa-Feres et al., 2004; Stuart et al., 2008; McDiarmid & Altig, 1999).

As larvas da Ordem Anura dividem-se tipicamente em dois grupos, os que se alimentam de matéria microscópica (microfágica) e os que se alimentam de itens maiores (macrófagos). As larvas microfagas ingerem alimentos como algas suspensas ou protistas e matéria orgânica em geral, e tendem a ter grandes armadilhas de alimentos branquiais. As larvas macrófagas geralmente, têm tanto armadilhas branquiais reduzidas como partes bucais queratinizadas, adaptadas para raspar e morder alimentos, incluindo tapetes de algas ou presas animais (incluindo outras larvas de anfíbios). Em contraste com os anuros, a maioria das larvas de Caudata e provavelmente, todas as larvas de Gymnophiona são carnívoras e se alimentam de invertebrados aquáticos (Altig et al., 2007; Rossa-Feres et al., 2004; Stuart et al., 2008; McDiarmid & Altig, 1999).

A alimentação de anuros adultos, como por exemplo das espécies *Rhinella ornata* (terrácola), é constituída basicamente, por Arthropoda e Coleópteros (Cassettari, 2012); para *Phyllomedusa azurea* (arborícolas) por Orthoptera e Araneae (Freitas et al., 2008), *Leptodactylus latrans* baseado no conteúdo estomacal de 37 espécimes procedentes do Rio Grande do Sul, teve sua dieta composta por 17 categorias de presas com 55% Coleoptera e 22,5% Araneae foram os itens mais frequentes e, volumetricamente, os itens mais importantes foram 15,68% Crustacea/ Decapoda e 13,75% Amphibia (Pazinato et al., 2011).

No tocante, à alimentação de larvas de anfíbios, situadas em corpos de água adjacentes a campos agrícolas, o solo de clima tropical geralmente, apresentam pouquíssimas espécies animais, predominando aqueles que têm capacidade de se desidratarem, de encistarem ou de sobreviver em forma de crisálidas. Se a umidade for excessiva, seja por água estagnante, seja por irrigação, a maioria dos animais

terrícolas não resistem e somente poucas espécies que suportem as condições de anaerobismo sobrevivem (Primavesi, 2002).

No contexto do uso de solo para agricultura, as alterações no habitat que ocorrem, nomeadamente o desmatamento, são muito destrutivas, comprometendo as populações de anfíbios do local uma vez que dependem de micro-habitat (frios e úmidos) no solo de florestas. A partir do momento em que há a retirada do dossel da floresta, a luz solar atinge o solo, gerando condições demasiadamente quentes e secas, prejudicando-os. Aliado a essa situação, ainda tem o uso de pesticidas agrícolas, drenado dos campos para os corpos de água onde ocorre a reprodução (Pough et al., 2008). Os proprietários rurais (grandes e médios) são responsáveis, por cerca de 70% do desmatamento entretanto, os sem-terra brasileiros são também importantes ameaças (Brandon et al., 2005).

A exposição de *Rana pipens* a concentrações de 0,1 partes por milhão produziu feminilização: 36% dos machos mostraram retardo no desenvolvimento gonadal e 29 % formaram oócitos em seus testículos (Hayes et al., 2002).

Uma vez que o ambiente agrícola oferta um habitat rico em alimento para muitas espécies, o uso constante de maneira errônea de diversos pesticidas, entre outros químicos agrícolas, além da persistência no ambiente de muitos compostos, compromete a saúde das populações de anfíbios (Mann et al., 2009). Inclusive, a exposição à poluentes ambientais mutagênicos podem alterar o perfil genético dessas populações (Amaral et al., 2018; Chenon et al., 2003; Carvalho et al., 2018).

A degradação de qualquer tipo de ecossistema inviabiliza os ciclos de vida dos anfíbios e as populações afetadas ficam comprometidas, talvez extirpadas (Gascon et al., 2007). Devido à grande quantidade de substâncias liberadas constantemente, no ambiente ultrapassa a capacidade dos sistemas para eliminar o excesso ou transformá-la. Os estudos sobre os efeitos de substâncias químicas sobre organismos terrestres se tornam mais complexos devido, aos fatores intrínsecos e extrínsecos, associados com os sistemas terrestres. Muitas espécies têm grande mobilidade, cobrindo áreas significativas quando defendem territórios, se alimentam, migram e se dispersam (Sisinno & Oliveira-Filho, 2013).

Em relação ao risco de contaminação de águas superficiais, o fungicida Score®, como por exemplo, apresenta alto potencial contaminante, podendo ser



transportado, dissolvido em água ou associados ao sedimento (Milhome et al., 2009). Considerando que os girinos possuem hábitos alimentares herbívoros, do tipo raspadores e filtradores (Dias, 2008; Prado, 2006; Silva, 2014; Amado, 2014), e podem permanecer em habitats aquáticos específicos por períodos mais longos que os anuros adultos (Pezzuti, 2011), portanto, sujeitos a maior chances de contaminação lixiviados de campos agrícolas.

Anfíbios, tanto na fase de girinos, quanto adultos, se mostraram suscetíveis a nitrato. A metamorfose dos anfíbios é um período de reorganização morfológica, que os deixam mais vulneráveis, já que as larvas têm sua capacidade locomotora diminuída. Como muitos fertilizantes são aplicados a diversos locais, é possível que estejam afetando adversamente os anfíbios até em nível de população (Marco & Blaustein, 1999), merecendo maior atenção. Os girinos de *Rana cascadae*, expostos a concentração de 3,5 mg/l de nitrito se desenvolveram mais lentamente do que girinos de controle expostos à água da torneira de clorada. O estresse por nitratos nesses organismos, em fase de desenvolvimento larval (Gosner, 1960), pode diminuir a resposta imune, a hemoglobina no sangue, os níveis de glóbulos brancos circulantes e gerar hemoglobinas reduzidas. Esses efeitos acarretam redução da alimentação e da mobilidade (natação), resultando em severa perda de peso e alta mortalidade dos indivíduos. Outras alterações comprovadas durante o desenvolvimento foram: curvatura da cauda, edema e abaulamento do corpo, deformidades da cabeça e do sistema digestivo. Sugerem-se que a severidade dos efeitos está proporcionalmente relacionada com o aumento das concentrações de nitrato. Em adultos, apesar de poucos serem os estudos, apresentaram sinais clínicos de toxicidade aguda e letalidade, ao migrarem sobre campos recentemente fertilizados (Bibi et al., 2016; Rouse et al., 1999).

A presença do nitrato nos fertilizantes utilizados em pastagens, objetivando o aumento de forragem para animais, pode causar efeitos letais e subletais em anfíbios, ao migrarem através do habitat terrestre. Apesar da migração acontecer por áreas secas e pastadas, por tempo limitado, curtas distâncias (até 500 m), a vegetação deve ser mantida, para minimizar a distância linear entre manchas de habitat. À medida que as populações de anfíbios declinam, até pequenas perturbações no ambiente podem interagir com inúmeras outras variáveis para

afetar significativamente sua sobrevivência. Portanto, mesmo as atividades que têm relativamente pouco impacto ambiental, como pastagem de gado bem gerida, precisa ser cuidadosamente manejados em relação ao habitat dos anfíbios (Colombo & Pollet, 2015; Rouse et al., 1999). Qualquer atraso na metamorfose ou diminuição do tamanho dos girinos neste momento pode afetar os processos demográficos da população, levando potencialmente a declínios ou extinção local (Bridges, 2000).

As dietas, para anuros, são influenciadas por vários fatores, incluindo restrições morfológicas, uso de habitat, variação sazonal, condições ambientais e disponibilidade de alimentos. As restrições morfológicas da dieta podem modificar o uso de microhabitat e as interações competitivas. Por exemplo, a presença de membranas interdigitais bem desenvolvidas nas patas (traseiras), e olhos posicionados dorsolateralmente, são características comuns de anuros adultos que forrageiam em áreas inundadas. Alta semelhança alimentar são guardadas entre anfíbios coexistindo no mesmo habitat, apesar de poucos estudos avaliaram a sobreposição alimentar em relação à disponibilidade de alimentos. Também, pouco ainda é conhecido cientificamente, sobre a influência das mudanças sazonais na ecologia trófica dos anfíbios associadas à morfologia e ao uso de microhabitat (Gutiérrez-Cárdena et al., 2016; Huckembeck et al., 2018).

A poluição por agroquímicos contribui para o declínio global das populações de anfíbios, como foi registrado que concentrações ambientalmente relevantes de formulação comercial do herbicida glifosato (Roundup Plus®) foram testadas em embriões de *Chioglossa lusitani* e os girinos expostos eclodiram em um tamanho maior que os controles, indicando alta tolerância de embriões de anfíbios a agroquímicos (Ortiz-Santaliestra et al., 2011). Algumas espécies de anfíbios localizadas em locais próximos proximidade com áreas agrícolas pode aumentar a tolerância a pesticidas ao longo do tempo (Cothran et al. 2013).

Os efeitos desses compostos agrícolas têm sido registrados na saúde dos anfíbios, tanto em estudos de laboratório quanto em campo, com efeitos prejudiciais no crescimento, sobrevivência, reprodução, desenvolvimento e função imunológica e, naturalmente, existe considerável variação entre diferentes espécies, estágios de vida e produtos químicos estudados (Belden et al., 2010; Mann et al., 2009).

Devido à complexidade que os ecossistemas guardam, muitas lacunas de conhecimento precisam ainda serem preenchidas para que a ciência tenha uma influência positiva quanto às ações de conservação, daí a necessidade de estudos estratégicos terem prioridades.

#### **1.4. Impacto ecológico do desmatamento**

O conhecimento sobre as causas e consequências da destruição, fragmentação e depauperamento dos habitats naturais é fundamental para a compreensão e conservação de amostras funcionais, representativas dos recursos biológicos. Dentre os ecossistemas tropicais que sofrem com aceleradas taxas de destruição destaca-se o Cerrado. Embora seja o segundo bioma brasileiro em extensão, cobrindo quase um quarto do território nacional, sua biodiversidade ainda é pouco conhecida, o que parece irônico, pois se trata da mais rica e ameaçada savana tropical do planeta (Scariot et al., 2005).

A intenção, para a qual foram criadas as legislações diversas, foi de minimizar os efeitos negativos decorrentes do uso de pesticidas no ambiente. O Brasil regulamentou o seu uso, na década de 80, mediante a criação da Lei nº. 7.802, 11 de julho de 1989, considerando em seu texto o termo técnico “agrotóxico”.

O Projeto de Lei nº 3.200/2015 é considerado um dos maiores retrocessos às conquistas legislativas para a regulamentação dos agrotóxicos, de modo a alertar para os riscos à saúde humana frente à exposição a esses produtos e ao agravamento por outras propostas similares (Almeida et al., 2017). Uma das alterações previstas, está na substituição do termo técnico agrotóxico, Artigo 5, Capítulo II, por “produto defensivo fitossanitário”, o que permite minimizar ou mesmo anular a percepção de toxicidade intrínseca que essas substâncias representam à saúde humana e ao ambiente, transmitindo uma ideia de que são inofensivos.

Na tentativa de flexibilizar a regulamentação de agrotóxicos no Brasil, durante o ano de 2018, foram propostos projetos de lei, com a finalidade de alteração das normas sobre o uso e fiscalização dos agrotóxicos (Fomenti, 2018). Críticas vindas por parte dos defensores do uso dos pesticidas (comerciantes e agropecuaristas), consideraram que o termo “agrotóxicos” também causava uma

má impressão do seu emprego, afirmando ser nocivo ou algo autodeclarado danoso ao ambiente (Carneiro et al., 2015). Apesar de discussões serem travadas juridicamente, nesse sentido, o Brasil permite o uso de pesticidas, que já foram proibidos mundialmente, na produção agropecuária, principalmente de inseticidas (Cetesb, 2014).

Algumas mudanças, em nível de código florestal brasileiro, tornaram-no menos restritivo, valorando assim, a agropecuária e não a conservação ambiental. Com esse cenário de uso de pesticidas menos restritivo, cientistas investigam os efeitos adversos à saúde humana via degradação da qualidade ambiental (Ferreira, 2011; Guerra & Araújo, 2016; Hua et al., 2015; Kitamura, 2001; Lenhardt et al., 2015; Looy et al., 2014; Rocha, 2014; Sookoo et al., 2017; Teles, 2006).

A economia e a sustentabilidade estão intimamente ligadas (Begon et al., 2009), ainda que erroneamente mas, claramente perceptível, que o econômico foi objeto da justificativa mais “aceita”, para alterações no Código Florestal, e que a conservação legal de ecossistemas nativos impossibilitaria o crescimento da agricultura de exportação, o agronegócio ou para o abastecimento de alimentos assegurados pela agricultura familiar (Peter et al., 1995; Martinelli et al., 2010).

O modelo hegemônico de produção agrária, no Brasil, foi marcado pela entrada do capitalismo no campo e pela chamada “Revolução Verde” que lhe dá sustentação, tendo um caráter promotor de degradação socioambiental, devido ao modo de apropriação/ exploração/ expropriação dos recursos naturais e da força de trabalho (Carneiro et al., 2015).

Nesse formato de desenvolvimento adotado, a biodiversidade é altamente, impactada, pelo fato de os agrotóxicos oferecerem alto risco de contaminação, já que sua função principal, é eliminar alguma forma de vida, atingindo inclusive, espécies não-alvo, além, de contaminar (a atmosfera, água, solo) e serem persistentes no ambiente. Dessa forma, essas substâncias não só afetam a biota aquática, mas, a terrestre e conseqüentemente, o ser humano (Berti et al., 2009).

A redução da biodiversidade, em outras épocas, era atribuída a fenômenos geofísicos, que causaram a destruição de habitats e extinção de espécies (Grisolia, 2005). Entretanto, essa visão foi modificada, com os acontecimentos ao longo dos tempos. No Brasil, a agricultura chegou a ocupar cerca de 7% do território (850

milhões de hectares), onde cerca de metade é composta por plantações de soja e milho (Kopp et al., 2007) e esses números continuam a crescer. Com vistas nisso, o desenvolvimento em território brasileiro é praticado com foco na abundância de terras férteis, disponibilidade hídrica, uso da mão-de-obra exploratória, além claro, de condições climáticas favoráveis à produção para abastecimento do mercado mundial, em prol de saciar a fome humana. No entanto, esse modelo acarreta sérias consequências ambientais (Martinelli et al., 2010).

Em prol do aumento da produção de alimentos uma das ecorregiões mais ameaçadas tem sido o Cerrado, no qual, as taxas de desmatamento têm sido historicamente superiores às da floresta Amazônica, com esforço de conservação inferior ao da Amazônia: apenas 2,2% da área do Cerrado se encontra legalmente protegida. Diversas espécies animais e vegetais estão ameaçadas de extinção e estima-se que 20% dessas espécies ainda são endêmicas e não ocorram nas áreas legalmente protegidas. As principais ameaças à biodiversidade do Cerrado são a erosão dos solos, a degradação dos diversos tipos de vegetação presentes no bioma e a invasão biológica causada por gramíneas de origem africana. O uso do fogo para a abertura de áreas virgens e para estimular o rebrotamento das pastagens que também é prejudicial, embora o Cerrado seja um ecossistema adaptado ao fogo.

Estudos experimentais na escala ecossistêmica e modelos de simulação ecológica demonstraram que mudanças na cobertura vegetal alteram a hidrologia e afetam a dinâmica e os estoques de carbono no ecossistema. A agricultura no Cerrado é lucrativa e sua expansão deve continuar em ritmo acelerado. A demanda por melhorias da infraestrutura para baratear os custos de transporte da safra agrícola também são fatores que impactam o Cerrado (Klink & Machado, 2005).

Em 35 anos, mais da metade do Cerrado foi transformado em pasto ou agricultura extensiva e a conversão agrícola para a soja e a criação de gado em larga escala ainda são sua maior ameaça (Brandon et al., 2005). Para conseguir atingir a produtividade almejada e o manejo de exploração que cresceu exponencialmente com o aumento da população humana, ambos com aspectos

diferentes da sustentabilidade<sup>1</sup>, é visto como essencial o controle de pragas (Begon et al., 2009).

Os usuários dos pesticidas químicos os têm como parte-chave do arsenal para o controle de pragas, e acabam por utilizá-los excessivamente (Araújo & Monteiro, 2007), gerando consequências à sustentabilidade do ambiente (Habib et al., 2011). É fato que, o combate de pragas e o manejo de exploração dos recursos naturais cresceram exponencialmente, com o aumento da população humana (Almeida et al., 2017), e com critérios contraditórios à sustentabilidade, contribuindo para o surgimento de pragas cada vez mais resistentes aos pesticidas (Brandão et al., 2011; Godoy et al., 2012) o que leva a repensar na continuidade do uso de alguns pesticida (Begon et al., 2009).

Há cerca de 11 anos, os estudos disponíveis sobre os efeitos dos agrotóxicos, previam alterações à fauna (Albinati et al., 2007; Bedor, 2008; Camurça, 2006; Faria et al., 2007; Ghisi, 2010; Hoshi, 2009; Jiquiriçá, 2010; Junqueira, 2006; Manrique, 2009; Oliveira et al., 2007; Silva & Santos, 2007; Vasconcelos, 2014; Winkaler et al., 2008), conseqüentemente, o uso de agrotóxico deveria ser praticado com cautela (Begon et al., 2009; Kopp et al., 2007), no entanto, cada vez mais estudos chamam a atenção para imprópria a cultura agrícola praticada de forma inadequada ou em quantidades excedentes (Carneiro et al., 2015; Costa, 2014; Lima & Rocha, 2012; Junges et al., 2017; Oliveira, 2014; Palodetto, 2012; Peltzer et al., 2008; Pochini & Hoverman, 2017; Prado, 2013; Rossa-Feres et al., 2011; Sauterer & Rayburn, 2012; Semlitsch et al., 2009; Thornhill et al., 2011).

O nível de ameaça às espécies e aos ecossistemas é considerável e crescente, apresentando um quadro moderado para o nível de ameaça às espécies conhecidas e seus habitats (Brandon et al., 2005).

Em função do país ser o maior detentor de toda biodiversidade terrestre, reunindo quase 12% de toda a vida natural do planeta, pertencendo a ele também

---

<sup>1</sup> Dizer que uma atividade é sustentável significa que ela pode continuar ou ser repetida num “futuro previsível”. O termo é inserido no conceito de sustentabilidade, pois uma atividade é descrita como sustentável, é feito com base no conhecimento da época, porém muitos fatores permanecem desconhecidos ou imprevisíveis, uma situação pode piorar e a atividade não mais ser sustentável depois de algum tempo.

o maior número de espécies de anfíbios, e o segundo no número de aves e de répteis (Martinelli et al., 2010), considerá-lo desregradamente como o “celeiro do mundo”, ameaça mundialmente, toda e qualquer forma de vida.

No caso do Brasil, é considerado que não seja necessário a abertura de novas áreas para uso agrícola. O país já dispõe de área suficiente, desprovida de vegetação natural, para acomodar a expansão necessária da produção. Deste modo, os maiores entraves para a produção de alimentos, se devem a um conjunto de outros fatores, não associados com a área disponível para agricultura, estes incluem: desigualdade na distribuição de terras; restrição a créditos agrícolas por parte de produtores que garantem a oferta de alimentos básicos; falta de assistência técnica para aumento de produtividade; carência de investimentos em infraestrutura para armazenamento e escoamento da produção agrícola; restrições ao financiamento e não priorização do desenvolvimento de tecnologias que permitam aumentos necessários na lotação de pastagens (Martinelli et al., 2010).

O Tocantins passa a ser um dos principais palcos com grande uso de pesticidas, já que a principal atividade econômica desenvolvida nele é a agropecuária. Apesar da legislação nacional e local existir e ser ainda bastante rigorosa, quanto ao uso desses compostos, na prática percebe-se que o contrário é o que prevalece. Essa prática do uso exacerbado e ilegal de pesticidas favorece aos efeitos negativos a todo e qualquer tipo de população, direta ou indiretamente presente.

A remoção da cobertura vegetal natural do solo altera a sua estrutura física, intensifica o impacto das chuvas sobre ele, provocando abertura de fendas favorecendo, a infiltração da água e transportando nutrientes dissolvidos, impedindo a sua absorção pelas plantas, e, conseqüentemente reduzindo a fertilidade do solo (Philippi-Jr. & Pelicioni, 2005).

A degradação ambiental de fato resulta no declínio de diversas populações de anuros. Mediante registros realizados por Campos & Vaz-Silva (2010), sobre os aspectos ecológicos de assembleias de anuros em diferentes ambientes (Goiás), determinaram a influência direta da heterogeneidade espacial dos ambientes na riqueza e na partilha espacial e temporal dos anuros locais. Nesse estudo, identificaram-se 22 (vinte e duas) espécies de anuros, com abundância de

aproximadamente 4.000 espécimes, classificados em 11 gêneros e seis famílias, sendo *Dendropsophus minutus*, *D. cruzi* e *Physalaemus cuvieri* as mais abundantes. Constataram que o habitat com a maior heterogeneidade espacial foi o ambiente que apresentou a maior diversidade de espécies (1,03), além disso, apresentam alta similaridade de fauna, evidenciando maior similaridade àquelas áreas associadas à mata e antropizadas. Para Begon et al., (2011), os ambientes com alta heterogeneidade espacial podem acomodar um maior número de espécies, por apresentarem uma grande quantidade de micro-habitat, além de uma diversificada gama de microclimas que possibilita aumento na extensão de recursos de uma área.

As espécies de anuros com menor tolerância a modificações no ambiente podem ser afetadas por alterações na paisagem, como exemplo, efeitos dessas alterações está o desaparecimento de especialistas em favor de generalistas, como é o caso da espécie da *Phyllomedusa rohdei*, estritamente arborícola (Sudoeste do Brasil), localizada somente em poças, onde há um corredor florestal conectando-a ao fragmento de mata. Ambientes com alta heterogeneidade espacial pode acomodar maior número de espécies, por apresentarem grande quantidade de sítios de vocalização. No entanto, a presença de corredor florestal conectando os fragmentos florestais aos corpos d'água parece ser o fator primário influenciando a composição e riqueza de anuros. Ou seja, mesmo que as espécies sejam capazes de utilizar os sítios de vocalização presentes nos corpos d'água, poderiam ser impedidas de os alcançarem, caso os corredores florestais não estivessem presentes, devido ao baixo grau de permeabilidade da matriz (Peter et al., 1995; Ferreira et al., 2012; Campos & Vaz-Silva, 2010).

Por outro lado, a importância do isolamento geográfico em biomas é tida pelos geógrafos/ecólogos como crucial, para possibilitar que as populações se distingam por seleção, ou seja, as distribuições geográficas de espécies, gêneros, famílias e mesmo taxa superior de vegetais e animais frequentemente, refletem



essa divergência geográfica (Twonsend et al., 2010). O princípio da convergência<sup>2</sup> explica o motivo de se reconhecer mundialmente, uma associação entre as formas de organismos e seus ambientes particulares (Ricklefs, 2003). Apesar de pouco ainda se conhecer sobre a biodiversidade de anfíbios do Cerrado, em território brasileiro, foi enquadrado como um dos *hotspots* mundial de conservação, em razão de sua elevada diversidade biológica e forte ação antrópica (Brasil, 2017; Ribeiro et al., 2020), que tem sofrido as consequências dos impactos negativos e significativos de atividades antrópicas, transformando sua estrutura ecológica (Klink & Machado, 2005).

Nota-se que tem ocorrido, em alta velocidade, a degradação da ecorregião Cerrado, a qual detêm grande importância para conservação da diversidade de espécies no geral.

Além do mais, a expansão agrícola no Tocantins, com abertura de novas áreas, desencadeia problemas com desmatamento e queimadas, inclusive atingindo Unidades de Conservação, provocando incêndios florestais. Os focos de calor registrados anualmente, demonstra aumentos significativos. Durante o ano de 2016, foram queimados 45% (250.000 hectares) de mata nativa do Parque Nacional do Araguaia, situado na Ilha do Bananal. Animais, inclusive ameaçados de extinção, foram atingidos pelo fogo. Outra preocupação é que, nesta região, ainda muito da fauna e flora é desconhecida, cientificamente. Uma vez eliminada a vegetação natural, o habitat para a fauna autóctone é alterado, tornando-se pouco favorável para a sua permanência no local (Matteo et al., 2016).

As iniciativas de conservação têm evoluído do foco em espécies ameaçadas por vários fatores, para uma abordagem mais abrangente, na qual os efeitos de conjuntos de espécies, ou mesmo de determinadas espécies, são examinados sobre processos dos ecossistemas. As espécies são abordadas não somente como sujeitos afetados pelas condições ou alterações ambientais, mas também como agentes que modificam ou se contrapõem à tais mudanças (Lewinsohn et al., 2005).

---

<sup>2</sup> Convergência é um processo pelo qual organismos não-aparentados desenvolvem uma semelhança uns com os outros em resposta a condições ambientais comuns.

Nesse sentido, tomando por exemplo os insetos que são agentes polinizadores para a maioria das plantas (Fonseca et al., 2012), o futuro da conservação de invertebrados depende da conservação de habitats inteiros e de uma compreensão mais apurada de seus papéis na manutenção dos processos ecossistêmicos (Lewinsohn et al., 2005).

Em termos de biodiversidade, as águas doces brasileiras apresentam enorme significado global, a despeito de serem pouco conhecidas e importantes para a conservação da biodiversidade (Agostinho et al., 2005). Os únicos remanescentes ainda significativos estão associados a afloramentos de calcário, mas pesquisadores alertam que, se o padrão de desmatamento persistir, em 25 anos as áreas de floresta da região podem desaparecer. A criação de Unidades de Conservação – UC's e o envolvimento da população local são elencados como fatores principais para reverter o quadro de degradação (Souza & Matricardi, 2011).

As regras de proteção ao ambiente e de conservação dos recursos naturais foram definidas e incumbido ao poder público o dever de promover a recuperação de áreas em fase de desertificação e estimular à preservação de nascentes dos cursos de água e do ambiente (Granziera, 2001). No entanto, o que acontece, é que outras atividades (ecoturismo, agricultura e canais de irrigação), bem como paisagens (do tipo unidade de conservação, praias de água doce, monumento históricos como das árvores fossilizadas), também são motivos de atração de investimentos econômicos para o estado e demandam de matérias-primas em comum - a disponibilidade hídrica - em quantidade e qualidade, ainda existente em muitos locais do estado. Além disso, as condições edafoclimáticas, fauna, também favorece a busca por essas áreas para recreação. É perceptível que o ecoturismo tem grandes chances de sucesso nessa região e, se bem ordenado, proporcionará desenvolvimento ao estado (Baptiste, 2014).

A maioria das áreas protegidas no país, criada visando a proteção da flora e fauna terrestres, também protegem corpos hídricos e áreas alagáveis representativas. A despeito da anurofauna ainda ser pouco conhecida, em muitas dessas áreas de conservação ambiental, se tornam muito importantes para a conservação da biodiversidade (Agostinho et al., 2005). No entanto, da forma como essas atividades recreacionais têm sido praticadas implica em prejuízos a

conservação. O uso inapropriado para o ecoturismo (a exemplo de infraestruturas de irrigação agrícola e áreas de cultivos agrícolas, canais de irrigação, reservatórios hidroagrícolas e em unidades de conservação) rotineiramente, aglomeram pessoas praticando pesca/ caça predatórias, banhos em meio a uso de pesticidas. Conseqüentemente, as razões para o declínio da biodiversidade nos ecossistemas aquáticos, em bioma de Cerrado brasileiro incluem impactos ambientais resultantes de processos dessas ações antrópicas.

Os desafios e as oportunidades de conservação no Brasil destacam ações proativas, a maioria do setor público, mas não todas. O Brasil tem muitos fatores que o recomendam, mas é primordialmente importante que a ligação entre ciência e governo seja fortalecida. O desafio será transportar os resultados científicos para a esfera das políticas públicas (Brandon et al., 2005).

Investir na conservação ambiental, como os instrumentos econômicos para o manejo ambiental, fundos de compensação dos projetos, incentivos fiscais e direitos ajudou ao Brasil tornar-se um dos países mais inovadores do mundo em investimentos de recursos financeiros para a conservação ambiental (Brandon et al., 2005).

O mapeamento do país em ecorregiões é importante devido a redefinição dos limites dos biomas e dos ecótonos, que possui enorme riqueza biológica - passando a representar a melhor unidade espacial de planejamento do país para a conservação e o manejo sustentável da biodiversidade. Contudo, especialistas apontam a necessidade de desenvolver metodologias sistemáticas que permitam avaliar e quantificar a representatividade dos ambientes à exemplo de unidades de conservação. Com isso, um estudo de redefinição do território nacional baseado em ecorregiões é previsto para reorganizar a situação das Unidades de Conservação - UC's brasileiras, já que o país é visto em situação de desequilíbrio quanto a distribuição de UC's entre seus biomas, o qual está abaixo do definido e sem contemplar as áreas que mais sofrem pressão de degradação (Ibama, 2017). Ainda no contexto hidrográfico tem destaque a Ilha do Bananal, área classificada como um *Ramsar*, e os complexos ecossistêmicos de áreas úmidas adjacentes que estão incluídos na UC da Área de Proteção Ambiental - APA Estadual da Ilha do Bananal/ Cantão, Parque Estadual do Cantão e Parque Nacional do

Araguaia. Tem papel fundamental no ciclo hidrológico, ampliando a capacidade de retenção da água onde se localizam e promove o múltiplo uso das águas. A sub-bacia do Formoso é uma das que são consideradas como de grande influência sobre essas áreas e necessita de gerenciamento coerente com sua importância biológica e como manancial de águas para suprir as atividades econômicas regionais (Tocantins, 2016).

### **1.5. Aspectos gerais sobre o Tocantins: caso de estudo “perímetro agrícola formoso”**

Os municípios tocantinenses que representaram 50% da área queimada observada no Tocantins, durante o ano de 2014 foram: Lagoa da Confusão, Pium, Ponte Alta do Tocantins, Mateiros, Paranã, Goiatins, Almas, Formoso do Araguaia, Rio Sono, Natividade e Tocantinia. Esses municípios estão localizados, em sua maioria, nas regiões que compreendem a Ilha do Bananal e o Jalapão, apresentando, também, escores positivos quanto ao segundo componente principal que está relacionado com a área do município, quantidade de focos de incêndio, área queimada e área de pastagens naturais e florestas e matas nativas (Neves, 2016).

Estes resultados demonstram que os municípios que apresentaram as maiores áreas identificadas como queimadas, tanto em valor absoluto quanto em percentual, possuem indicadores socioeconômicos (Produto Interno Bruto - PIB e número de habitantes) abaixo da média e o tamanho das propriedades para uso agrícola e agropecuário, relativamente extensas. Dentre esses municípios, Lagoa da Confusão, Formoso do Araguaia e Mateiros apresentaram escores altos quanto ao PIB da agropecuária e per capita acima da média dos municípios do Tocantins e estão entre os municípios com maior produção agrícola principalmente, de soja em grãos (Neves, 2016).

A predominância dos usos para irrigação e pecuária reflete o perfil econômico da região. Características como a localização, abundância e potencial de utilização dos recursos naturais, especialmente da água, conferem à região um relevante papel no desenvolvimento do país. O Tocantins é conhecido também pela sua abundância em recursos hídricos, atraindo pessoas de todo o Brasil e mundo

com interesse em prática agrícola. Diante do aumento do uso de atividades que demandam água doce, criou-se a Legislação específica e outorga de água (Tocantins, 2005).

Na Região Hidrográfica, a vazão de retirada de água era equivalente à 95 m<sup>3</sup>/s, sendo o principal uso consuntivo a irrigação, com 60% do total, 57 m<sup>3</sup>/s do total. O segundo uso da água, em termos quantitativos, é destinado à dessedentação animal, com 16 m<sup>3</sup>/s, seguido pelo abastecimento humano, com 13 m<sup>3</sup>/s. Em 2025, a Região Hidrográfica deverá atingir uma demanda de 221 m<sup>3</sup>/s e a irrigação e pecuária continuarão como os principais usos, seguidos do abastecimento humano e do uso industrial. A Região Hidrográfica é a segunda maior do país em potencial hidroenergético instalado com 11.573 MW (16% do país) e cinco grandes usinas em operação (11.460 MW), todas no Rio Tocantins (Tocantins, 2005).

A pesquisa agrícola deve ser integrada à assistência técnica e extensão rural, aos produtores, comunidades e agroindústrias, devendo ser gerada ou adaptada a partir do conhecimento biológico da integração dos diversos ecossistemas, observando as condições econômicas e culturais dos segmentos sociais do setor produtivo (Brasil, 1991).

É veemente, no Tocantins, a necessidade de cumprimento da legislação e ações de fiscalização com maior rigor. Departamentos ligados à saúde, a partir de monitoramentos de qualidade de água assumem a necessidade de intensificar suas ações, exigindo ainda que seja de forma integrada à instituições estadual e federal afins, no que diz respeito ao monitoramento de agrotóxicos na água para consumo humano (Tocantins, 2013).

No Tocantins entre os anos de 2010 e 2014, quanto às intoxicações por uso de agrotóxicos de uso agrícola, 6,66%; de saúde pública, 0,82% e doméstico, 3,55%. Os tipos de agentes tóxicos aos quais os intoxicados estiveram expostos apresentam os seguintes percentuais: inseticidas (29,28%); herbicidas (27,07%) e fungicidas (4,14%). Araguaína é o principal município notificador e os dez municípios mais notificadores correspondem a 84% do total, sendo que a maioria responde por percentuais muito baixos, entre 0,28% e 2,21% das notificações realizadas (Silva, 2016).

É percebida a falta de acompanhamento efetivo de fiscalização e que consequências já são constatadas na qualidade das águas doces do estado do Tocantins, provocadas pelo uso de pesticidas e soa o alerta da necessidade de prevenção de agravos para a manutenção da qualidade de saúde humana e melhoria da qualidade da água para consumo humano fornecida à população brasileira (Tocantins, 2013; Silva, 2016).

Não há como abordar a produção agrícola e não se reportar ao uso de água. Conforme a Constituição brasileira trata-se de um bem, universalmente essencial para a sadia qualidade de vida (Brasil, 1997). A atividade agrícola é uma das atividades que mais demanda água para sua existência e boa produtividade (Rebouças, 2001). O estado do Tocantins é bastante visado, pela abundância do recurso, pela presença de dois grandes cursos de água, Tocantins e Araguaia - considerados navegáveis e bastantes utilizados para outros fins, como: dessedentação animal, irrigação, produção de energia elétrica, entre outros (Tocantins, 2012b).

Muitos dos maiores projetos agrícolas, situados na região sudeste do estado, possuem como responsáveis, proprietário e funcionários permanentes vindouros de outras regiões do Brasil, a exemplo de pessoas originadas da região Sul do país (Senra, 2014; Silva & Almeida, 2007).

Em busca de tudo que o estado dispõe, clima favorável, disponibilidade de terras produtivas, abundância em recursos hídricos, são atrativos mais que suficientes para que ali fixem o desenvolvimento de suas atividades – destacando a agricultura e pecuária (Silva & Almeida, 2007).

Nesse sentido, a pecuária vem cedendo espaço para a agricultura em função não só desses atrativos, mas de incentivos fiscais e facilidade no transporte (com a entrada em operação da Ferrovia Norte-Sul), oferecidos pelo Governo do estado, a exemplo de Sampaio com a possibilidade de exportação de grãos em voga, o estado tem atraído grandes investidores inclusive, grupos como os fomentados por japoneses, interessados em investimento de tecnologias, como alguns já estão presentes, como: Bunge, Granol e Suzano (Tocantins, 2016; Wesz-Junior, 2011).

A falta de água em rios de diversas regiões do estado tem sido ultimamente, registrada principalmente, em locais onde os rios são destinados à irrigação de produção agrícola (Souza & Matricardi, 2011).

Além do rio Tocantins, o Formoso, que passa por 28 municípios tocantinenses, está entre um dos maiores do estado (Matteo et al., 2016), responsável por mais de dez anos, pela irrigação de plantações (Tocantins, 2012a). Em 2017, no período de estiagem no estado, regiões do estado que tem por principal fonte de renda - a agricultura - sofreu consequências com a seca do rio Formoso e outros rios que secaram por completo (Noletto-Júnior, 2005; Santos & Rabelo, 2008; Conab, 2013).

O cultivo agrícola Formoso apresenta solo essencialmente do tipo Latossolo distróficos profundos, amarelo-avermelhados, arenosos, e subordinadamente solos argilosos avermelhados, aptos para irrigação, porém com restrições quanto à sua fertilidade natural e capacidade de retenção de água. É necessária a utilização de insumos agrícolas que corrijam deficiências físico-químicas do solo, como por exemplo, acidez e nutrientes disponíveis, visando melhorar a fertilidade do mesmo (Santos & Rabelo, 2008), e controle de pragas, em especial considerando a fruticultura irrigada (Noletto-Júnior, 2005; Tocantins, 2012a).

A terra agrícola pode ser definida como solo utilizado para a produção de alimentos, fibras e *commodities* do agronegócio. Inclui terras cultivadas, caracterizadas pelo delineamento de áreas cultivadas ou em descanso, podendo também compreender áreas alagadas. Podem se constituir em zonas agrícolas heterogêneas ou representar extensas áreas de plantações. Encontram-se inseridas nesta categoria as lavouras temporárias, lavouras permanentes, pastagens plantadas, silvicultura e áreas comprovadamente agrícolas cujo uso não foi identificado no período do mapeamento (Senra, 2014).

Em um dos 132 municípios do estado, em Formoso do Araguaia, está situado um dos maiores plantios agrícolas conhecido por Perímetro Irrigado do Projeto Formoso. Localizado na margem direita do rio Formoso, possui área de influência direta da zona urbana de Formoso, entre os paralelos 11º 30' e 12º 15' de latitude Sul e os meridianos 49º 30' e 49º 50' de longitude oeste, na região sudoeste do Estado do Tocantins (Tocantins, 2012c).

O Projeto rio Formoso é um aproveitamento hidroagrícola planejado, fazendo uso das condições naturais favoráveis do vale do Rio Araguaia, no extremosudoeste do Estado do Tocantins, com disponibilidade de terras para irrigação (aproximadamente 27.787 ha), tendo como fator limitante do potencial de produção a inundação na época chuvosa e na época seca déficit hídrico. Durante o ano, é possível realizar o plantio de culturas, basicamente arroz e soja, no período chuvoso e na entressafra (período seco), por meio da subirrigação (Tocantins, 2012c).

A infraestrutura do Projeto, de responsabilidade do estado do Tocantins e o setor privado (cooperativas de agricultores – Cooperformoso, Coperjava e Coopergran), é composta por canais de adução, coletores de drenagem, barragens/dique de reservatórios, estações de bombeamento de adução e de drenagem, distribuídas nas três etapas implantadas, além de estradas de acesso ao longo de todas as adutoras, coletores gerais de drenagem e canais secundários de irrigação e drenagem (Tocantins, 2012c).

O abastecimento hídrico do Projeto é realizado a partir de três reservatórios: Barragem Taboca, Barragem Calumbi I, Barragem Calumbi II. A barragem Taboca é proveniente do córrego Taboca e fornece água para a 1ª etapa (Cooperformoso), abastecendo, ainda, a adutora Formoso, que também atende a 2ª e 3ª etapas, e possui 18.200 metros na 1ª etapa. A área ocupada do reservatório é de 3.185 ha, e o volume máximo acumulado era de 50 hm<sup>3</sup>.

Já a barragem Calumbi I e II são originadas do Córrego Calumbi. A primeira fornece água, principalmente para a 2ª etapa de plantação (Coperjava), com volume máximo armazenado em 2008 de 35 hm<sup>3</sup>, sendo que a área ocupada pelo reservatório é de 4.175 ha. E a Calumbi II - fornece água, basicamente para a 3ª etapa do plantio (Coopergran). Seu volume máximo acumulado era de 35 hm<sup>3</sup>, abrangendo uma área 16.579 ha relativos à 1ª etapa, à 2ª etapa com 18.934 ha e à 3ª etapa com 33.020; além de 5.014 ha destinados ao reservatório Taboca, perfazendo uma área total de 73.547 ha.

Porém, tal como já referido ao longo desta introdução, a atividade agrícola causa vários impactos negativos no ambiente, tornando-se necessário perceber e identificar estes impactos de forma a se desenvolverem ações de proteção e



conservação dos ecossistemas afetados. E como tratar aquilo que se desconhece suas origens, processos e consequências?

## 2. ESTRUTURA E OBJETIVOS DA TESE

A Classe Amphibia constitui o grupo de vertebrados com uma maior proporção de espécies consideradas ameaçadas, sendo que a poluição é reconhecida como uma das principais causas que contribui para o declínio das populações naturais destes organismos (Amphibiaweb, 2020). Entre as diversas fontes de poluição que afetam os anfíbios, os produtos herbicidas utilizados nas atividades agrícolas constituem grande preocupação, pois: (i) são aplicados deliberadamente no ambiente em grandes quantidades com o intuito de proteger as plantações, (ii) são aplicados em habitats utilizados por anfíbios, (iii) uma vez no ambiente podem ser transportados para curtas e longas distâncias afetando grandes extensões de solo e sistemas aquáticos, limitando a capacidade dos anfíbios evitarem o contato com esses químicos, (iv) as áreas agrícolas envolvem processos de alteração físicos que transformam os habitats naturais, passando os anfíbios a viver em condições sub-ótimas. Assim, a aplicação de agrotóxicos adiciona um estressor às populações de anfíbios que já lidam com um ambiente estressante (Herek et al., 2020; Awkerman & Raimondo, 2018; Smalling et al., 2015; Edge et al., 2011; Brühl et al., 2011; Leite et al., 2010; Mann & Bidwell, 2001). Mais ainda, tal como referido na Introdução desta tese, algumas populações de anfíbios são encontradas em áreas de aplicação de pesticidas podendo ser expostas diretamente aos pesticidas, por exemplo, quando cruzam campos agrícolas durante as suas migrações de reprodução, ou quando realizam incursões para se alimentarem, no momento das aplicações de pesticidas (Berger et al., 2018; Lenhardt et al., 2015; Maffei, 2014; Sanchez et al., 2013; Piatti & Souza, 2011; Semlitsch, 2008).

O reconhecimento da comunidade científica sobre os possíveis impactos de pesticidas nos anfíbios promoveu, na última década, o desenvolvimento de vários estudos de forma a gerar conhecimento nesta área (Daam et al., 2019; Almeida et al., 2019; Brink et al., 2016; Liu et al., 2018; Gill et al., 2018; Sanches et al., 2018,

2017; Wrubleswski et al., 2018; Fryday & Thompson, 2017; Fishel, 2017; Junges et al., 2017; Mikó et al., 2017; Moreira et al., 2017; Slaviero, 2017; Sookoo et al., 2017; Sturza, 2017; Weltje et al., 2017; Cusaac et al., 2016; Malpel et al., 2016; Qu et al., 2016; Saraiva, 2016; Svartz et al., 2016; Herkovits et al., 2015; Almeida et al., 2019). No entanto, o número de pesticidas cuja toxicidade foi testada em anfíbios permanece ainda muito baixo, principalmente quando se tem em consideração a panóplia de produtos fitofármacos que são atualmente comercializados (Pinho, 2019; Almeida et al., 2017; Carneiro et al., 2015; Ferraro, 2009; Rodrigues, 2006; Moragas & Schneider, 2003; Campanhola & Bettioli, 2003). Mais ainda, esta limitação de conhecimento sobre a toxicidade de pesticidas em anfíbios é particularmente crítica para espécies tropicais, para as quais existem muito poucos estudos. Neste contexto, a presente Tese teve como objetivo principal avaliar o impacto de pesticidas em populações naturais de espécies de anfíbios anuros tropicais, expostas a diferentes graus de intensificação agrícola e uso de pesticidas. Para tal, foram estabelecidos três objetivos específicos: (i) avaliar a influência da fitofisionomia de paisagem (microambiente agrícola, pastagem, e paisagem de Cerrado não alterada), e do uso de pesticidas, na diversidade e condição corporal de populações naturais de anfíbios anuros de Cerrado; (ii) identificar se a exposição a diferentes fitofisionomias de paisagem e a pesticidas altera o nicho isotópico de girinos e adultos de populações naturais de anuros; (iii) identificar os efeitos adversos provocados por quatro formulações comerciais de pesticidas agrícolas em girinos de anfíbios anuros tropicais (Anura: Ranidae).

De forma a abordar o objetivo geral e os específicos, a presente tese foi estruturada nos seguintes capítulos:

Capítulo I – Corresponde à introdução geral, onde é fornecida informação sobre as problemáticas ambientais, com especial ênfase nos impactos na Classe Amphibia, associadas à atividade agrícola, assim como informação específica sobre o local de estudo onde decorreu o presente trabalho.

Capítulo II – Neste capítulo pretendeu-se atingir o objetivo específico (i). Para tal foi selecionado como caso de estudo o agrossistema localizado no município de Formoso do Araguaia (TO, Brasil), por apresentar paisagens com diferentes fitofisionomias assim como diferentes intensidades de aplicação de pesticida. De

forma a avaliar os efeitos desses dois fatores na diversidade e condição corporal de anfíbios anuros, foram selecionados três locais não perturbados por atividade agrícola e dois locais com presença de atividade agrícola intensa. Em cada local efetuaram-se amostragens de anfíbios adultos em duas estações: seca e chuvosa, assim como de solo, sedimento e água superficial para se proceder às análises químicas de pesticidas. Foram efetuadas medições morfométricas em todos os indivíduos recolhidos e foram identificados ao nível da espécie. Foram ainda realizados ensaios ecotoxicológicos, expondo girinos de *Physalaemus cuvieri*, *Leptodactylus labyrinthicus* e *Phyllomedusa azurea*, às amostras de água superficial e sedimento dos locais selecionados, de forma a avaliar a sua ecotoxicidade para estes organismos.

Capítulo III – Este capítulo focou o objetivo específico (ii), em que se estudou a influência de diferentes paisagens e a intensidade de exposição a pesticidas na composição isotópica de girinos e adultos de populações naturais de anfíbios anuros do agrossistema Formoso do Araguaia. Deste modo, foram selecionados três locais não perturbados por atividade agrícola e dois locais com presença de atividade agrícola intensa. A amostragens de anuros (adultos e girinos), bem como, dos componentes de suas possíveis fontes alimentares como: sedimento, vegetação e invertebrados, foram realizadas em áreas alagadas (poças) em todos os ambientes, em duas estações do ano: seca e chuvosa. As amostras foram preparadas em laboratório e as análises de isótopos estáveis de carbono ( $\delta^{13}\text{C}$ ) e de nitrogênio ( $\delta^{15}\text{N}$ ) foram realizadas no Laboratório de Ecologia Isotópica – LEI, do Centro de Energia Nuclear na Agricultura – CENA, da Universidade de São Paulo - USP.

Capítulo IV – Este capítulo avaliou o objetivo específico (iii), em que se pretendeu investigar os efeitos letais e subletais de quatro formulações comerciais de pesticidas agrícolas, comumente utilizados em agrossistemas de regiões tropicais (sendo utilizadas no agrossistema Formoso do Araguaia), nomeadamente Roundup Original<sup>®</sup>, Score<sup>®</sup>, Larvin<sup>®</sup> e Cruiser<sup>®</sup>, em larvas de anfíbios anuros (Anura: Ranidae). Nesse sentido, foram coletadas desovas Cerrado e girinos de três espécies tropicais de anuros (*Physalaemus cuvieri*, *Leptodactylus labyrinthicus* e *Phyllomedusa azurea*) em região de Cerrado (Paraíso do Tocantins, TO, Brasil).

Estas espécies foram selecionadas por também ocorrerem no caso de estudo dos dois capítulos anteriormente citados, Formoso do Araguaia. Girinos nos estágios de desenvolvimento Gosner 24 à 26, foram expostos a várias concentrações das quatro formulações comerciais por um período 96 horas. No final do período de exposição foram avaliados os parâmetros sobrevivência, comprimento corporal e biomassa.

Capítulo V – Foca a discussão geral desta tese. Neste capítulo final são discutidos os resultados obtidos ao longo do trabalho de forma integrada, realçando as principais conclusões.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGOSTINHO, A. A.; THOMAZ, S. M.; GOMES, L. C. Conservação da biodiversidade em águas continentais do Brasil. *Algae*, v. 1, n. 1, p. 70-78, 2005.
- AIRES-DOURADO, T. M. F. **Transformações sócio-culturais em Taquaruçu na perspectiva do desenvolvimento local e sustentável**. 2004, 134f. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal do Tocantins - UFT, Palmas, 2004.
- ALBINATI, C. L.; MOREIRA, E. L. T.; ALBINATI, R. C. B.; CARVALHO, J. V. de.; SANTOS, G. B.; LIRA, D. de. Toxicidade aguda do herbicida Roundup® para piauçu (*Leporinus macrocephalus*). *Revista Brasileira Saúde Prod.*, v. 8, p. 184-192, 2007.
- ALMEIDA, M. D.; CAVENDISH, T. A.; BUENO, P. C.; ERVILHA, I. C.; GREGÓRIO, L. de S.; KANASHIRO, N. B. de O.; ROHLFS, D. B.; CARMO, T. F. M. do. A flexibilização da legislação brasileira de agrotóxicos e os riscos à saúde humana: Análise do Projeto de Lei nº 3.200/2015. *Cadernos de Saúde Pública*, v. 33, n. 7, 2017.
- ALMEIDA, P. R.; RODRIGUES, M. V.; IMPERADOR, A. M. Toxicidade aguda (LC<sub>50</sub>) e efeitos comportamentais e morfológicos de formulado comercial com princípio ativo glifosato em girinos de *Physalaemus cuvieri* (Anura, Leptodactylidae) e *Rhinella icterica* (Anura, Bufonidae). *Engenharia Sanitária e Ambiental*, v. 24, n. 6, p. 1115-1125, 2019.
- ALTIG, R.; WHILES, M. R.; TAYLOR, C. L. What do tadpoles really eat? Assessing the trophic status of an understudied and imperiled group of consumers in freshwater habitats. *Freshwater Biology*, v. 52, n. 2, p. 386-395, 2007.
- ALVES, B.; ZOTARELLI, L.; JANTALIA, C. P.; BODDEY, R.M.; URQUIAGA, S. Emprego de isótopos estáveis para o estudo do carbono e do nitrogênio no sistema solo-planta. **Processos biológicos no sistema solo-planta: Ferramentas para uma agricultura sustentável**. Brasília, Embrapa-SCT, p.343-350, 2005.
- AMADO, T. F. **Ecologia trófica de anfíbios anuros: relações filogenéticas em diferentes escalas**. 2014, 84f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, 2014.
- AMARAL, D. F.; MONTALVÃO, M. F.; OLIVEIRA M. B.; SILVA, C. A. L.; MALAFAIA, G. Behavioral and mutagenic biomarkers in tadpoles exposed to different abamectin concentrations. *Environmental Science and Pollution Research*, v. 25, p. 12932-12946, 2018.
- AMPHIBIAWEB. **AmphibiaWeb: *Hypsiboas raniceps***. AmphibiaWeb data base, 2020.
- ANDRESEN, E. Effect of forest fragmentation on dung beetle communities and functional consequences for plant regeneration. *Ecography*, v. 26, n. 1, p. 87-97, 2003.
- ARAÚJO, A. S. F.; MONTEIRO, R. T. R. Indicadores biológicos de qualidade do solo. *Bioscience Journal*, v. 23, n. 3, p. 66-75, 2007.

- ARAÚJO, E. A.; RIBEIRO, G. A. Impactos do fogo sobre a entomofauna do solo em ecossistema florestais. **Natureza & Desenvolvimento**, v. 1, n. 1, p. 75-85, 2005.
- ARAÚJO, M. S.; BOLNICK, D. I.; MACHADO, G.; GIARETTA, A. A.; dos REIS, S.F. Using <sup>13</sup>C stable isotopes to quantify individual-level diet variation. **Oecologia**, v. 152, n. 4, p. 643-654, 2007.
- AWKERMAN, J. A.; RAIMONDO, S. Simulated developmental and reproductive impacts on amphibian populations and implications for assessing long-term effects. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 149, n. September 2017, p. 233-240, 2018.
- BAPTISTE, B. **Áreas Protegidas**. Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt, 2014. Disponível em: <<http://www.humboldt.org.co/es/actualidad/item/489-areas-protegidas>>. Acesso em: 13 out. 2020
- BATALHA, M. A. O cerrado não é um bioma. **Biota Neotrópica**, v. 11, n. 1, 2011.
- BATALHA, M. A.; CIANCIARUSO, M. V.; SILVA, I. A.; DELITTI, W. B. Hyperseasonal Cerrado, a new Brazilian vegetation form. **Brazilian journal of biology**, v. 65, n. 4, p. 735-738, 2005.
- BEDOR, C. N. G. **Estudo do potencial carcinogênico dos agrotóxicos empregados na fruticultura e sua implicação para a vigilância da saúde**. 2008. 115f. Tese (doutorado) - Fundação Oswaldo Cruz, Recife, 2008.
- BEGON, M.; TOWNSEND, C. R.; HARPER, J. L. **Ecologia: de indivíduos a ecossistemas**. 4ed. ed. Porto Alegre: Reimpressão Artmed Editora, 2011.
- BEGON, M.; TOWNSEND, C. R.; HARPER, J. L. **Ecologia: de indivíduos a ecossistemas**. 4e d Artmed Editora, 2009.
- BELDEN, J.; MCMURRY, S.; SMITH, L.; REILLEY, P. Acute toxicity of fungicide formulations to amphibians at environmentally relevant concentrations. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 29, n. 11, p. 2477-2480, 2010.
- BERGER, G; GRAEF, F.; PALLUT, B.; HOFFMANN, J.; BRÜHL, C. A.; WAGNER, N. How does changing pesticide usage over time affect migrating amphibians: A case study on the use of glyphosate-Based Herbicides in german agriculture over 20 years. **Frontiers in Environmental Science**, v. 6, n. February, p. 1-10, 2018.
- BERTI A. P.; DÜSMAN, E.; SOARES, L. C.; GRASSI, L. E. A. Efeitos da contaminação do ambiente aquático por óleos e agrotóxicos. **SaBios Revista de Saúde e Biologia**, v. 4, n. 1, p. 45-51, 2009.
- BIBI, R.; SAEED, M.; AKRAM, A.; MAHMOOD, T.; ANWAR, M. Impacts of ammonium nitrate on survival of tadpoles of the common skittering frog (*Euphlyctis cyanophlyctis*). **Basic and Applied Herpetology**, v. 30, p. 39-46, 2016.
- BRADY, N. C.; WEIL, R. R. Arquitetura e propriedades físicas do solo. In: \_\_\_\_ **Elementos da natureza e propriedades dos solos**. 2002.
- BRANDÃO F. P.; MARQUES, S.; RODRIGUES, S.; SANTOS, B.; TRAVASSO, R.; VENÂNCIO, C.; PEREIRA, R.; ORTIZ-SANTALIESTRÁ, M.; SOARES, A. M. V.

M.; GONÇALVES, F.; LOPES, I. Influência da temperatura na toxicidade de cobre em girinos de rã verde *Pelophylax perezi*. **Revista Captar: Ciência e Ambiente para Todos**, v. 3, p. 66-77, 2011.

BRANDON, K.; FONSECA, G. A. B. da; RYLANDS, A. B.; SILVA, J. M. C. da. Conservação Brasileira: Desafios e oportunidades. **Megadiversidade**, v. 1, n. 1, p. 7-13, 2005.

BRASIL. **Lei nº 8.171**, de 17 de janeiro de 1991. Dispõe sobre a Política Agrícola. Brasília - DF, 1991. Disponível em: <[http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/leis/L8171.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/L8171.htm)>. Acesso em: 13 out. 2019.

\_\_\_\_\_. **Lei nº 9.433**, de 08 de janeiro de 1997. Política Nacional de Recursos Hídricos, Brasília - DF, 1997. Disponível em: <[http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/leis/l9433.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/l9433.htm)>. Acesso em: 11 out. 2019.

\_\_\_\_\_. **Contribuição do Brasil para evitar a mudança do clima**. Brasília - DF: [s.n.]. 2007.

\_\_\_\_\_. **Plano de ação para prevenção e controle do desmatamento e das queimadas no Cerrado - PPCerra do Ministério do Meio Ambiente**, 2009. Disponível em: <<http://siscom.ibama.gov.br/monitorabiomas/>> Acesso em: 11 nov. 2017.

\_\_\_\_\_. Agência Nacional De Vigilância Sanitária. ANVISA. Relatório de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (PARA). Brasília - DF, 2014.

\_\_\_\_\_. **Mapeamento das ecorregiões brasileiras**. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/informma/item/1132-ibama-conclui-mapeamento-das-ecorregioes-brasileiras>>. Acesso em: 18 out. 2017.

BRIDGES, C. M. Long-term effects of pesticide exposure at various life stages of the southern leopard frog (*Rana sphenoccephala*). **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 39, n. 1, p. 91-96, 2000.

BRINK, P. J. V. D.; SMEDEN, J. M.; VAN BEKELE, R. S.; DIERICK, W. **Acute and chronic toxicity of neonicotinoids to nymphs of a mayfly species and some notes on seasonal differences**. *Environmental Toxicology and Chemistry*, v. 35, n. 1, p. 128-133, 2016. <https://doi.org/10.1002/etc.3152>.

BRÜHL, C. A.; PIEPER, S.; WEBER, B. Amphibians at risk? Susceptibility of terrestrial amphibian life stages to pesticides. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 30, n. 11, p. 2465-2472, 2011.

CAMPANHOLA, C.; BETTIOL, W. Panorama sobre o uso de agrotóxicos no Brasil. [s.l.] EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 2003. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1076531/panorama-sobre-o-uso-de-agrotoxicos-no-brasil>. Acesso em: 11 nov. 2020.

CAMPOS, F. S.; VAZ-SILVA, W. Distribuição espacial e temporal da anurofauna em diferentes ambientes no município de Hidrolândia, GO, Brasil Central  
Temporal and spatial distribution of anuran fauna in different. **Neotropical Biology and Conservation**, v. 5, n. december, p. 179-187, 2010.

- CAMPOS, V.A., ODA, F.H., JUEN, L., BARTH, A. & DARTORA, A. Composition and species richness of anuran amphibians in three different habitat in an agrosystem in Central Brazilian Cerrado. **Biota Neotropica**, v. 13 n. 1, 2013.
- CAMURÇA, D. M. Estudo sobre atividade edematogênica, pro-inflamatória, antibacteriana e do perfil eletroforético da secreção cutânea de *Phyllomedusa bicolor* (Boddaert, 1772) (Anura, Hylidae Phyllomedusinae). 2006, 80f. Monografia (conclusão de curso) -**Universidade Guarulhos**. Guarulhos, 2006.
- CARNEIRO, F. F., AUGUSTO, L. G. da S.; RIGOTTO, R. M.; FRIEDRICH, K.; BÚRIGO, A. C (org.). **Dossiê ABRASCO: um alerta sobre os impactos dos agrotóxicos na saúde**. EPSJV/Expressão Popular, 2015.
- CARVALHO, M. C. de. Uso dos isótopos estáveis de carbono, nitrogênio e enxofre em estudos de ecologia costeira. **Oecologia Brasiliensis**, v. 12, n. 4, p. 694-705, 2008. <https://doi.org/10.4257/oeco.2009.1304.08>.
- CARVALHO, W. F.; FRANCO, F. C.; GODOY, F. R.; FOLADO, D.; AVELAR, J. B.; NOMURA, F.; CRUZ, A. D. da.; SABÓIA-MORAIS, S. de M. T.; BASTOS, R. P.; SILVA, D. de M. Evaluation of genotoxic and mutagenic effects of glyphosate roundup original® in tadpoles *Dendropsophus minutus* Peters, 1872. **South American Journal of Herpetology**, v. 13, n. 3, p. 220-229, 2018.
- CASSETTARI, B. de O. Ocupação de habitat, distribuição temporal e dieta de *Rhinella ornata* (Anura; Bufonidae). 2012. 35f. Monografia (Graduação) - Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2012.
- CETESB. Companhia Ambiental do Estado de São Paulo. **Histórico e legislação de poluentes orgânicos persistentes (POPs) no Brasil**. Disponível em: <https://cetesb.sp.gov.br/centroregional/a-convencao/poluentes-organicos-persistentes-pops/historico-e-legislacao-de-poluentes-organicos-persistentes-pops-no-brasil/>. Acesso em: 11 nov. 2019.
- CHENON, P.; GAUTHIER, L.; LOUBIÈRES, P.; SÉVERAC, A.; DELPOUX, M. Evaluation of the genotoxic and teratogenic potential of a municipal sludge and sludge-amended soil using the amphibian *Xenopus laevis* and the tobacco: *Nicotiana tabacum* L. var. *Xanthi dulieu*. **Science of the Total Environment**, v. 301, n. 1-3, p. 139-150, 2003.
- COLOMBO, B. M.; POLLET, N. Microbiota and mucosal immunity. **Frontiers in Immunology**, v. 6, n. March, p. 1-15, 2015.
- CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. Acompanhamento da safra brasileira de grãos. **Acompanhamento da safra brasileira - grãos**, v. 1 - Safra 2013/14, n. 3 - Terceiro Levantamento, Brasília, p. 1-72, dez. 2013.
- COSTA, R. N. Medindo os Impactos do Glifosato e do Estresse Ambiental com uma Régua: Assimetria Flutuante e Mortalidade em Girinos (Amphibia: Anura) de *Physalaemus cuvieri* (Leptodactylidae) e *Scinax fuscomarginatus* (Hylidae). 2014, 83f. Dissertação (pós-graduação) - Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2014.
- COTHRAN, R. D.; BROWN, J. M.; RELYEA, R. A. Proximity to agriculture is correlated with pesticide tolerance: Evidence for the evolution of amphibian



resistance to modern pesticides. **Evolutionary Applications**, v. 6, n. 5, p. 832-841, 2013.

COUTINHO, L. M. The biome concept. **Acta Botanica Brasilica**, v. 20, n. 1, p.13-23, 2006.

CUSAAC, J. P. W.; MORRISON, S. A.; BELDEN, J. B.; SMITH, L.M; McMURRY, S. T. Acute toxicity of headline fungicide to blanchard's cricket frogs (*Acris blanchardi*). **Ecotoxicology**, v. 25, n. 3, p. 447-455, 2016.

DAAM, M. A. et al. Lethal toxicity of the herbicides acetochlor, ametryn, glyphosate and metribuzin to tropical frog larvae. **Ecotoxicology**, 2019.

DIAS, N. Y. N. **Estrutura de Taxocenoses de Girinos de Mata Atlântica**. 2008,130f. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, São José do Rio Preto, 2008.

DINIZ-FILHO, J. A. F.; OLIVEIRA, G.; LOBO, F.; FERREIRA, G. L.; BINI, L. M. L.; RANGEL, T. F. L. V. B. Agriculture, habitat loss and spatial patterns of human occupation in a biodiversity hotspot. **Scientia Agricola** - version on-line, v. 66, n. December, p. 764-771, 2009.

DUELLMAN, W. E.; TRUEB, L. **Biology of amphibians**. JHU press, 1994.

ECOBICHON, D. J. Pesticide use in developing countries. **Toxicology**, v. 160, n.1-3, p. 27-33, 2001.

EDGE, C. B.; GAHL, M. K.; PAUL, B. D.; THOMPSON, D. G.; HOULAHAN, J. E. Exposure of juvenile green frogs (*Lithobates clamitans*) in littoral enclosures to a glyphosate-based herbicide. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 74, n.5, p. 1363-1369, 2011.

FARIA, N. M. X.; FASSA, A. G.; FACCHINI, L. A. Intoxicação por agrotóxicos no Brasil: os sistemas oficiais de informação e desafios para realização de estudos epidemiológicos. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 12, n. 1, p. 25-38, 2007.

FERRARO, M. M. **Avaliação de três espécies de peixes-Rhamdia quelen, Cyprinus carpio e Astyanax bimaculatus, como potenciais bioindicadores em sistemas hídricos através dos ensaios**. 2009, 189f. Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2009.

FERREIRA, E. M. S. L. A. **Biodiversidade e Conservação da Herpetofauna do Médio-Araguaia**. 2011, 185f. Tese (Doutorado) - Universidade de Aveiro (Portugal), 2011.

FERREIRA, R. B.; DANTAS, R. D. B.; TONINI, J. F. R. Distribuição espacial e sazonal de anfíbios em quatro poças na região serrana do Espírito Santo, sudeste do Brasil: Influência de corredores florestais. Iheringia, **Série Zoológica**, v. 102, n. 2, p. 163-169, 2012.

FISHEL, F. M. Pesticide Toxicity Profile: Triazole Pesticides. Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida.p. 1-4, 2017.

FOMENTI, L. **Discussão do projeto de lei do agrotóxico é adiada na Câmara**. Disponível em: <<https://economia.estadao.com.br/noticias/geral,discussao-do>>

projeto-de-lei-do-agrotoxico-e-adiada-na-camara,70002300472>. Acesso em: 31 maio. 2018.

FONSECA, V. L. I.; CANHOS, D. A. L.; ALVES, D. de A.; SARAIVA, A. M. (Org.). **Polinizadores no Brasil: Contribuição e Perspectivas para a Biodiversidade**. Editora da Universidade de São Paulo. São Paulo, 2012.

FREITAS, E. B. de; DE-CARVALHO, C. B.; FARIA, R. G.; BATISTA, R. de C.; COELHO, W. A.; BOCCHIGLIERI, A. Nicho ecológico e aspectos da história natural de *Phyllomedusa azurea* (Anura: Hylidae, Phyllomedusinae) no Cerrado do Brasil Central. **Biota Neotropica**, v. 8, n. 4, p. 0-0, 2008.

FROST, D.R. **Amphibians species of the world: an online reference**. 2016. Disponível em: <<http://research.amnh.org/vz/herpetology/amphibia/index.php>> Acesso em: 10 nov. 2016.

FRYDAY, S.; THOMPSON, H. Toxicity of pesticides to aquatic and terrestrial life stages of amphibians and occurrence, habitat use and exposure of amphibian species in agricultural environments. **EFSA Supporting Publications**, v. 9, n. 9, 2017.

GARCIA, Eduardo Garcia. **Segurança e saúde no trabalho rural com agrotóxicos: contribuição para uma abordagem mais abrangente**. 1996, 250f. Tese (Doutorado) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 1996.

GASCON, C.; COLLINS, J. P.; MOORE, R. D.; CHURCH, D. R.; MCKAY, J. E.; MENDELSON-III, J. R (eds.). 2007. **Amphibian Conservation Action Plan**. IUCN/SSC Amphibian Specialist Group. Gland, Switzerland and Cambridge, UK. 64pp.

GEO BRASIL. **O Estado dos solos**. In: 2002, G. B. (Ed.). Geo Brasil. [s.l: s.n.]. p. 48-67.

GHSI, N. de C. **Avaliação genotóxica em *Rhamdia quelen* após contaminação sub-crônica com fipronil**. 2010, 89 f. Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2010.

GILL, J. P. K.; SETHI, N.; MOHAN, A.; DATTA, S.; GIRDHAR, M. Glyphosate toxicity for animals. **Environmental Chemistry Letters**, v. 16, n. 2, p. 401-426, 2018.

GODOY, C. V.; UTIAMADA, C. M.; MEYER, M. C.; CAMPOS, H. D.; ROESE, A. D.; FORCELINI, C. A.; PIMENTA, C. B.; JACCOUD Filho, D. S.; BORGES, E. P. Eficiência de fungicidas para o controle da ferrugem-asiática da soja, *Phakopsora pachyrhizi*, na safra 2011/12: resultados sumarizados dos ensaios cooperativos. **Circular Técnica** 93, p. 1-8, 2012.

GOSNER, K. L. A Simplified table for staging anuran embryos and larvae with notes on identification. **Herpetologica**, v. Vol. 16, n. 3, p. 183-190, 1960. Retrieved from <https://www.jstor.org/stable/3890061>.

GRANZIERA, M. L. M. **Direito de águas**. São Paulo: Atlas, 2001.

GRISOLIA, C. K. **Agrotóxicos: mutações, reprodução e câncer**. Brasília: Editora Universidade de Brasília, 2005.

- GUERRA, C.; ARÁOZ, E. Amphibian malformations and body condition across an agricultural landscape of northwest Argentina. **Diseases of Aquatic Organisms**, v. 121, p. 105-116, 2016.
- GUTIÉRREZ-CÁRDENA, P. D. A.; ALFONSO, D.; CASTILLO, K.; MARTÍNEZ, D.; ROCHA, C. F. D.; ROJAS-RIVERA, M. A. Trophic ecology of *Pristimantis labiosus* (Anura: Craugastoridae) from south- western Colombia. **North-Western Journal of Zoology**, v. 12, n. June, 2016.
- HABIB, M.M.; PIGNATI, W.; SILVA, L. R. da., FELINTO, E.; ROCHA, M. A. M. **Agrotóxico: Pilar do agronegócio**. Revista do instituto Humanitas Unisinos, 368 Ano XI, ISSN 1981-8769. 2011.
- HADDAD, C. F.B.; PRADO, C. P.A. Reproductive modes in frogs and their unexpected diversity in the Atlantic Forest of Brazil. **BioScience**, v. 55, n. 3, p. 207-217, 2005.
- Haidar, R.F.; FAGG, J. M. F.; PINTO, J. R. R.; DIAS, R. R.; DAMASCO, G.; SILVA, L. C. R.; FAGG, C. W. Florestas estacionais e áreas de ecótono no estado do Tocantins, Brasil: parâmetros estruturais, classificação das fitofisionomias florestais e subsídios para conservação. **Acta Amazonica**, v. 43, n. 3, p. 261-290, 2013.
- HAYES, T. B.; COLLINS, A.; LEE, M.; MENDOZA, M.; NORIEGA, N.; STUART, A. A.; VONK, A. Hermaphroditic, demasculinized frogs after exposure to the herbicide atrazine at low ecologically relevant doses. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 99, n. 8, p. 5476-5480, 2002.
- HEREK, J. S.; VARGAS, L.; TRINDADE, S. A. R.; RUTKOSKI, C. F. Can environmental concentrations of glyphosate affect survival and cause malformation in amphibians? Effects from a glyphosate-based herbicide on *Physalaemus cuvieri* and *P. gracilis* (Anura: Leptodactylidae). **Environmental Science and Pollution Research**, v. 27, n. 18, p. 22619-22630, 2020
- HERKOVITS, J.; CASTAÑAGA, L. A.; D'ERAMO, J. L.; JOURANI, V. P. Living organisms influence on environmental conditions: PH modulation by amphibian embryos versus aluminum toxicity. **Chemosphere**, v. 139, p. 210-215, 2015.
- HOSHI, L. Genotoxicidade em floricultores da região serrana do Rio de Janeiro: uso do teste de micronúcleo na mucosa oral. 2009. 51f. Tese (Doutorado) - Fundação Oswaldo Cruz, 2009.
- HUA, J.; JONES, D. K.; MATTES, B. M.; COTHRAN, R. D.; RELYEA, R. A.; HOVERMAN, J. T. Evolved pesticide tolerance in amphibians: Predicting mechanisms based on pesticide novelty and mode of action. **Environmental Pollution**, v. 206, p. 56-63, 2015.
- HUCKEMBECK, S.; WINEMILLER, KIRK O.; LOEBMANN, D.; GARCIA, A. M. Trophic ecology of two sympatric frogs with contrasting morphology and habitat use in a subtropical wetland. **Herpetologica**, v. 74, n. 3, p. 207-216, 2018.
- IBAMA. Instituto Brasileiro de Meio Ambiente. **Ibama conclui mapeamento das ecorregiões brasileiras**, 2017. Disponível em:

<<https://antigo.mma.gov.br/informma/item/1132-ibama-conclui-mapeamento-das-ecorregioes-brasileiras.html>>. Acesso em: 9 jul. 2017.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Levantamento Sistemático da Produção Agrícola**. Rio de Janeiro v.24 n.02 p.1-82 fev.2011.

IPEA. Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada. **Infraestrutura econômica no Brasil: Diagnósticos e perspectivas para 2025**. Brasília: livro 6, v. 1, 2010.

JQUIRIÇÁ, P. R. I. **Efeitos Letais e Subletais da Poluição por Nitrogênio em Larvas de Anuros**. 2010, 85 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

JUNGES, C. M.; MAGLIANESE, M. I.; LAJMANOVICH, R. C.; PELTZER, P. M.; ATTADEMO, A. M. Acute toxicity and etho-toxicity of three insecticides used for mosquito control on amphibian tadpoles. **Water, Air, & Soil Pollution**, v. 228, n.4, p. 143, 2017. <https://doi.org/10.1007/s11270-017-3324-6>.

JUNQUEIRA, A. P. F. **Estudo do potencial clastogênico e genotóxico do extrato de *Piper cubeba* em células de roedores in vivo**. 2006, 67 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade José do Rosário Vellano - UNIFENAS, Alfenas, MG, 2006.

KITAMURA, P. C. Biodiversidade na Amazônia: por uma abordagem regional das unidades de conservação. **Embrapa Meio Ambiente**, 2001.

KLINK C. A.; MACHADO, R. B. A conservação do Cerrado brasileiro. **Megadiversidade**, v. 1, n. 1, p. 147-155, 2005.

KOPP, K.; FILHO- ANTONIOSI, N. R.; ALVES, M. I. R.; BASTOS, R. P. Publicações sobre efeitos de pesticidas em anfíbios no período de 1980 a 2007. **Revista Multiciência**, n. 8, p. 173-186, 2007.

LAYMAN, C. A.; ARAUJO, M. S.; BOUCEK, R.; HAMMERSCHLAG-PEYER, C. M.; HARRISON, E.; JUD, Z. R.; MATICH, P.; ROSENBLATT, A. E.; VAUDO, J. J.; YEAGER, L. A.; POST, D.; M.; BEARHOP, S. Applying stable isotopes to examine food-web structure: an overview of analytical tools. **Biological Reviews**, v. 87, n. 3, p. 545-562, 2012.

LEITE, P. Z.; MARGARIDO, T. C. S.; LIMA, D. de; ROSSA-FERES, D. de C.; ALMEIDA, E. A. de. Esterase inhibition in tadpoles of *Scinax fuscovarius* (Anura, Hylidae) as a biomarker for exposure to organophosphate pesticides. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 17, n. 8, p. 1411-1421, 2010.

LENHARDT, P. P.; BRÜHL, C. A.; BERGER, G. Temporal coincidence of amphibian migration and pesticide applications on arable fields in spring. **Basic and Applied Ecology**, v. 16, n. 1, p. 54-63, 2015.

LEWINSOHN, T. M.; FREITAS, A. V. L.; PRADO, P. I. Conservação de invertebrados terrestres e seus habitats no Brasil. **Megadiversidade**, v. 1, n. 1, p. 62-69, 2005.

LIMA, M. C. de; ROCHA, S. de A. Efeitos dos agrotóxicos sobre as abelhas silvestres no Brasil. **Brasília: Ibama**, 2012.

LION, M. B.; EIZIRIK, E.; GARDA, A. A.; Da FONTOURA-RODRIGUES, M. L.; LIU, M. et al. Single and mixture toxicity of strobilurin and SDHI fungicides to *Xenopus tropicalis* embryos. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 153, p. 8-15, 2018.

MACAGNAN, N.; HARTMAN, M. T.; KOLCENTI, C.; RUTKOSKI, C. F.; VANZETTO, G. V. Toxicidade dos inseticidas deltametrina e cipermetrina em embriões e larvas de cipermetrina em embriões e larvas de *Physalaemus gracilis* (ANURA: LEPTODACTYLIDAE). VI Jornada Científica e Tecnológica. **Anais**. Universidade Federal da Fronteira Sul Campus Erechim, 2012.

MACHADO, R. B., RAMOS NETO, M. B., PEREIRA, P. G. P., CALDAS, E., GONÇALVES, D. A., SANTOS, N. S., TABOR, K. & STEININGER, M. Estimativas de perda da área do Cerrado brasileiro. **Relatório técnico**. Conservação Internacional Brasil, Brasília, DF, 26p, 2004.

MAFFEI, F. **Relações entre variáveis ambientais e anfíbios anuros em áreas de cerrado e floresta estacional semidecidual**. 2014. 104 f. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2014.

MALPEL, S.; D'ANDREA, M. F.; BRODEUR, J. C.; ANGLESIO, A. B.; CRISTOS, D.; POLISERPI, M. B. Toxicities of glyphosate and cypermethrin based pesticides are antagonistic in the ten-spotted livebearer fish (*Cnesterodon decemmaculatus*). **Chemosphere**, v. 155, p. 429-435, 2016.

MANN, R. M.; BIDWELL, J. R. The acute toxicity of agricultural surfactants to the tadpoles of four Australian and two exotic frogs. **Environmental Pollution**, v. 114, n. 2, p. 195-205, 2001.

MANN, R. M.; HYNE, R. V.; CHOUNG, C. B.; WILSON, S. P. Amphibians and agricultural chemicals: Review of the risks in a complex environment. **Environmental Pollution**, v. 157, n. 11, p. 2903-2927, 2009.

MANRIQUE, W. G. **Toxicidade aguda e risco ecotoxicológico do fipronil para *Poecilia reticulata* e dissipação no ambiente aquático**. 2009, 58 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2009.

MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. 2020. **Informações Técnicas**. Disponível em <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-agricolas/agrotoxicos/informacoes-tecnicas>. Acesso em 16 jan. 2020.

MARCO, A.; BLAUSTEIN, A. R. The effects of nitrite on behavior and metamorphosis in cascade frogs (*Rana cascadae*). **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 18, n. 5, p. 946-949, 1999.

MARCUZZO, F. F. N.; GOULARTE, E. R. P.; MELO, D. C. R.; PINTO FILHO, R. F.; CARDOSO, M. R. D. Mapeamento espacial, temporal e sazonal das chuvas no bioma Cerrado do estado do Tocantins. **XV Simpósio Brasileiro de Sensoriamento Remoto**, p. 5217-5224, 2011.

MARTINELLI, L. A.; PICCOLO, M. C.; TOWNSEND, A. R.; VITOUSEK, P. M.; CUEVAS, E.; MCDOWELL, W.; ROBERTSON, G. P.; SANTOS, O. C.;

TRESEDER, K. Nitrogen stable isotopic composition of leaves and soil: tropical versus temperate forests. **Biogeochemistry**, v. 46, n. 1, p. 45-65, 1999.

MARTINELLI, L. A.; OMETTO, J. P. H. B.; FERRAZ, E. S.; VICTORIA, R. L.; CAMARGO, P. B. de; MOREIRA, M. Z. **Desvendando questões ambientais com isótopos estáveis**. São Paulo - SP, 2009.

MARTINELLI, A. M.; JOLY, C. A.; NOBRE, C. A.; SPAROVEK, G. A falsa dicotomia entre a preservação da vegetação natural e a produção agropecuária. **Biota Neotropica**, v. 10, n. 4, p. 324-330, 2010.

MARTINS, J. C. R.; MENEZES, R. S. C.; SAMPAIO, E. V. S. B.; dos SANTOS, A. F. B.; NAGAI, M. A. Biomass productivity in agroforestry and traditional systems in the “Cariri Paraibano” [Produtividade de biomassa em sistemas agroflorestais e tradicionais no Cariri Paraibano]. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 17, n. 6, p. 581-587, 2013.

MATTEO, K. C.; ARAÚJO, W. S. A.; MATRICARDI, E. A. T.; PARO, P.; OLIVEIRA, F. T. **Zoneamento Ecológico-Econômico do Estado do Tocantins - populações tradicionais**. p. 159, 2016.

MCDIARMID, R. W.; ALTIG, R. Tadpoles: **The Biology of Anuran Larvae**. Chicago: The University of Chicago, 1999.

MCDIARMID, R.W. **Keys to a successful project: associated data and planning: Data Standards**. In: Heyer, W.R.; Donnelly, M.A.; Mcdiarmid, R.W.; Hayek, L.C.; Foster, M.S. (Eds). *Measuring and monitoring biological diversity. standard methods for amphibians*. Washington, Smithsonian Institution Press, p.57-60, 1994.

MIGUEL, E. P.; MELO, R. R. D. E. Floristic - structural characterization and successional group of tree species in the Cerrado biome of Tocantins state. Brazil. **Revista Caatinga**, v. 29, n. 2, p. 393-404, 2016.

MIKÓ, Z.; UJSZEGI, J.; GÁL, Z.; HETTYEY, A. Standardize or diversify experimental conditions in ecotoxicology? A case study on herbicide toxicity to larvae of two anuran amphibians. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, v. 73, n. 4, p. 562-569, 2017.

MILHOME, M. A. L.; SOUSA, D. de O. B.; LIMA, F. de A. F.; NASCIMENTO, R. F. do. Assessment of surface and groundwater potential contamination by agricultural pesticides applied in the region of Baixo Jaguaribe, CE, Brazil. **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, v. 14, n. 3, p. 363-372, 2009.

MIRANDA, H.C. R.; MALVASIO, A. Ecologia trófica de anfíbios anuros na planície do rio Araguaia, Tocantins. In: **9º Seminário de Iniciação Científica da UFT**, v. 5, 2013.

MIRANDA, H. C. R. de. Estudo da Ecologia Trófica de *Leptodactylus latrans*, através de Isótopos Estáveis de Carbono ( $\delta^{13}\text{C}$ ) e Nitrogênio ( $\delta^{15}\text{N}$ ), na planície do rio Araguaia, Estado do Tocantins. 206, 44 f. Monografia - Universidade Federal do Tocantins, Palmas, 2016.

- MORAES, P. V. D.; ROSSI, P. Comportamento ambiental do glifosato. **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 9, p. 22-35, 2010.
- MORAGAS, W. M.; SCHNEIDER, M. O. Biocidas: suas propriedades e seu histórico no Brasil. **Caminhos de Geografia - Revista on line**, v. 3, n. 10, p. 26-40, 2003.
- MOREIRA, R. A.; DAAM, M. A.; VIEIRA, B. H.; SANCHES, A. L. M.; REGHINI, M. V.; MOTT, T.; NUNES, P. M. S.; NOGUEIRA, C.; RODRIGUES, M. T. Anfíbios da Estação Ecológica Serra Geral do Tocantins, região do Jalapão, Estados do Tocantins e Bahia. **Biota Neotropica**, v. 11, n. 1, p. 251-261, 2011.
- NEVES, C. O. M. **Caracterização das áreas queimadas no estado do Tocantins no ano de 2014**. 2016, 42f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Tocantins, Gurupi, 2016.
- NOLETO JUNIOR., S. **Avaliação ambiental estratégica do programa hidroagrícola da planície do Araguaia, Estado do Tocantins**. 2005, 174 f. Dissertação (Mestrado) -: Universidade Federal do Tocantins - UFT, Palmas, 2005.
- NOMURA F.; MACIEL, N. M.; PEREIRA E. B.; BASTOS, R. P. Anura diversity (Amphibia) in recovered areas of mining activity in cerrado and eucalyptus urophylla planting in central Brazil. **Bioscience Journal**, v. 28 n. 2, p. 312-324, 2012.
- OLIVEIRA, C. de; SANTOS, L. R. de S.; ZIERI, R. Variações anatômicas no aparelho reprodutor masculino de *Chaunus ornatus* (Wied-Neuwied, 1821) (Anura, Bufonidae). **Biota Neotropica**, v. 7, n. 1, p. 3-8, 2007.
- OLIVEIRA, L. L. D. de. **Biomarcadores Enzimáticos e Testes Ecotoxicológicos na Avaliação da Toxicidade de Fármacos em Invertebrados Aquáticos**. 2014, 279 f. Tese (Doutorado) - Universidade de São Paulo, São Carlos, 2014.
- ORTIZ-SANTALIESTRA, M. E.; FERNÁNDEZ-BENÉITEZ, M. J.; LIZANA, M.; MARCO, A. Influence of a combination of agricultural chemicals on embryos of the endangered gold-striped salamander (*Chioglossa lusitanica*). **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 60, n. 4, p. 672-680, 2011.
- PALODETTO, B. Influência dos polimorfismos cyp2b6 g15631t, gstm1, gstt1, nqo1 c609t e mdr-1 c3435t na resposta ao tratamento de leucemia aguda e síndrome mielodisplásica. 2012, 111 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2012.
- PAZINATO, D. M. M.; TRINDADE, A. de O.; OLIVEIRA, S. V. de; CAPELLARRI, L. H. Dieta de *Leptodactylus latrans* (Steffen, 1815) na Serra do Sudeste, Rio Grande do Sul, Brasil. **Biotemas**, v. 24, n. 4, p. 147-151, 2011.
- PELTZER, P. M.; LAJMANOVICH, R. C.; SÁNCHEZ-HERNANDEZ, J. C.; CABAGNA, M. C.; ATTADEMO, A. M.; BASSÓ, A. Effects of agricultural pond eutrophication on survival and health status of *Scinax nasicus* tadpoles. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 70, n. 1, p. 185-197, 2008.
- PEREIRA, A. L. Isótopos estáveis em estudos ecológicos: métodos, aplicações e perspectivas. **Converter**, v. 13, n. 1-2, p. 16-27, 2001.

PETER, T. J. C.; ROOY, V.; STUMPEL, A. H. P. Ecological Impact of Economic Development on Sardinian Herpetofauna. **Conservation Biology**, v. 9, n. 2, 1995.

PEZZUTI, T. L. **Girinos do quadrilátero ferrífero, sudeste do Brasil: Ecomorfologia e chave de identificação interativa**. 2011, 212f. Dissertação (Pós-graduação) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2011.

PHILIPPI JUNIOR, A.; PELICIONI, M. C. F. **Educação ambiental e sustentabilidade**. In: **Educação ambiental e sustentabilidade**. Barueri, SP:Manole, 2005.

PIATTI, L.; SOUZA, F. Diet and resource partitioning among anurans in irrigated rice fields in Pantanal, Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, v. 71, n. 3, p. 653- 661, 2011.

PINHO, T.G. **"Primavera Silenciosa" Estudo estatístico da relação entre o volume de agrotóxicos comercializados e o aumento do aparecimento de tumores cancerígenos no estado do Paraná**. 2019, 60f. Trabalho (conclusão de curso) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Londrina, 2019.

POCHINI, K. M.; HOVERMAN, J. T. Immediate and lag effects of pesticide exposure on parasite resistance in larval amphibians. **Parasitology**, v. 144, n. 6,p. 817-822, 11 maio 2017.

POTAFOS. **Manual Internacional de Fertilidade do Solo. Tradução e adaptação de Alfredo Scheid Lopes. - 2 ed., rev. e ampl. - Piracicaba: POTAFOS, 1998. 177 p.**

POUGH, F. H.; JANIS, C. M.; HEISER, J. B. **A Vida dos Vertebrados**. 4ed. ed.São Paulo: Atheneu Editora São Paulo Ltda, 2008.

PRADO, V. H. M. do. **Similaridade ecológica em comunidades de girinos: o papel de componentes históricos (filogenéticos) e contemporâneos (ecológicos)**. 2006. 158f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista, São José do Rio Preto, 2006.

PRADO, G. L. do. **Avaliação da susceptibilidade à contaminação de corpos hídricos, em áreas de cultivo e do entorno (reservas indígenas), pelo uso de agrotóxicos**. 2013, 103 F. Dissertação (Graduação) - Universidade Federal do Tocantins, 2013.

PRIMAVESI, A. **Manejo Ecológico do Solo: A Agricultura em Regiões Tropicais**. São Paulo: Nobel, 2002.

QU, H.; MA, R.; LIU, D.; GAO, J.; WANG, F.; ZHOU, Z.; WANG, P. Environmental behavior of the chiral insecticide fipronil: Enantioselective toxicity, distribution and transformation in aquatic ecosystem. **Water Research**, v. 105, p. 138-146, 2016.

QUEIROZ, J. M.; ALMEIDA, F. S.; PEREIRA, M. P. dos S. Biodiversity conservation and the role of ants (Hymenoptera: Formicidae) in agroecosystems. **Floresta e Ambiente**, v. 13, n. 2, p. 37-45, 2006.

QUIRINO, R.; FERREIRA, de S.; CAMARGO, M. O.; TEIXEIRA, P. R.; SOUZA, P. B. de; SOUZA, D. J. de. Diversidade florística do estrato arbustivo - arbóreo de três áreas de Cerrado *sensu stricto*, Tocantins. **Desafios-Revista InterdisciplinarDa Universidade Federal do Tocantins**, v. 4, n. 2, p. 69-82, 2017.



- RAJAGURU P, KALPANA, R.; HEMA, A. SUBA, S.; BASKARASETHUPATHI, B.; KUMAR P.; KALAISELVI, K. Genotoxicity of some sulfur dyes on tadpoles (*Rana hexadactyla*) measured using the comet assay. **Environmental and Molecular Mutagenesis**, v. 38, n. 4, p. 316-322, 2001.
- RAZ-GUZMAN, A.; DE LA LANZA, G.; SOTO, L. A. Caracterización isotópica ( $S^{13}C$ ) de la carcinofauna del sistema lagunar de Alvarado, Veracruz, México. *Revista de Biología Tropical*, p. 73-79, 1993.
- REBOUÇAS, A. da C. Água e desenvolvimento rural. **Estudos Avançados**, v. 15, n. 43, p. 327-344, 2001.
- RESENDE, I. L. de M.; ARAÚJO, G. M. de; OLIVEIRA, A. P. de A.; OLIVEIRA, A. P. de; ÁVILA Júnior, R. S. de. A comunidade vegetal e as características abióticas de um campo de murundu em Uberlândia, MG. **Acta Botanica Brasilica**, v. 18, n.1, p. 9-17, 2004.
- RIBEIRO, J.; COLLI, G. R.; BATISTA, R.; SOARES, A. Landscape and local correlates with anuran taxonomic, functional and phylogenetic diversity in rice crops. **Landscape Ecology**, v. 32, n. 8, p. 1599-1612, 2017.
- RIBEIRO, J.; COLLI, G. R.; SOARES, A. M. V. M. The anurofauna of a vanishing savanna: the case of the Brazilian Cerrado. **Biodiversity and Conservation**, v. 29, n. 6, p. 1993-2015, 2020.
- RICKLEFS, R.E. **A Economia da Natureza**. 5ª ed. Editora Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 2003
- ROCHA, A. G. da. **Agrotóxicos: Uma análise comparativa da legislação entre Brasil, União Europeia e Estados Unidos da América**. 2014, 75f. Monografia (Graduação) - Universidade de São Paulo, São Carlos, 2014.
- RODRIGUES, F. A. C. **Ecogenotoxicologia dos agrotóxicos: avaliação comparativa entre ecossistema agrícola e Área de Proteção Ambiental**. 2006, 112f. Tese (Doutorado) - Universidade de Brasília, Brasília, 2006.
- RODRÍGUEZ, Y. A. **Potencial Tóxico e genotóxico do inseticida imidacloprido em organismos não alvos**. 2016, 109f. Tese (Doutorado) -Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 2016.
- ROSSA-FERES, D. de C.; SAWAYA, R. J.; FAIVOVICH, J.; GIOVANELLI, J. G. R.; BRASILEIRO, C. A.; SCHIESARI, L.; ALEXANDRINO, J.; HADDAD, C. F. B. Anfíbios do Estado de São Paulo, Brasil: conhecimento atual e perspectivas. **Biota Neotropica**, v. 11, p. 0-19, 2011.
- ROUSE, J. D.; BISHOP, C. A.; STRUGER, J. Nitrogen pollution: an assessment of its threat to amphibian survival. **Environmental health perspectives**, v. 107, n. 10, p. 799-803, 1999.
- SANCHEZ, L. C.; PELTZER, P. M.; LAJMANOVICH, R. C.; MANZANO, A. S.; JUNGES, C. M.; ATTADEMO, A. M. Reproductive activity of anurans in a dominant agricultural landscape from central-eastern Argentina. **Revista Mexicana de Biodiversidad**, v. 84, n. 3, p. 912-926, 2013.
- SANCHES, A. L. M.; VIEIRA, B. H.; REGHINI, M. V.; MOREIRA, R. A.; FREITAS, E. C.; ESPÍNDOLA, E. L. G.; DAAM, M. A. Single and mixture toxicity of

abamectin and difenoconazole to adult zebrafish (*Danio rerio*). **Chemosphere**, v. 188, p. 582-587, 2017.

SANCHES, A. L. M.; DAAM, M. A.; FREITAS, E. C.; GODOY, A. A.; MEIRELES, G.; ALMEIDA, A. R.; DOMINGUES, I.; ESPÍNDOLA, E. L. G. Lethal and sublethal toxicity of abamectin and difenoconazole (individually and in 2 mixture) to early life stages of zebrafish. **Chemosphere**, 2018.

SANO, E. E.; ROSA, R.; BRITO, J. L. S.; FERREIRA, G. Mapeamento semidetalhado do uso da terra do Bioma Cerrado. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v. 43, n. 1, p. 153-156, 2008.

SANTOS, E. R. dos. **Análise Florística e Estrutura Fitossociológica da vegetação lenhosa de um trecho de Cerrado *stricto sensu* do Parque Estadual do Lajeado**. 2000, 75f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2000.

SANTOS, T. C. C.; CÂMARA, J. B. D. **Geo Brasil 2002: perspectivas do meioambiente no Brasil**. Brasília, DF: IBAMA, p. 48-67, 2002.

SANTOS, A. B. dos; RABELO, R. R. Informações Técnicas para a cultura do arroz irrigado no Estado do Tocantins. **Embrapa Arroz e Feijão-Documentos (Infoteca-E)**, 2008.

SANTOS, P. **Avaliação dos efeitos dos genotóxicos dos corpos de água temporários de um perímetro irrigado do semiárido sergipano, por meio do teste SMART em *Drosophila melanogaster* (meigen, 1830) e do teste do micronúcleo em anfíbios de *Hypsiboas creptans* (wied-neuwi)**. 2014. 83f.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, 2014.

SARAIVA, A. de S. Avaliação da Toxicidade de Tiametoxam, Ciproconazol e Paraquat em Invertebrados Aquáticos. 2016, 91f. Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Tocantins, Gurupi, 2016.

SAUTERER, R.; RAYBURN, J. R. Introducing Environmental Toxicology in Instructional Labs: The Use of a Modified Amphibian Developmental Toxicity Assay to Support Inquiry-Based Student Projects. **The American Biology Teacher**, v. 74, n. 7, p. 496-502, 2012.

SBH. Sociedade Brasileira de Herpetologia. São Paulo, 2016. **List of Species**. Disponível em: <<http://www.sbherpetologia.org.br>> Acesso em: 10 mar. 2017.

SCARIOT, A.; SOUSA-SILVA, J. C.; FELFILI, J. M. **Cerrado: ecologia, biodiversidade e conservação**. Ministério do Meio Ambiente, 2005.

SCORZA JÚNIOR, R. P. ACHA: Avaliação da Contaminação hídrica por agrotóxico. **Embrapa agropecuária oeste-boletim de pesquisa e desenvolvimento (INFOTECA-E)**, 2010.

SEMLITSCH, R. D. Differentiating Migration and Dispersal Processes for Pond-Breeding Amphibians. **Journal of Wildlife Management**, v. 72, n. 1, p. 260-267, 2008.

SEMLITSCH, R. D.; TODD, B. D.; BLOMQUIST, S. M.; CALHOUN, A. J. K.; GIBBONS, J. W.; GIBBS, J. P.; GRAETER, G. J.; HARPER, E. B.; HOCKING, D. J.; HUNTER-JR, M. L.; PATRICK, D. A.; RITTENHOUSE, T. A.G.; ROTHERMEL,

- B.B. Effects of timber harvest on amphibian populations: understanding mechanisms from forest experiments. **BioScience**, v. 59, n. 10, p. 853-862, 2009.
- SENRA, N. de C. **O censo entra em campo: o IBGE e a história dos recenseamentos agropecuários**. IBGE, 2014.
- SILVA, A. R. P.; ALMEIDA, M. G. O agronegócio e o Estado do Tocantins: o atual estágio de consolidação. **Caminhos de Geografia**, v. 8, n. 21, 2007.
- SILVA, J. M.; SANTOS, J. R. Toxicologia de agrotóxicos em ambientes aquáticos. **Oecologia Brasiliensis**, v. 11, n. 04, p. 565-573, 2007.
- SILVA, L. A. G. C. **Biomassas presentes no Estado do Tocantins**. Câmara dos Deputados, p. 1-10, 2007.
- SILVA, P. R. da. **Influência do herbicida quinclorac sobre os níveis de lipoperoxidação e das defesas antioxidantes enzimáticas no tecido muscular de *Lithobates catesbeianus* (ANURA: RANIDAE)**. 2014, 49f. Trabalho (Graduação) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2014.
- SILVA, S. L. de O. **Intoxicações por Agrotóxicos no Estado do Tocantins: 2010 - 2014**. 2016, 93f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2016.
- SISINNO, C. L. S.; OLIVEIRA-FILHO, E. C. Princípios de toxicologia ambiental. In: **Princípios de toxicologia ambiental**. 2013. p. 198-198.
- SLAVIERO, J. G. Efeitos da Toxicidade Crônica do Inseticida Cipermetrina em girinos de *Physalaemus gracilis* (amphibia, anura). 2017, 31f. Trabalho (Graduação) - Universidade Federal da Fronteira Sul, Erechim, 2017.
- SMALLING, K. L.; REEVES, R.; MUTHS, E.; VANDEVER, M.; BATTAGLIN, W. A.; HLADIK, M. L.; PIERCE, C. L. Pesticide concentrations in frog tissue and wetland habitats in a landscape dominated by agriculture. **Science of the Total Environment**, v. 502, p. 80-90, 2015.
- SOOKOO, N.; HAILEY, A.; AZAD MOHAMMED. Toxicity of six commercial pesticide formulations to larvae of two tropical frogs, *Rhinella (Bufo) marina* (Bufonidae) and *Engystomops (Physalaemus pustulosus) (Leptodactylidae)*. **Journal of Aquatic Pollution and Toxicology**, v. 1, n. 2, p. 1-11, 2017.
- SOUZA, G. M. de; MATRICARDI, E. A. T. Mapeamento do uso e ocupação do solo nos anos 2000, 2005 e 2010 no município de Arraias, bacia do rio Paranã, Tocantins, Brasil, com dados de sensoriamento remoto. **Anais XV Simpósio Brasileiro de Sensoriamento Remoto**. p. 6450, 2011.
- STEFANELLO JÚNIOR, G. J.; STEFANELLO JÚNIOR, G. J.; GRUTZMACHER, A. D.; SPAGNOL, D.; PASINI, R. A.; BONEZ, C.; MOREIRA, D. C. Persistência de agrotóxicos utilizados na cultura do milho ao parasitoide *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Ciência Rural**, v. 42, n. 1, p. 17-23, 2012.
- STUART, S.N., HOFFMANN, M., CHANSON, J.S., COX, N.A., BERRIDGE, R.J., RAMANI, P. and YOUNG, B.E. **Threatened Amphibians of the World**. Published by Lynx Edicions, IUCN and Conservation International, Arlington, Virginia, USA, 2008.

STURZA, P. F. **Toxicidade aguda e crônica em girinos de *Physalaemus gracilis* (ANURA: LEPTODACTYLIDAE) expostos à atrazina e tebuconazol.** 2017, 100f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal da Fronteira Sul, Erechim, 2017.

SVARTZ, G. V.; ARONZON, C. M.; COLL, C. S. P. Combined endosulfan and cypermethrin-induced toxicity to embryo-larval development of *Rhinella arenarum*. **Journal of Toxicology and Environmental Health - Part A: Current Issues**, v. 79, n. 5, p. 197-209, 2016.

TATUM, V. L. Toxicity, transport, and fate of forest herbicides. **Wildlife Society Bulletin**, v. 32, n. 4, p. 1042-1048, 2005.

TELES, M. P. M. **Efeitos fisiológicos e genotóxicos induzidos por contaminantes ambientais em peixes.** 2006, 295f. Dissertação (Doutorado) -Universidade de Aveiro, Portugal, 2006.

THORNHILL, D. J.; ROTJAN, R. D.; TODD, B. D.; CHILCOAT, G. C.; IGLESIAS-PRIETO, R.; KEMP, D. W.; LAJEUNESSE, T. C.; REYNOLDS, J. M.; SCHMIDT, G. W.; WARNER, M. E.; FITT, W. K. A connection between colony biomass and death in Caribbean reef-building corals. **PLoS One**, v. 6, n. 12, p. e29535, 2011.

TOBERGTE, D. R.; CURTIS, S. **Contribuição da ciência para o desenvolvimento sustentável.** Anais: Anais XVII Jornada de Iniciação Científica, Fundação Universidade do Tocantins, Palmas - TO: 2010.

TOCANTINS. Secretaria Estadual da Agricultura - SEAGRO. **Agricultura no Estado do Tocantins**, 2002. Disponível em: <https://seagro.to.gov.br/agricultura/>. Acesso em 23 ago. 2016.

\_\_\_\_\_. **Decreto nº 2.432**, de 06 de janeiro de 2005. regulamenta a outorga do direito de uso de recursos hídricos de que dispõe os artigos 8º, 9º e 10 da Lei 1.307, de 22 de março de 2002. Disponível em: <https://central3.to.gov.br/arquivo/107424/#:~:text=1%20de%2010-,DECRETO%20No%202432%2C%20de%206%20de%20junho%20de%202005.,2%20de%20mar%C3%A7o%20de%202002.&text=Incumbe%20ao%20Instituto%20Natureza%20do,de%20uso%20dos%20recursos%20h%C3%ADricos>. Acesso em 03 set. 2018.

\_\_\_\_\_. Secretaria do Planejamento e Meio Ambiente - SEPLAN. **Pesquisa de fauna e flora e elaboração dos estudos das alterações da cobertura vegetal da ocupação antrópica, Regiões Central e Leste do estado do Tocantins.** Belo Horizonte, MG, 2006.

\_\_\_\_\_. Secretaria de Meio Ambiente e Recursos Hídricos - SRHMA. **Plano de Bacia Hidrográfica do rio Formoso - PBH rio Formoso**, 2012a. Disponível em: <https://semarh.to.gov.br/comites-de-bacia-hidrografica/>. Acesso em 03 set. 2018.

\_\_\_\_\_. Secretaria do Planejamento e Meio Ambiente - SEPLAN. **Atlas do Tocantins: subsídios ao planejamento da gestão territorial.** Palmas, 2012b.

\_\_\_\_\_. Secretaria da Agricultura, da Pecuária e do Desenvolvimento Agrário. **Revitalização do projeto rio Formoso.** [s.l.], 2012c.

\_\_\_\_\_. Secretaria Estadual da Saúde. **Plano Estadual de Vigilância em Saúde de Populações Expostas a Agrotóxicos do Estado do Tocantins**, 2013.

Disponível em: <https://central3.to.gov.br/arquivo/296331/>. Acesso em 03 set. 2018.

\_\_\_\_\_. Secretaria do Planejamento e Orçamento. **Zoneamento Ecológico-Econômico do Estado do Tocantins. Prognóstico Ecológico-Econômico do Estado do Tocantins**. Palmas: Seplan/GIES, vol. I, 2017.

\_\_\_\_\_. Secretaria do Planejamento e Orçamento - SEPLAN. **Perfil do Agronegócio Tocantinense**. Palmas, 2016. Disponível em: <https://central3.to.gov.br/arquivo/354694/>. Acesso em: 23 ago. 2019.

TODD, B. D.; BERGERON, C. M.; HEPNER, Mark J.; HOPKINS, William A. Aquatic and terrestrial stressors in amphibians: A test of the double jeopardy hypothesis based on maternally and trophically derived contaminants. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 30, n. 10, p. 2277-2284, 2011.

TOWNSEND, C. R.; BEGON, M.; HARPER, J. L. **Fundamentos em ecologia**. 3a ed. Porto Alegre: Artmed, 2010.

VALDUJO, P. H.; CAMACHO, A.; RECODER, R. S.; TEIXEIRA JUNIOR, M.; GHELLERE, J. M. B.; MOTT, T.; NUNES, P. M. S.; NOGUEIRA, C.; RODRIGUES, M. T. Anfíbios da Estação Ecológica Serra Geral do Tocantins, região do Jalapão, Estados do Tocantins e Bahia. **Biota Neotropica**, v. 11, n. 1, p. 251-261, 2011.

VALDUJO, P. H.; SILVANO, D. L.; COLLI, G.; MARTINS, M. Anuran species composition and distribution patterns in Brazilian Cerrado, a Neotropical Hotspot. **South American Journal of Herpetology**, v. 7, n. 2, p. 63-78, 2012.

VASCONCELOS, A. M. **Avaliação dos efeitos do agrotóxico vertimec® 18ce sobre girinos de *Lithobates catesbeianus* (Amphibia, Anura, Ranidae)**. 2014, 149f. Tese (Doutorado) - Universidade de São Paulo, São Carlos, 2014.

VAZ-SILVA, W.; MACIEL, N. M.; NOMURA, F.; MORAIS, A. R. de; BATISTA, V. G.; SANTOS, D. L.; ANDRADE, S. P.; OLIVEIRA, A. Â. B. de; BRANDÃO, R. A.; BASTOS, R. P. Guia de identificação das espécies de anfíbios (Anura e Gymnophiona) do estado de Goiás e do Distrito Federal, Brasil Central. Curitiba: **Sociedade Brasileira de Zoologia**, 2020.

VENTURINO, A.; SCHROEDER, T. M. F.; ROSENBAUM, E.; CASTRO, A. C. de.; ANGUIANO, O. L.; GAUNA, L.; D'ANGELO, A. M. P. de. The effect of pesticides on amphibians. **Toxicology Letters**, v. 95, n. 1001, p. 145-145, 1998.

WELTJE, L.; JANZ, P.; SOWIG, P. An interspecies correlation model to predict acute dermal toxicity of plant protection products to terrestrial life stages of amphibians using fish acute toxicity and bioconcentration data. **Chemosphere**, v. 189, p. 619-626, 2017. <https://doi.org/10.1016/J>.

WESZ JUNIOR, V. J. **Dinâmicas e estratégias das agroindústrias de soja no Brasil**. Editora e-papers, 2011.

WINKALER, E. U.; SILVA, A. das G.; GALINDO, H. C.; MARTINEZ, C. B. dos R. Biomarcadores histológicos e fisiológicos para o monitoramento da saúde de

peixes de Ribeirões de Londrina, Estado do Paraná. *Acta Scientiarum. Biological Sciences*, v. 23, p. 507-514, 2008.

WRUBLESWSKI, J.; REICHERT JUNIOR., F. W.; GALON, L.; HARTMANN, P. A.; HARTMANN, M. T. Acute and chronic toxicity of pesticides on tadpoles of *Physalaemus cuvieri* (Anura, Leptodactylidae). *Ecotoxicology*, v. 27, n. 3, p. 360-368, 2018.

## CAPÍTULO II

**INFLUÊNCIA DE PRÁTICAS AGRÍCOLAS E EXPOSIÇÃO A PESTICIDAS EM  
POPULAÇÕES NATURAIS DE ANUROS: CASO DE ESTUDO DO PROJETO  
FORMOSO DO ARAGUAIA**

## 1. INTRODUÇÃO

A incapacidade em atender às novas necessidades humanas por alimento é estimulada pelo crescimento populacional mundial e induzem às práticas agrícolas. A agricultura brasileira segue em ascendência nas últimas décadas, com registro de mais de 500% de aumento na produção de grãos (47 para 237 milhões de toneladas) e 70% de aumento em área plantada, entre os anos de 1997 e 2017. Considerando o período de 2000 à 2018, as áreas destinadas à produção agrícola aumentou em 45% (Ibge, 2020; Saath & Fachinello, 2018).

O prognóstico, apresentado para economia mundial em 2020, previu crescimento a taxa 3,6% ao ano (correspondente à 90 trilhões de dólares), 40% maior do que o apresentado para 2012. O crescimento da população mundial em 750 milhões de pessoas (basicamente de países emergentes e em desenvolvimento), corresponderia a cerca de um quarto do aumento do Produto Interno Bruto – PIB. Para tanto, a elevação da produtividade respondendo pelo restante, com o crescimento do PIB per capita em cerca de 30% durante o mesmo período (Fiorentino et al., 2012).

Quase metade da população economicamente ativa, nos países em desenvolvimento, depende de atividades agrícolas. A agricultura concentrada em alguns poucos países, a exemplo do Brasil, é uma das poucas atividades capazes de gerar renda monetária e não monetária assim como serviços. Portanto, dois são os desafios encontrados pela agricultura: impedir que a produção agropecuária mundial fique aquém do necessário à satisfação das necessidades humanas e, possibilitar aos que se encontram em situação de pobreza possam fazer do aumento da produção agropecuária o meio de sua inserção no sistema produtivo e de sua emancipação social (Abramovay, 2010).

Para atender as necessidades da população projetada para 2050 (em 10 bilhões de pessoas), a agricultura mundial terá de ampliar a produção de alimentos em 80%. As demandas de alimentação para a população global são crescentes sobre a agricultura brasileira, devendo ultrapassar 222 milhões de toneladas de grãos até 2022, sendo que, o país deverá responder por metade desse montante. Com base em dados atuais do agronegócio brasileiro está previsto o país



ultrapassar os U\$\$ 100 bilhões em exportações, correspondente a cinco vezes maior do que o registrado neste ano (U\$\$ 42 bilhões, nos cinco primeiros meses de 2020) (Dall’Agnol, 2020; FAO, 2020).

Os investimentos na agricultura têm sido uma das estratégias mais eficazes para reduzir a pobreza, a fome e promover o desenvolvimento econômico. Em toda a Ásia e em partes da América Latina, o uso de fertilizantes e sementes tem expandido, acompanhado por investimentos em irrigação entre outros (como por exemplo: estradas rurais, *marketing* infraestrutura e serviços financeiros, pavimentando o caminho para mercados dinâmicos de insumos comerciais). O acesso a insumos, incluindo pesticidas é vital para a crescente produção agrícola e a população rural tende a ser os maiores investidores em agricultura nos países em desenvolvimento, para subsistência (FAO, 2015).

O Brasil é totalmente, dependente do uso de pesticidas para manter a produtividade agrícola em alta. Por ano, calcula-se que sejam gastos mais de US\$ 800 milhões de dólares, apenas com a compra de herbicidas dos quais, a maioria é empregado em culturas de grãos, principalmente de arroz e soja (Regitano et al., 2001).

A expansão da agricultura está associada ao aumento do uso de pesticidas. Nos últimos 70 anos, para o controle e combate de vetores de doenças, garantindo o suprimento de alimentos para uma população em constante crescimento. Devido à segurança atribuída principalmente, aos piretróides, sua utilização na agricultura foi bastante difundida e a presença residual desses inseticidas nos alimentos pode constituir risco à população devido aos efeitos adversos causados em longo prazo (Albuquerque et al., 2016; Almeida et al., 2017; Burella et al., 2017; Chelme-Ayala et al., 2007; Fernandes et al., 2012; Looy et al., 2013; Santos et al., 2007; Younes & Galal-Gorchev, 2000).

No Brasil, existem disputas entre os poderes Legislativo e o Executivo, polarizados pelos segmentos que são a favor ou contra o uso dos agrotóxicos, que resultou em alteração do marco regulatório para avaliação e classificação toxicológica desses compostos (Brochart, 2020). Ao longo de 20 anos, há um crescente aumento de produtos registrados pelo país, conforme dados publicados pelo MAPA (2020), da ordem de 600%, em 2019 (equivalente à 474 agrotóxicos

que tiveram seu uso liberado) quando comparado ao ano 2000 (82 agrotóxicos liberados no ano). Apenas em 2020 até então, foram liberados pelo governo federal brasileiro o registro de 314 agrotóxicos (383%).

Em face disso, a maioria das ameaças ambientais está relacionada à agricultura (Junges et al., 2017). Assim, a forma como o cultivo agrícola é praticado no Brasil, acarreta prejuízos aos ecossistemas.

Na maioria das vezes, os compostos agrotóxicos são utilizados como único método de controle de “pragas” em práticas agrícolas, acarretando uma série de impactos negativos no ambiente. Em função do modo como tem sido feito o manejo do solo, recaem sobre a humanidade global e a sustentabilidade dessas práticas são questionadas inclusive, pelo próprio agronegócio (Townsend et al., 2010).

O aumento da comercialização desses produtos químicos se deve principalmente, em função da mudança do manejo de solo adotado pelo país (para o sistema de semeadura direta), no qual ocorre menor ação de revolvimento do solo e o preparo deixa de ser utilizado para o controle de vegetação indesejada no cultivo agrícola (Regitano et al., 2001). Sem dúvida, muitos dos compostos utilizados favoreceram o aumento da produtividade agrícola, assim como o controle de vetores causadores de doenças (Silva & Santos, 2007; Edwards, 1973).

Mas, é inegável que, o uso desordenado e excessivo de pesticidas agrícolas tem provocado impactos negativos sobre o ambiente, a partir da presença de resíduos no solo, na água, no ar, na fauna e na flora. A poluição das águas pela adição de substâncias, direta ou diretamente, alteram a natureza do corpo d'água prejudicando a vida (Von Sperling, 1996). Além da contaminação do meio, esses resíduos podem alcançar o homem por meio da cadeia alimentar e ocasionar danos à saúde (Silva & Santos, 2007; Edwards 1973).

Os problemas desencadeados para a produção agrícola são agravados pela fragmentação da paisagem e contaminação por pesticidas surgem nessas regiões e afetam a saúde do ecossistema (Abramovay, 2010).

No tocante a anurofauna, Rossa-Feres et al. (2011), afirmaram que as causas para o declínio global dos anfíbios, no Brasil e no mundo, estão essencialmente, vinculadas à destruição, degradação e fragmentação de habitats, principalmente, em decorrência do uso incorreto de agrotóxicos.

Esse declínio é agravado pela desconexão entre o hábitat aquático dos girinos e o hábitat terrestre dos adultos, induzida pelas atividades antrópicas. A perda de hábitat reduz diretamente a área e distribuição geográfica das espécies, reduzindo os seus tamanhos populacionais. A fragmentação dificulta o fluxo gênico entre as populações, levando a endocruzamento e perda de diversidade genética a longo prazo. Somente em 34 áreas prioritárias para conservação da biodiversidade mundial (chamados *hotspots* de biodiversidade), mais de 2.800 espécies endêmicas sofrem com a perda da vegetação natural (Fonseca et al., 2008).

Em torno de 60% dos 237 maiores cursos d'água superficial encontra-se alterados, com barramentos ou canais para irrigação de culturas agrícolas. Essas são ações que podem interferir na temperatura, na química das águas, nas taxas de sedimentação, causar impactos à biodiversidade e provocar a desintegração de comunidades biológicas complexas, que dependem da variabilidade natural do rio (Mcneely & Scherr, 2009).

A remoção da mata ciliar (vegetação que margeiam rios e lagos) é considerada o tipo de desmatamento, mais impactante para os anfíbios. Em uma paisagem, se toda a mata ciliar for removida, todos os fragmentos florestais estarão automaticamente desconectados dos corpos d'água e, com isso, os anfíbios padecem (Fonseca et al., 2008).

A agricultura é a maior usuária dos recursos hídricos de água doce, com uma média global de 70% de todas as fontes de águas superficiais. Portanto, é uma das atividades mais impactantes dos recursos hídricos pelo emprego e deposição de agrotóxicos e de fertilizantes, sendo simultaneamente, causa e vítima da poluição da água. É causa, pois polui as águas superficiais, via descargas de fertilizantes, de agrotóxicos, de sedimentos e de resíduos da agricultura, e as águas subterrâneas, devido a perda líquida do solo por práticas agrícolas inadequadas e, também através de salinização e alagamento de terras irrigadas. Torna-se vítima desse processo, ao utilizar águas residuais, subterrâneas e superficiais poluídas que contaminam e transmitem doenças aos consumidores e trabalhadores agrícolas (Papini et al., 2014).

Devido à segurança atribuída principalmente, aos piretróides sua utilização na agricultura foi bastante difundida (a exemplo de deltametrina, permetrina e cipermetrina, utilizados no controle dos insetos em lavouras), e a presença residual desses inseticidas nos alimentos pode ser um risco à população, considerando os efeitos adversos que podem causar em longo prazo (Santos et al., 2007).

Além de favorecer à efeitos adversos aos recursos hídricos, os agrotóxicos contribuem também para a contaminação do solo, por meio da lixiviação, sob ação da chuva, causando o carreamento dos resíduos para águas superficiais e subterrâneas (Carneiro et al., 2015), ou ainda, podem permanecer por mais tempo aderidos aos sedimentos, afetando comunidades diversas (Rocha, 2011; Bedor, 2008).

Conforme Pough et al. (1998), muitas espécies de populações de anfíbios dulcícolas, valem-se de locais aquáticos principalmente, para reprodução. Apesar de muitos químicos ocorrerem naturalmente, em alguns locais, pode haver um incremento devido as atividades antropogênicas (por exemplo agricultura), atingindo níveis que podem provar efeitos letais ou subletais nos organismos (Begon et al., 2007).

Tendo em vista que os ecossistemas de todo o mundo estão contaminados com pesticidas, se faz necessário maior entendimento sobre como as populações naturais lidam com a presença de pesticidas e as implicações para interações ecológicas. Do ponto de vista evolutivo, há evidências de que a tolerância a pesticidas pode ser alcançada, tanto a partir da seleção para tolerância constitutiva ao logo de várias gerações, quanto para indução de tolerância dentro de uma geração através da plasticidade fenotípica. O uso da terra e os mecanismos de tolerância dos anfíbios a pesticidas evoluídos estão associados a susceptibilidade a doenças (por exemplo ocasionadas por parasitas). Mas a direção da relação depende do tipo de local, com destaque para a complexidade entre o uso da terra e os desfechos da doença. Demonstrando que a tolerância evoluída a pesticidas pode influenciar indiretamente, as interações hospedeiro-parasita, sendo fundamental a inclusão de processos evolutivos em estudos ecotoxicológicos (HUA et al., 2017).

Características estruturais e microclimáticas do hábitat utilizados pelos anfíbios se apresentam amplamente distribuídas no território tocantinense. Além disso, as interações entre fatores bióticos e abióticos favorecem os organismos morfológicamente adaptados a determinados tipos de habitats (a exemplo daqueles formados em área com cultivos agrícolas). Em relação aos girinos, eventos de predação e competição, associados às características físico-químicas do ambiente condicionam a ocorrência de grupos específicos de espécies a determinados micro-habitat. Assim como a disponibilidade hídrica e a sazonalidade climática estão entre as variáveis que mais influenciam na distribuição dos girinos (Silvério-Júnior et al., 2009).

O Tocantins, é um estado predominantemente agropecuário, situado em domínio de Cerrado (mais de 90% da vegetação), localizado em posição geográfica estratégica para o desenvolvimento de agronegócio (região centro-norte do país). Além disso, apresenta características edafoclimáticas propícias para agricultura, com cerca de 55% do solo do estado apto para agricultura (exemplo de grãos arroz e soja), somado às terras destinadas para pastagem, atinge 70% do território tocantinense (Tocantins, 2010).

A maior parte das espécies de anfíbios se reproduz em poças temporárias localizadas em áreas abertas, embora existam espécies que ocorrem exclusivamente, em matas de galeria e utilizem corpos d'água lóticos para se reproduzir (Valdujo et al., 2011).

No entanto, as lacunas existentes no conhecimento técnico-científico principalmente, para regiões tropicais, prejudicam análises mais aprofundadas sobre os efeitos das práticas agrícolas em anfíbios dessa região.

Por algum tempo, a legislação brasileira apresentou algum rigor para a regulação legal desses compostos. No entanto, uso de agrotóxicos sempre apresentou falhas, no século XXI, mormente, após algumas mudanças nos aspectos jurídicos, como: a parca fiscalização (venda e uso); e os incentivos fiscais à venda dos agrotóxicos, agravaram a situação da fiscalização e controle do uso desses compostos no país e então, tornou-se o maior consumidor mundial (Rocha, 2014). Ainda assim, as intenções são para legalmente, facilitar o uso de pesticidas na agricultura (Jornal Nacional, 2017).

Em função da interação complexa existente no ecossistema e os diversos fatores ambientais, torna-se difícil avaliar seus efeitos puramente a partir de observações de análises físico-químicas (fatores abióticos) e correlações com efeitos dos fatores bióticos (Embrapa, 2006; Cunha, 2003; Silva, 1997; Embrapa, 1997).

Alguns organismos, como os girinos de anuros, particularmente, evidenciam que houve o desenvolvimento de formatos corporais especializados destinados a explorar habitats específicos. Para tanto, a maioria das espécies desta taxa estão intrinsicamente, dependentes da umidade do ambiente, em função do ciclo de vida ser diretamente influenciado pela disponibilidade hídrica, preferencialmente da chuva os tornam suscetíveis às variações ambientais e vulneráveis às atividades antrópicas (McDiarmid, 1994). A gama de modos reprodutivos dos anfíbios abrange desde ovos, girinos aquáticos até ovos terrestres, com desenvolvimento direto, possibilita a ocupação dos mais diversos hábitat, favorecendo a sua distribuição espacial (Rossa-Feres et al., 2011; Haddad & Prado 2005; Duellman & Trueb 1994).

Entretanto, até então, é baixo o conhecimento científico, sobre as diferenças morfométricas reais e funcionalidades desses atributos, entre as guildas ecomorfológicas e girinos ocupando os diferentes gradientes ambientais, o grau em que os componentes filogenéticos e ecológicos influenciam sua morfologia externa (Pezzuti, 2011).

A elevada biodiversidade de anfíbios associada às variações de reações específicas de cada espécie conjugados com o aumento do uso de pesticidas agrícolas, modificação do habitat (fragmentação do ambiente), são fatores considerados impactantes, de magnitudes incalculáveis até então e que se torna veemente, contribuições científicas emergenciais, visando o aumento de entendimento, sobre os efeitos dos pesticidas no comportamento dos anfíbios anuros de região tropical.

O presente estudo, pretendeu avaliar os efeitos provocados por diferentes práticas de manejo agrícola em populações de anuros tropicais. Para tal, foi selecionado como caso de estudo o agrossistema de Formoso do Araguaia, por apresentar um mosaico de práticas de gestão agrícola (por exemplo: monoculturas extensas *versus* paisagem alternando culturas com vegetação semi-natural, ou

agricultura com pastagem). Para atingir o objectivo principal deste trabalho, foram estudados os efeitos das diferentes práticas de manejo agrícola na diversidade específica e condição corporal de populações naturais de anuros em cinco locais no Formoso do Araguaia.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Autorizações para realização da pesquisa

O estudo contou com autorizações concedidas por instituições científicas brasileiras, para uso de animais da fauna silvestre e experimentação animal, conforme constam anexas, entre 2013 a 2017. A Coleta - remoção do espécime de seu habitat natural, colheita de amostras biológicas seguiu a Instrução Normativa nº 154/2007 do IBAMA, Resolução CFB 301 e *Standard Methods for Amphibians* (Heyer et al., 1994), busca ativa com capturas de forma manual, comequipamentos, como puçá ou peneiras (Auricchio & Salomão, 2002; Hildebrand, 1995).

- SISBIO/RAN: N° 36799-2/13, 34297-3/13, 34297-5/15, 45396-1/15, 34297-6/16, 36799-4/17, 45396-4/17, 45396-6/17, autorização para atividades com finalidade científica (ANEXO).
- CEUA/TO: Atividades com experimentação animal e pesticidas, liberada pelo Comissão em Ética de Pesquisa Animal, da Universidade Federal do Tocantins, Campus de Araguaína - TO (ANEXO).

### 2.2. Localização e caracterização dos locais de estudo

A área de estudo está situada em Formoso do Araguaia (Figura 2.1A), sendo este um dos 139 (cento e trinta e nove) municípios do estado do Tocantins (Figura 2.1B), com área de 277.620 km<sup>2</sup>, na região norte do Brasil. O Tocantins é um dos nove estados que compõem a região Amazônica, com 5,4% de seu território coberto pelo bioma Amazônico (Tocantins, 2012). A área de estudo engloba o Projeto Agrícola Formoso do Araguaia existente desde 1980 (quando o território de Tocantins ainda pertencia ao estado de Goiás). É um dos poucos projetos

agrícolas, implementados por instituição pública, conduzido atualmente, por cooperativas agrícolas, bem sucedido em termos de produção e produtividade.

Portanto, esta pesquisa foi desenvolvida em região tropical, a partir de populações naturais de anfíbios anuros, de cinco locais de estudo (três considerados de referência - R e dois representativos de diferentes práticas agrícolas - C) que apresentam diferentes influências de práticas de manejo agrícola: local C1, onde predomina o cultivo de arroz irrigado por inundação e de soja. As plantações são realizadas anualmente (janeiro a dezembro); local C2 – corresponde a uma paisagem mista que envolve cultivo de arroz e de soja e pastagem; R1 – corresponde a uma paisagem prístina de Cerrado; local R2 – é representativo do ecótono de transição entre Cerrado e Floresta Amazônica e (R3) Pastagem (Figura 2.1).

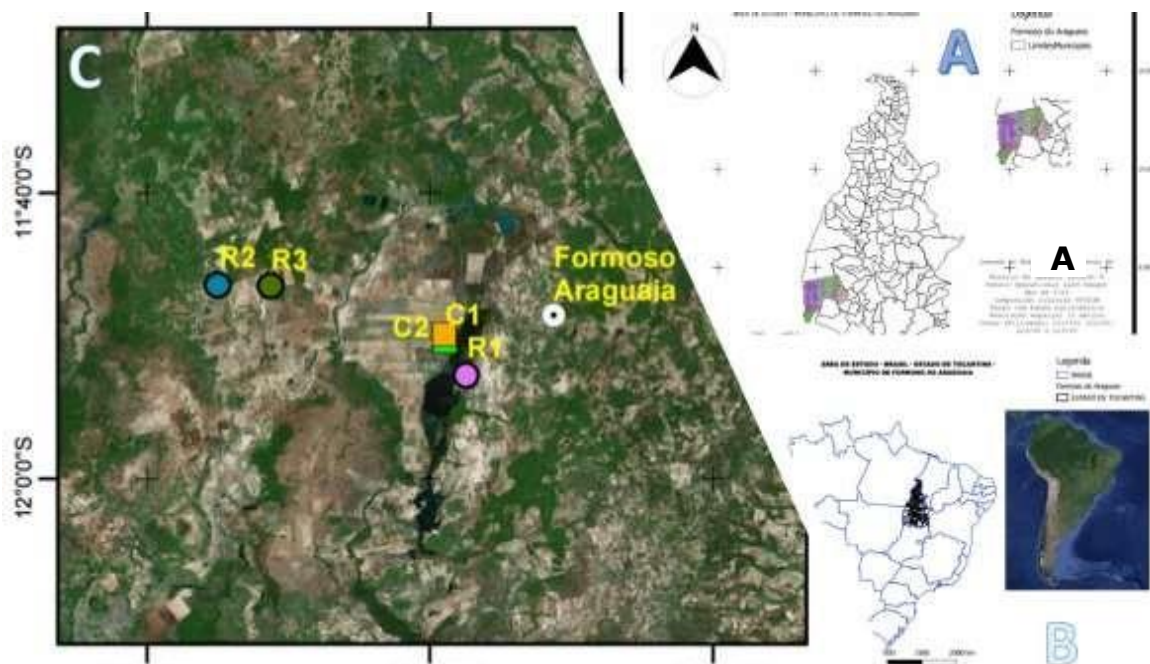


Figura 2.1: Mapas com a localização do Projeto Agrícola Formoso do Araguaia (Tocantins, Brasil), com a representação da distribuição geográfica dos cinco locais de estudo: C1, C2, R1, R2 e R3.

Além, desses cinco locais de estudo (Figura 2.1C), outros dois locais foram inseridos como referências para a qualidade da água e denominados por: Mina (R4) e Captação, ambos situadas no território de Formoso do Araguaia – TO.



*Breve descrição e justificativa da escolha dos locais de estudo*

Para cada uma das cinco áreas de estudo, em Formoso do Araguaia apresenta-se uma breve descrição do ambiente e justificativa da escolha do local conforme Figura 2.2 (A à E).



Figura 2.2: Locais de estudo, sendo que o (C1 ou Agrícola 1) é aquele situado no interior do cultivo agrícola de arroz irrigado por inundação; o (C2 ou Agrícola 2), Misto de Agrícola e Pastagem; o (R1 ou Cerrado), na margem da Lagoa do Taboca; o (R2) é o Ecótono; o (R3 ou Pastagem), no interior de pastagem plantada, Formoso do Araguaia - TO.

*Local agrícola C1: plantação de arroz e soja*

O local agrícola C1, está localizado no interior do Projeto Formoso do Araguaia (S 11° 48' 1,6" e W 49° 37' 12,8"; Figura 2.2D), no Município de Formoso do Araguaia, na porção sudoeste do estado do Tocantins. Neste local, ocorre o plantio anual tanto de arroz irrigado por inundação quanto de soja (esta última durante o período de seca).

Para o desenvolvimento deste trabalho, visitou-se o local pela primeira vez, durante o período chuvoso (mês de março de 2015) e constatou-se a presença de cultivo de arroz irrigado por inundação, com presença de canais artificiais, preparados por maquinários agrícolas, com a finalidade de irrigar ou drenar a área cultivada, situação essa, que foi importante para a escolha do local para o presente

estudo. A produção de arroz é industrializada em cooperativas do próprio estado, que beneficiam e ensacam o produto.

A escolha deste ambiente de estudo, foi por se tratar de área agrícola com longo tempo de prática agrícola, mais de 30 (trinta) anos de funcionamento ininterruptos, com predomínio de culturas bem definidas, atendeu aos seguintes critérios: situado em meio a cultura agrícola plantada, com uso de pesticidas em larga escala; presença de anfíbios, locais propícios a reprodução de anfíbios, tais como: locais úmidos; formação de poças (acúmulo de água temporária e/ou permanente), canais de irrigação. Esses critérios foram padronizados para todos os cinco pontos desta pesquisa locais adotados por anfíbios para reprodução e hábitat (Duellman & Trueb, 1994).

#### *Local agrícola C2: misto de plantação de arroz e soja com pastagem*

O local C2 (Figura 2.2A), sob influência agrícola, apresenta um misto de plantação de arroz e soja, com pastagem. Encontra-se localizado na divisa do Projeto Agrícola Formoso do Araguaia (S 11° 46' 46,6" W 49° 53' 18,7"), em confluência com propriedade rural privada, onde predomina atividade intensiva de pecuária, com solo coberto por pastagem plantada, com capim do tipo *Brachiaria decumbens*. O C2 é separado fisicamente, pelo rio Formoso, o qual recebe toda a água proveniente dos canais de irrigação agrícola (Tocantins, 2012).

Os critérios selecionados para demarcação deste local foram: estar às margens de área agrícola (ao lado da gleba de arroz irrigado por inundação) e pastagem; sob influência das águas que percorre toda a área agrícola, que deságuam no rio Formoso; constatada a presença de anfíbios anuros e locais favoráveis à sua reprodução, como: presença de locais úmidos; existência de poças (acúmulo de água temporária e/ou permanente).

#### *Local cerrado R1: paisagem de Cerrado*

O local R1 (Figura 2.2E), corresponde a paisagem de domínio de Cerrado, está situado a 35 quilômetros da zona urbana do município de Formoso do Araguaia – TO (S 12° 00' 37,6" W 49° 40' 08, 4"). Este local é considerado como

sendo de referência, no presente trabalho, por não apresentar influência de atividades antropogênicas. A presença de Cerrado foi fator determinante para a escolha deste ambiente, ademais conta com uma Lagoa, utilizada como reservatório da área agrícola, que juntamente com outros dois reservatórios (Calumbi I e Calumbi II), abastecem o Projeto Agrícola Formoso. Como nos demais pontos, neste também foi confirmada a existência de poças para reprodução de anfíbios (acúmulo de água temporária e/ou permanente) e de anfíbios anuros.

*Local ecótono R2: paisagem de Transição de Cerrado com Floresta Amazônica*

O local R2 (Figura 2.2C), fica nas proximidades do Parque Nacional do Araguaia, onde se localiza a Ilha do Bananal, região que conta com presença do Bioma de Floresta Amazônica. O R2 está separado da Ilha do Bananal pelo rio Javaés, um dos principais cursos de água, presente na região de Formoso do Araguaia, depois do rio Formoso (Brasil, 2002). Mais precisamente, o R2 está às Coordenadas Geográficas S 11° 47' 34,3" W 49° 45' 50,1" e Conta com a presença de mata ciliar/ vegetação nativa, constatada, durante o desenvolvimento de etapas desta pesquisa, a presença de espécies da fauna e flora do Bioma Amazônico no território tocantinense (Tocantins, 2012), a exemplo de "Ciganas", *Opistocerus dichotomus*, aves específicas da Amazônia, inventariadas em estudos fitofisionômicos realizados para o estado (Haidar et al., 2013; Tocantins, 2012; Silva, 2007; Tocantins, 2002).

Em função da falta de material biológico de anuro em quantidade suficiente para proceder a experimentos laboratoriais, e a fim de facilitar a logística para monitoramento, em busca de desova, também foi escolhido um segundo local, para coleta de material biológico desta pesquisa, livre de uso de pesticidas, Paraíso do Tocantins – TO, Brasil, localizada à Coordenadas Geográficas S 10° 11' 16,681" W 48° 52' 0,829".

*Local pastagem R3: paisagem de pastagem plantada*

O local R3 (Figura 2.2B), apresenta uma paisagem de pastagem plantada com capim *B. decumbens* e está localizado no município de Formoso do Araguaia

(S 11° 46' 37,8" W 49° 51' 13,1"), externamente à área de influência do projeto de irrigação Formoso. A criação de bovinos em pastagem plantada ou natural, é considerada a atividade econômica de grande peso para o estado, a pecuária juntamente com a agricultura predomina em solos de Cerrado. A escolha deste local, seguiu os seguintes critérios: presença de pastagem plantada, de bovinos e presença de populações de anfíbios; assim como locais favoráveis a reprodução de anfíbios, como: locais úmidos ou com presença de lagos, rios; possibilidade de existência de poças (acúmulo de água temporária e/ou permanente).

#### *Referências adicionais aos cinco locais de estudo*

Dois outros locais foram adicionados aos cinco locais de estudo desta pesquisa como áreas referências e a qualidade de água foi verificada em ambos:

##### *I. -Local Mina Azul R4: nascente de água na Mina do Morro Azul*

O local R4, fica à aproximadamente a 15 quilômetros do município de Formoso do Araguaia – TO, conhecido por Mina Azul ou Mina do Morro Azul (Jazida e Indústria de calcário) está localizado à Coordenadas Geográfica S 11° 55' 31,59" W 49° 34' 31,82. A presença de vegetação de domínio Cerrado, parcialmente cercada por vegetação ciliar - APP (nascente hídrica).

##### *II. Local captação: manancial (Córrego Papagaio)*

O local de captação dista a cinco km da área urbana do município de Formoso do Araguaia - TO, localizada às coordenadas geográficas S 11° 46' 47,7" e W 49° 53' 10,9". A qualidade da água bruta do manancial (Córrego Papagaio), monitorada semestralmente, tendo em vista a sua utilização para o abastecimento público de água em Formoso do Araguaia - Tocantins, realizado pela Companhia de Abastecimento do Tocantins - Odebrecht Ambiental/ Saneatins.

Para tanto, informações sobre o monitoramento da qualidade da água frequentemente realizada Odebrecht Ambiental/ Saneatins foi relatada para 2013 à 2015. Além disso, amostras de água tanto do R4 quanto da captação foram encaminhadas para análises cromatográficas, dos pesticidas selecionados bem como utilizadas em ensaios de toxicidade com girinos (conforme descrito neste capítulo).

### 2.3. Dados meteorológicos (2013-2017)

Praticamente, todas as espécies de anfíbios tem o seu ciclo reprodutivo regulado pela precipitação (Valdujo et al., 2011; Forlani et al., 2010). Além do mais, parâmetros de avaliação da qualidade da água, solo e do sedimento podem ser influenciados pela sazonalidade (Brandão et al., 2011; Tocantins, 2006; Goulart & Callisto, 2003; Embrapa, 1997), no caso do Tocantins, seis meses de seca e os outros seis meses do ano são chuvosos (Tocantins, 2012).

Tendo em vista que não foi possível a realização de monitoramento sazonal dos parâmetros físico-químicos da água e do solo procurou-se ao máximo, valer-se de dados secundários disponíveis para aumentar a certeza de conclusões aqui apresentadas. O mesmo raciocínio foi considerado, motivando o conhecimento sobre a variação da temperatura, umidade relativa do ar e da precipitação para a região de Formoso do Araguaia, imprescindível para associação aos efeitos registrados em anurofauna de região tropical. Para tanto, os dados meteorológicos da série histórica temporal de 2013 a 2017, obtidos em páginas da internet de instituições nacionais e estaduais, como: INPA, ANA, Semades foram recolhidos para permitir uma melhor caracterização do local de estudo.

### 2.4. Matrizes ambientais e procedimentos de coletas e processamento

Em cada um dos cinco locais de estudo foram efetuadas amostragens das seguintes matrizes ambientais: água superficial, sedimento, solo, vegetação e invertebrados. Todas as fontes de material bióticos e abióticos foram coletadas nos cinco locais de estudo, durante 2015 a 2017, de acordo com padrões especificados por manuais de técnicas e amostragem (Cota, 2015; Arruda et al., 2014; Brandão et al., 2011; Embrapa, 2006; Lemos & Santos, 1996) e autorizações (anexos) concedidas pelos órgãos de pesquisas e experimentação animal do Brasil.

**Água** - amostras de água de ecossistemas lênticos e lóticos, com sinais da presença de anuros em qualquer estágio de vida. **Solo** – as amostras de solo foram recolhidas de forma composta, nos cinco locais de estudo, na profundidade de 0 – 20 cm de profundidade com usos de trado do tipo caneco, sempre em proximidades e interior de habitat de anfíbios. **Sedimento** - amostras de sedimentos foram

recolhidas nos mesmos locais de onde foram obtidas as amostras de água, no fundo e entorno úmido de habitat de anfíbios. **Bióticos: Flora** - amostras da vegetação existentes no habitat de anfíbios. Fauna: **Invertebrados** (insetos e aracnídeos) - base da alimentação de anfíbios; **Anuros (adultos e girinos)**, em diferentes estágios de vida (Gosner, 1960). O detalhamento do material e métodos utilizados encontra-se descrito em “Caracterização físico-químicas e biológicas do ambiente”, por fonte amostrada.

As amostras ambientais (de água, solo e de sedimento) foram coletadas em três momentos, nos cinco locais de estudo, pela autora, tanto em 2015, quanto em 2016, com três finalidades: 1ª. amostras de água foram coletadas em 2015 na coluna da água e submetidas às análises físico-químicas para caracterização ambiental dos cinco locais de estudo, conforme Conama 357/ 2005, realizadas pelo laboratório Conágua Ambiental, em Goiânia, Goiás. 2ª. Amostras de solo foram coletadas em 2016, no perfil do solo a 0 - 20 cm de profundidade e enviadas para análises na Zoofértil, em Palmas, Tocantins, conforme metodologia da Embrapa, para caracterização do solo. 3ª. Amostras de água e de sedimentos foram coletadas em 2016 e enviadas para o ACS Laboratórios, em Goiânia, Goiás, para a quantificação de resíduos de pesticidas (utilizados na agricultura de arroz e soja de Formoso do Araguaia - TO), conforme descritos na Tabela 2.1.

**Tabela 2.1: Parâmetros analisados em amostras de água, solo e sedimento que foram recolhidas nos cinco locais da área de estudo, em Formoso do Araguaia - Tocantins, Brasil(2015 e 2016).**

Parâmetros analisados	Água superficial (2015 e 2016)	Sedimento (2016)	Solo (2016)
Clorofila a (µg/ l)	x		
<b>Cor verdadeira (mgPt-Col/ l)</b>	x		
Corantes de fontes antrópicas	x		
<b>DBO (mg/ l)</b>	x		
Densidade de cianobacterias (Cel/ ml)	x		
<b>Óleos e graxas (mg/ l)</b>	x		
OD (mg/ l)	x		
<b>pH</b>	x		
Resíduos sólidos objetáveis (mg/ l)	x		
<b>Sólidos totais dissolvidos (mg/ l)</b>	x		
Turbidez (NTU)	x		
<b>Alumínio dissolvido (mg/ l)</b>	x		
Antimônio total (mg/ l)	x		
<b>Arsênio (mg/ l)</b>	x		
Bário (mg/ l)	x		
<b>Bérblio (mg/ l)</b>	x		

**CAPÍTULO II: INFLUÊNCIA DE PRÁTICAS AGRÍCOLAS E EXPOSIÇÃO A PESTICIDAS EM POPULAÇÕES NATURAIS DE ANUROS: CASO DE ESTUDO DO PROJETO FORMOSO DO ARAGUAIA**

**Tabela 2.1: Parâmetros analisados em amostras de água, solo e sedimento que foram recolhidas nos cinco locais da área de estudo, em Formoso do Araguaia - Tocantins, Brasil (2015 e 2016). (continuação).**

Parâmetros analisados	Água superficial (2015 e 2016)	Sedimento (2016)	Solo (2016)
Boro (mg/ l)	x		
Cádmio (mg/ l)	x		
Chumbo (mg/ l)	x		
Cianeto livre (mg/ l)	x		
Cloreto (mg/ l)	x		
Cloro total (mg/ l)	x		
Cloro residual (mg/ l)	x		
Cobalto total (mg/ l)	x		
Cobre dissolvido (mg/ l)	x		
Cromo (mg/ l)	x		
Ferro dissolvido (mg/ l)	x		
Fluoreto (mg/ l)	x		
Fósforo (mg/ l)	x		
Lítio (mg/ l)	x		
Manganês (mg/ l)	x		
Mercurio (mg/ l)	x		
Níquel (mg/ l)	x		
Nitratos (mg/ l)	x		
Nitrogênio (mg/ l)	x		
Nitrito (mg/ l)	x		
Nitrogênio (mg/ l)	x		
Amoniacal (mg/ l)	x		
Prata (mg/ l)	x		
Selênio (mg/ l)	x		
Sulfato (mg/ l)	x		
Sulfeto (mg/ l)	x		
Urânio (mg/ l)	x		
Vanádio (mg/ l)	x		
Zinco (mg/ l)	x		
Nitrito (como N) (mg/ l)	x		
Demana Química de Oxigênio - DQO (mg/ l)	x		
1,1 dicloroetano (µg/ l)	x		
1,2 dicloroetano (µg/ l)	x		
2,4,5 - T (µg/ l); 2,4,5-TP (µg/ l)	x		
2,4,6 - Triclorofenol (µg/ l)	x		
2,4-D (µg/ l)	x		
2,4 - diclorofenol (µg/ l)	x		
2 - clorofenol (µg/ l)	x		
Acilamida (µg/ l)	x		
Alaclor (µg/ l)	x		
Aldrin + Dieldrin (µg/ l)	x		
Atrazina (µg/ l)	x		
Benzeno (µg/ l)	x		
Benzidina (µg/ l)	x		
Benzo (a) antraceno (µg/ l)	x		
Benzo(a)pireno (µg/ l)	x		
Benzo(b) + (k) fluoranteno (µg/ l)	x		
Carbaril (µg/ l)	x		
Clordano (µg/ l)	x		
Criseno (µg/ l)	x		
DDT (µg/ l)	x		
Demeton (µg/ l)	x		
Dibenzo (a) antraceno (µg/ l)	x		
Diclorometano (µg/ l)	x		
Dodecacloro pentaciclodecano (µg/ l)	x		
Endosulfan (µg/ l)	x		
Endrin (µg/ l)	x		
Estireno (µg/ l)	x		
Etilbenzeno (µg/ l)	x		
Fenois (mg/ l)	x		
Glifosato (µg/ l)	x		
Gution (µg/ l)	x		
Heptacloro e epitacloro epoxido (µg/ l)	x		

**Tabela 2.1: Parâmetros analisados em amostras de água, solo e sedimento que foram recolhidas nos cinco locais da área de estudo, em Formoso do Araguaia - Tocantins, Brasil (2015 e 2016). (continuação)**

Parâmetros analisados	Água superficial (2015 e 2016)	Sedimento (2016)	Solo (2016)
Hexaclorobenzeno (µg/ l)	x		
Indeno (1,2,3 - cd) pireno (µg/ l)	x		
Lindano (µg/ l)	x		
Malation (µg/ l)	x		
Metolacloro (µg/ l)	x		
Metoxicloro (µg/ l)	x		
Paration (µg/ l)	x		
Bifenilas policloradas (PCB's) total (µg/ l)	x		
Pentaclorofenol (µg/ l)	x		
Simazina (µg/ l)	x		
Surfactantes (mg/ l)	x		
Tetracloroeto de carbono (µg/ l)	x		
Tetracloroeteno (µg/ l)	x		
Tolueno (µg/ l)	x		
Toxafeno (µg/L)	x		
Tributil estanho (µg/ l)	x		
Triclorobenzeno (µg/ l)	x		
Tricloroeteno (µg/ l)	x		
Trifluralina (µg/ l)	x		
Xilenos (µg/ l)	x		
Tiametoxam	x	x	
Flubendiamida	x	x	
Fluazinan	x	x	
Imidacloprid	x	x	
Imidacloprid + tiodicarbe	x	x	
Profenofos	x	x	
Tiametoxam + cipermetrina	x	x	
Fipronil	x	x	
Tiodicarbe	x	x	
Acetamiprid	x	x	
Trifloxistrobina + tebuconazol	x	x	
Piraclostrobina + epoxiconazol	x	x	
Clorantraniliprole	x	x	
Azoxistrobina + ciproconazol	x	x	
Difenoconazol	x	x	
Trifloxistrobina + ciproconazol	x	x	
Fipronil + piraclostrobina	x	x	
Coliformes termotolerantes (nmp/100 ml)	x		
Coliformes totais (nmp/ 100ml)	x		
pH (CaCl <sub>2</sub> )			x
Argila (%)			x
Limo (%)			x
Areia (%)			x
Classe Textural (Embrapa USDA)			x
Matéria Orgânica (g/dm <sup>3</sup> )			x
Fósforo			x
Potássio			x
Cálcio (cmolc/dm <sup>3</sup> (mE/100 ml))			x
Cálcio + Magnésio (cmolc/dm <sup>3</sup> (mE/100 ml))			x
Alumínio (cmolc/dm <sup>3</sup> (mE/100 ml))			x
Acidez Potencial (cmolc/dm <sup>3</sup> (mE/100 ml))			x
Capacidade de Troca Catiônica - CTC			x
Saturação de Bases			x
Saturação por Alumínio			x
Índice de Fertilidade			x

#### 2.4.1. Coleta de amostras de água superficial

As amostras de águas superficiais foram recolhidas em dois momentos para análises distintas, sendo que, a primeira foi em 2015 e encaminhada ao laboratório



de análises químicas, em Goiânia - GO (Conágua Ambiental, 2015) e a segunda coleta foi realizada em 2016 (enviada para o ACS Laboratórios, 2016), conforme estão descritos na Tabela 2.1.

Os resultados obtidos a partir dessas análises foram comparados ao monitoramento da qualidade da água bruta do manancial (Córrego Papagaio), utilizada no abastecimento público de água em Formoso do Araguaia – Tocantins, de acordo com laudos técnicos, anexos ao Ofício nº 169/16/ODEBRECHT/AMBIENTAL/ SANEATINS, de 2013 à 2017, realizadas pelas empresas Bioagri a Mérieux NutriSciences Company (São Paulo) e Cetrel (Bahia), informados pela Companhia de Abastecimento do Tocantins, mediante relatórios impressos (Processo comercial: 794/2013-2).

#### 2.4.2. Coleta de amostras de sedimento

As amostras de sedimentos foram recolhidas em 2016 e encaminhadas ao laboratório de análises químicas (ACS Laboratórios, em Goiânia – Goiás), objetivando análise cromatográfica para detecção e quantificação de pesticidas agrícolas utilizados em Formoso do Araguaia - TO (Tabela 2.1).

A amostragem do sedimento foi realizada de acordo com a metodologia adaptada de Altig et al. (2007), para possibilitar a coleta de sedimentos que contribui para alimentação de girinos, já que são considerados organismos filtradores e raspadores de material em suspensão ou aderido à estruturas presentes na água (Wolmarans, 2015; Dimitrie & Sparling, 2014; Peltzer et al., 2013; Huckembeck, 2010; Brunelli et al., 2010).

A fim de amostrar o máximo possível dos resíduos que compõem a alimentação de larvas de anfíbios, utilizou-se as amostras compostas por três porções simples, com 500 gramas cada, coletada em poças (interior e borda) nos cinco locais da área de estudo, onde foi confirmada a presença de anfíbios (girino e/ou adultos).

A coleta das amostras foi efetuada com auxílio de raspadores vazados, para recolher o sedimento superficial do fundo de cada poça, homogeneizadas, retirada 100 gramas de amostras, armazenada ao abrigo da luz, conforme “Manual de Procedimentos de Coleta de Amostras em Áreas Agrícolas para Análise da

Qualidade Ambiental: Solo, Água e Sedimentos (Embrapa, 2006). O material coletado foi armazenado em sacos plásticos, etiquetado (data, local, destino) e transportada do local de coleta para o laboratório “ACS Agroambiental, Goiânia – GO”, em caixas térmicas, durante o período noturno.

#### 2.4.3. Coleta de amostras de solo

As amostras de solo foram recolhidas em 2016 e encaminhadas ao Laboratório de Análises Agropecuárias Zoofértil, em Palmas – TO, responsável pelas análises físico-químicas e de fertilidade (parâmetros descritos na Tabela 2.1), cuja determinações seguiram a metodologia preconizada no Manual de Métodos de Análises de Solos da Embrapa (1997).

A amostragem do solo foi realizada considerando sua composição (sólida, líquida e gasosa), armazenado de forma a atender pré-requisitos específicos de cada objeto de análise, conforme procedimentos metodológicos (Embrapa, 1997), comparada e adaptada (Arruda et al., 2014; Begon et al., 2007; Embrapa, 2004; Bertoni & Lombardi Neto, 2005, 1999; Kiehl, 1979).

Coletadas, ao acaso, próximos a locais pós-confirmação da presença de anfíbios, especialmente de girinos (no entorno de poças, canais, rios, lagos, lagoas), durante o mês de maio de 2016, na camada de 0 – 20 cm de profundidade, com trado do tipo caneco, amostras simples, homogeneizadas e retirado 400 gramas, armazenadas em embalagem plásticas, devidamente identificadas e conservadas (refrigeradas), de acordo com a metodologia preconizada no Manual de Métodos e Coletas de Solos no Campo (Lemos & Santos, 1996).

#### 2.4.4. Condições cromatográficas empregadas para análises de pesticidas

As análises cromatográficas em água superficial e em sedimentos coletados todos em 2016 (de acordo com o descrito na subsecção anterior), foram realizadas pelo ACS Laboratórios (Goiás), a fim de detectar e quantificar alguns dos pesticidas utilizados na agricultura em Formoso do Araguaia – TO (Tabela 2.1).

As análises cromatográficas para identificar resíduos desses pesticidas em água e no sedimento seguiram metodologias específicas e informadas pelo referido laboratório, conforme determinações de normativas nacional e internacionais (Conama, 2005b; ABNT, 2005; APHA, 1984).

As condições cromatográficas utilizadas foram: o equipamento cromatógrafo a gás, modelo CG *Solution*, marca *Shimadzu*, equipado com detector de ionização por chama. Para registro e análise dos cromatogramas, o aparelho foi acoplado a um microcomputador, utilizando-se o programa *GC Solution*. Detalhes do processamento e análise: os compostos foram separados e identificados em uma coluna capilar DB<sub>5</sub> (30x0,25 mm); houve a separação cromatográfica, 1 µl de amostra para injeção com auxílio de seringa de 10 µl (Hamilton®), em sistema *Splitless*. O gás nitrogênio foi utilizado como carreador à velocidade linear programada em 43.2 cm/ s e os gases hidrogênio e ar sintético formaram a chama no detector. As temperaturas do injetor e do detector foram controladas isotermicamente em 300 e 320°C e a temperatura inicial da coluna foi de 150 °C (mantida por 5 minutos), aumentando em 10°C por minuto até atingir 280°C (20 minutos), com fluxo do gás de arraste na coluna de 1,8 ml/ min.

#### 2.4.5. Coleta de amostras de flora

A caracterização da vegetação dos cinco locais foi efetuada a partir da recolha de amostras *in loco* em Formoso do Araguaia, para preparo de exsiccatas, recolhidas aleatoriamente, amostras de vegetação (em 2016): exemplares de gramíneas, arbustos e árvores (em partes ou total), circundantes aos locais de reprodução de anfíbios (Silveira, 2007; Pereira, 2007), como em poças, canais de irrigação e lagoas com a presença de anuros. Devido ao baixo quantitativo de amostras de gramíneas, de maneira complementar, foram recolhidos exemplares adicionais, em 2017. Todo o material foi organizado em exsiccatas (Cota, 2015;), secas a estufa em 70°C, identificadas, maceradas em cadinhos de porcelana e acondicionadas em refrigeradores normal e, posteriormente analisadas no laboratório de ecologia isotópica da USP, Piracicaba – SP, conforme protocolos próprios (resultados apresentados no capítulo III desta tese).

#### 2.4.6. Coleta de amostras de invertebrados

A amostragem de invertebrados foi realizada em 2016, nos cinco locais de estudo. A fim de inventariar uma maior diversidade de invertebrados possível, em cada ambiente, foram empregados mais de um modelo de busca. Em função da preferência no hábito alimentar de anfíbios, optou-se por técnicas para coletas

entomológicas, quais foram: armadilha de queda do tipo *pitfall*, adaptada com copos descartáveis de 200 ml, distribuídos equidistantes a cada 1 metro, por ponto, durante 12 horas; técnica do tecido branco e luz, associada a transecto com auxílio do puçá (Picanço, 2010). Os organismos localizados ao acaso em poças, avistados durante a coleta de girinos, também incrementaram o amostral de seu respectivo ponto de coleta (Camargo et al., 2015). O processamento das amostras de invertebrados seguiram métodos recomendados por CENA/USP (2016) não publicados e Martinelli et al., (2009); Farias, 2013; Leite & Sá, 2010) e os resultados estão apresentados no capítulo III desta Tese.

## 2.5. Populações naturais de anuros nos locais de estudo

### 2.5.1. Anuros

A amostragem de anuros em estágios de desenvolvimento terrestre foi realizada ao longo de quatro meses (de março a novembro), em 2015, nos cinco locais de estudo. Em cada local foram definidos três transectos, com seis observadores, atuando por uma hora de caminhada, perfazendo uma distância total de 105.681 metros (Auricchio & Salomão, 2002).

Todos os indivíduos encontrados ao longo dos transectos foram fotografados e identificados até o táxon espécie, utilizando-se chaves de identificação de anuros (Rossa-Feres et al., 2011; Nogueira et al., 2011; Ribeiro et al., 2005) e posteriormente, confirmadas com herpetólogos, a partir do envio das fotografias e/ou áudios com vocalizações (Provete et al., 2011). Os espécimes foram todos depositados no Laboratório de Ciências Ambientais – Labciamb da Universidade Federal do Tocantins - UFT.

Mas, ainda procedeu-se à caracterização biométrica de todos os indivíduos recolhidos, tendo sido monitorizados os seguintes parâmetros: peso corporal (balança com precisão 0,05 g), morfometria de várias partes do corpo (comprimento rostro-cloaca-CRC, biomassa - M, distância inter-narinas - DIN, distância entre o olho e a narina - DON, distância interorbital - DIO, diâmetro do tímpano - DT, diâmetro ocular - DO, largura do corpo - LC, comprimento da membro - CP, comprimento do fêmur - CF, largura do fêmur - LF, comprimento da cabeça - CCb,

largura da cabeça - LCb, largura da coxa - LCx, comprimento da coxa - CCx, comprimento da membro completa - CPT, comprimento da mão - CM, comprimento do antebraço - CAB, comprimento do braço - CB, largura do antebraço - LAB, largura do braço - LB), com uso de paquímetro com precisão de 0,01 mm). Em todos os indivíduos ainda foi analisada a presença de malformações corporais (Guerra & Araújo, 2016; Gomes, 2006; Ankley et al., 2004; Napoli & Caramaschi, 1999; Heyer et al., 1994; AB'Sáber, 1977).

#### 2.5.2. Girinos

As larvas de *Physalaemus cuvieri* (estágio 25 - Gosner 1960), provenientes de Paraíso do Tocantins (2016), região de Cerrado, foram expostas, por 7 (sete) dias, às condições laboratoriais, na presença de água e sedimento de sistema agroflorestais dos locais de estudo, em Formoso do Araguaia. A partir de uma amostra contendo 20 girinos foram medidos os comprimentos corporais (mm) e de massa (g), os quais apresentaram valores (médias  $\pm$  desvios padrão) de: (3,549  $\pm$  0,273) para o CRC; (5,845  $\pm$  0,727) de CC; (9,395  $\pm$  0,915) de CT e de (0,01415  $\pm$  0,0140) para massa. As quantidades de indivíduos utilizados por placa *petri* (vidro de 100 mm) nesse ensaio foram de dois girinos (total de 960 indivíduos), para 10 gramas de sedimento, 40 ml água do campo, oito tratamentos e seis réplicas por tratamento. Os tratamentos são correspondentes aos locais na região do estudo: C1 – Arroz/ soja, C2 – Arroz/ soja e Pastagem, R1 - cerrado, R2 - ecotono, R3 - pastagem, R4 – Mina do Morro Azul, C0 - (Fetax *hardwater*), Controle (Fetax *hardwater* + areia). Durante o ensaio, os girinos foram alimentados diariamente, com ração macerada (*Ichio Vichi* para peixes), quantidade equivalente à 10% de sua biomassa (0,0014 g).

Amostras de areia, coletadas no R4 (Mina Azul), esterilizada em laboratório, foram utilizadas em tratamentos experimentais do ensaio de toxicidade de água e sedimento como Controle do ensaio com girinos, aumentando assim a quantidade de locais referências neste teste.

## 2.6. Análises estatísticas

Uma série de métodos numéricos e estatísticos, como os índices biológicos, os métodos gráficos e as análises estatísticas multivariadas (Gomes, 2006) foram empregadas neste trabalho, visando perceber a influência dos pesticidas de locais agropecuários comparados a locais naturais tropicais. A partir das análises descritivas procurou-se descrever e interpretar os dados numéricos de populações de anfíbios amostradas em locais agrícolas, com uso de pastagem, ecótonos (Cerrado e floresta amazônica) e Cerrado.

Os dados foram tratados utilizando-se desde análises estatísticas descritivas, elaboração de gráficos em programa excel, bem como por meio de programas estatísticos. A diversidade de espécies em cada ponto foi determinada pela aplicação do índice de diversidade de *Shannon-Wiener* (Krebs, 1999). Para verificar a influência do volume de chuva e da temperatura sobre a ocorrência e abundância das espécies, o coeficiente de correlação de *Spearman* (Triola, 1999) foi aplicado aos dados de riqueza, temperatura no dia e pluviosidade acumulada no período de cinco dias antecedentes à data da coleta, utilizando o *Software Minitab 16*.

A partir da biomorfometria foi verificada a existência de variações nos anfíbios de locais agrícolas, comparados a locais referências. Selecionou-se um conjunto mínimo de variáveis que poderiam vir a sofrer interferência ambiental, buscando extrair delas, o máximo de variação possível. Portanto, a análise fatorial, via *Minitab 16*, foi testada para as espécies abundantes, a partir das medidas de (biomassa, CRC, CP e diâmetro do tímpano), comparadas entre si e aos locais para os quais se deu a sua ocorrência.

Nesse sentido, foi utilizada a análise estatística do tipo fatorial descritiva, com matriz de correlação de coeficientes e teste de esfericidade de *Bartlett* e *KMO*, a fim de verificar a normalidade dos dados. O método de extração da análise foi matriz de correlação, a partir de solução de fator não rotacionado e diagrama de sedimentação, extraído-se com valores próprios e superiores a 1, com método de componentes principais, convergência máxima de 25, avaliando-se a comunalidade ( $h^2$ ). A partir deste teste foram realizados também: Análise de Componentes Principais – PCA dos mesmos dados (Arango, 2005).

As médias e desvio padrão de biomassa (g), comprimento rostro-cloacal – CRC (mm), largura do membro – LP (mm) e diâmetro do tímpano – DT (mm) foram calculadas a partir do excel 2016. Para comparar população de anuros e seus locais testou-se a Normalidade dos dados (teste *Chi-Quadrado*) e Homogeneidade das Variâncias (teste *Bartlett*), utilizando-se o Programa Computacional *Minitab 16*. Caso a distribuição dos dados fosse do tipo normal (paramétrico), foram comparados por meio da análise de variância univariada (ANOVA de uma via), via teste *Tukey* (compara populações entre si). Já para aqueles resultados não-paramétricos utilizou-se o *t-student* (que compara indivíduos entre si), tomando como covariável modelo as populações de locais com vegetação nativa ou natural.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 Dados meteorológicos

Os valores (média e desvio padrão) registrados para Formoso do Araguaia (2013 a 2017), para a temperatura variou entre valor mínimo de  $25,3 \pm 4,2$  °C (em 2013) e um valor máximo de  $27,4 \pm 1,0$  °C em 2016, observando elevação de setembro à dezembro, considerando que a sazonalidade do estado do Tocantins tem duas estações do ano bem definidas (seca - abril à setembro; chuvosa - outubro à março). A precipitação pluviométrica anual apresentou mínima de  $3,9 \pm 0,7$  mm (em 2017) e a máxima de  $1.424,0 \pm 118,6$  mm (em 2013). As informações apresentadas são oriundas da base de dados do Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais - INPE, 2017 para do município de Formoso do Araguaia – TO, região em que se desenvolveu esta pesquisa (Figura 2.3).

Quanto a precipitação, registrou-se situações extremas, considerando a sazonalidade de chuvas ao ano. Esses valores registrados não produziram incrementos nas temperaturas mínimas, ou seja, para o ano de 2017, apresentou temperaturas em torno de 27°C, coincidindo com o registro de precipitação ocorrido ao ano, que esteve mais próximo da normalidade (1.424 mm/ ano), enquanto a média padrão para essa região é de 1.600 mm/ a. Para dezembro e janeiro, que normalmente são meses com maior precipitação, não se registrou chuvas entre

2014 até 2017, sendo o ano de 2017 de maior estiagem (com apenas 3,9 mm/ a). A partir de dados de cinco anos reunidos para essa análise temporal, observa-se que apenas em 2016, houve registro de chuvas, no entanto, reduzido em pelo menos 50% da ocorrência normal. O registro de temperaturas mostrou-se constante entre (2013 a 2017), em torno de 26°C.

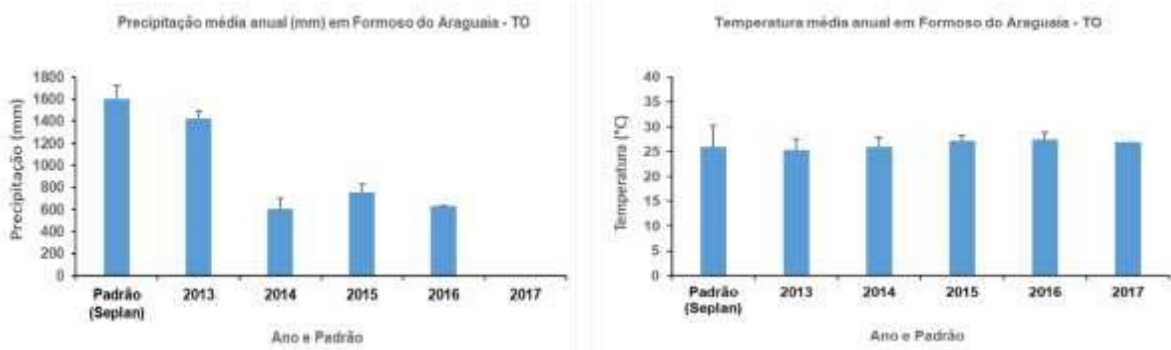


Figura 2.3: Valores de médias e desvios padrão (barras de erro) dos parâmetros meteorológicos identificados para o município de Formoso do Araguaia, durante os anos de 2013 à 2017.

A situação meteorológica de 2013 apresentou-se atípica também no que diz respeito ao regime de chuvas, dessa região. Ainda que tenha sido um bom ano, no que diz respeito à quantidade de milímetros de chuvas, para os produtores agrícolas de arroz irrigado, o excesso de água na plantação é prejudicial, motivo pelo qual realizam drenagem da água do Projeto de arroz para o rio Formoso.

Neste estudo, esses parâmetros meteorológicos são fundamentais para compreensão da distribuição temporal dos anfíbios já que, diversas espécies apresentam respostas semelhantes a uma combinação diferente de variáveis ambientais. O meio abiótico, como por exemplo, a pluviometria e temperatura são fatores relevantes na determinação dos períodos reprodutivos de anuros e nas comunidades de anuros de Cerrado, além do nicho temporal ser importante componente na segregação e estruturação das espécies. Portanto, podendo ocorrer sobreposição no turno de vocalização e na sua distribuição sazonal (Campos, 2015; Valdujo et al., 2013; Maffei, 2014; Maffei et al., 2011; Kopp et al., 2010; Both et al., 2008; Kopp & Eterovick, 2006).



### 3.2 Água superficial

Na Tabela 2.2 são apresentados os resultados dos parâmetros físico-químicos analisados nos cinco locais deste estudo e que estão em desconformidade, em pelo menos um, desses locais, com o padrão estabelecido pela Conama para o Brasil (VMP = Valor máximo permitido pela legislação Conama 357/ 2005 Classe 2: destina-se ao abastecimento doméstico, após tratamento convencional; à proteção das comunidades aquáticas; à recreação de contato primário; irrigação, aquicultura e atividade de pesca).

Tabela 2.2: Médias e desvios padrão (barras de erro) dos parâmetros físico-químicos das águas dos cinco locais de estudo (C1, C2, R1, R2, R3), Formoso do Araguaia - TO (2015). VA= Virtualmente ausentes. NA = Não informado. Análises realizadas pela Conágua Ambiental (relatórios de ensaios números 5336/15, 5337/15, 5338/15, 5339/15, 5340/15, Goiânia - Goiás.

<i>Parâmetros - água (2015)</i>	VMP	C1	C2	R1	R2	R3
<i>Clorofila a (µg/l)</i>	<b>10</b>	2,96	<b>22,72</b>	1,68	< LQ (1,0)	9,15
<i>Cor verdadeira (mgPt-Col/l)</i>	<b>75</b>	31,67	69	65	<b>486</b>	<b>190</b>
<i>DBO (mg/l de O<sub>2</sub>)</i>	<b>3,0</b>	1,67	1,7	1,3	2,6	1,6
<i>Densidade de cianobactérias (Cel/ml)</i>	<b>20.000</b>	3.050	4.175	1.258	6.551	2.059
<i>O.D (mg/l)</i>	<b>&gt; 6</b>	<b>5,73</b>	6,1	7,2	<b>4,9</b>	6,6
<i>pH</i>	<b>6 à 9</b>	6,48	6,1	7,06	6,5	6,28
<i>Resíduos sólidos objetáveis (mg/l)</i>	<b>VA</b>	<b>0,1</b>	<b>1,4</b>	<b>NA</b>	<b>0,4</b>	<b>0,5</b>
<i>Sólidos totais dissolvidos (mg/l)</i>	<b>500</b>	52,14	70,56	23,21	51,37	30,25
<i>Turbidez (NTU)</i>	<b>40</b>	6,11	<b>82,3</b>	3,17	8,51	5,32
<i>Alumínio dissolvido (mg/l)</i>	<b>0,1</b>	0,090	0,034	0,051	<b>0,139</b>	<b>0,102</b>
<i>Bário total (mg/l)</i>	<b>0,7</b>	0,044	0,071	0,004	0,063	0,042
<i>Cloreto total (mg/l)</i>	<b>250</b>	3,6	13,9	3,1	2,7	3,1
<i>Cloro residual total (mg/l)</i>	<b>0,01</b>	<b>0,17</b>	<b>0,46</b>	<b>0,07</b>	<b>0,52</b>	<b>0,21</b>
<i>Cobre dissolvido (mg/l)</i>	<b>0,009</b>	<b>0,022</b>	<b>0,036</b>	<b>0,025</b>	<b>0,021</b>	<b>0,024</b>
<i>Ferro dissolvido (mg/l)</i>	<b>0,3</b>	<b>0,445</b>	<b>0,460</b>	0,097	<b>0,854</b>	<b>1,523</b>
<i>Fluoreto total (mg/l)</i>	<b>1,4</b>	0,088	0,135	0,065	0,086	0,065
<i>Fósforo total (mg/l)</i>	<b>0,002</b>	<b>0,002</b>	< LQ (0,002)	<b>0,005</b>	<b>0,002</b>	<b>0,163</b>
<i>Manganês total (mg/l)</i>	<b>0,1</b>	0,018	0,044	0,0155	<b>0,101</b>	0,021
<i>Nitratos (mg/l de N)</i>	<b>10</b>	0,7	0,4	0,2	1,5	0,5
<i>Nitrogênio nítrico (mg/l)</i>	<b>1,0</b>	0,003	0,008	0,003	0,019	0,007
<i>Nitrogênio amoniacal (mg/l)</i>	<b>0,5</b>	<b>0,921</b>	<b>0,658</b>	<b>0,789</b>	<b>0,658</b>	<b>0,789</b>
<i>Sulfato total (mg/l)</i>	<b>250</b>	6,0	8,0	2,0	2,0	1,0

Tabela 2.2: Médias e desvios padrão (barras de erro) dos parâmetros físico-químicos das águas dos cinco locais de estudo (C1, C2, R1, R2, R3), Formoso do Araguaia - TO (2015). VA = Virtualmente ausentes. NA = Não informado. Análises realizadas pela Conágua Ambiental (relatórios de ensaios números 5336/15, 5337/15, 5338/15, 5339/15, 5340/15, Goiânia - Goiás. (continuação).

Parâmetros - água (2015)	VMP	C1	C2	R1	R2	R3
Sulfeto (mg/l)	0,002	< LQ (0,05)	< LQ (0,05)	0,01	< LQ (0,05)	< LQ (0,05)
Zinco total (mg/l)	0,18	0,017	0,012	0,027	0,027	0,016
Coliformes termotolerantes - CT (nmp/100 ml) - <i>E. coli</i>	1.000	3,5x10 <sup>3</sup>	92	20	1,6x10 <sup>4</sup>	40

Os valores de clorofila *a* registrados foram superiores ao VMP (10 µg/ l) em C2 (22,72 µg/ l). Para a cor verdadeira da água em R2 (486 mgPt-Col/ l), R3 (190 mgPt-Col/ l) ao VMP (75 mgPt-Col/ l). Quanto ao O.D apenas em R2 (4,9 mg/ l) esteve abaixo do VMP preconizado (> 6 mg/ l). Para Resíduos sólidos objetáveis que deve estar virtualmente ausente registrou-se valores entre em C1 (0,1 mg/ l) à C2 em 1,4 mg/ l. Para a turbidez em C2 (82,3 NTU) enquanto o VMP regulamentado é de (40 NTU). Para o Alumínio dissolvido no registrou-se em R2 (0,139 mg/ l) e em R3 (0,102 mg/ l) superior ao VMP (0,1 mg/ l). Para o Cloro residual registrou-seem valores iguais ou superiores ao VMP (0,01 mg/ l) nas águas dos cinco locais: C1 (0,17); C2 (0,46); R1 (0,07); R2 (0,52); R3 (0,21) mg/ l. Para o Cobre dissolvidos valores foram superiores em C1 (0,022); C2 (0,036); R1 (0,025); R2 (0,021); R3 (0,024) mg/ l superiores ao VMP (0,009 mg/ l). Quanto ao Ferro dissolvido apresentou-se acima do VMP (0,3 mg/ l) preconizado em C1 (0,445); C2 (0,460); R2 (0,854); R3 (1,523) mg/ l. Para os valores de Fósforo total registrados em R1 (0,005 mg/ l) e em R3 (0,163 mg/ l) foram superiores ao VMP (0,002 mg/ l). Para o Manganês total em R2 (0,101 mg/ l) registrou-se superior ao VMP (0,1 mg/ l). Para Nitrogênio amoniacal registraram-se em C1 (0,921 mg/ l); C2 (0,658 mg/ l); R1 (0,789 mg/ l); R2 (0,658 mg/ l); R3 (0,789 mg/ l) valores superiores ao VMP (0,5 mg/ l). Para Coliformes termotolerantes - CT representado por *Escherichia coli* registraram em C1 (3.500 nmp/ 100 ml) e em R2 (16.000 nmp/ 100 ml) valores superiores ao VMP (1.000 nmp/ 100 ml), conforme apresentados na Tabela 2.2

Na Tabela 2.3 são apresentados os parâmetros físico-químicos informados para as águas do local de captação destinadas ao abastecimento urbano do município de Formoso do Araguaia, conforme laudos técnicos entregues pela Odebrech/ Saneatins, para os anos de 2013 à 2015 e, que também, estão em

desconformidade com o padrão estabelecido pela Conama Classe 2, para o Brasil.

**Tabela 2.3: Resultados dos parâmetros físico-químicos das águas do local de captação no Córrego Papagaio, destinadas ao abastecimento urbano do município de Formoso do Araguaia, conforme laudos técnicos informados pela Odebrech/ Saneatins, para os anos de 2013 à 2015. As coletas e as referidas análises são de responsabilidade da Companhia de Saneamento do Tocantins - Odebrech/ Saneatins. VMP = Valor Máximo Permitido; NR = não regulamentado; VA = virtualmente ausente, LQ = limite de quantificação, NA = não analisado ou não informado.**

PARÂMETROS DAS ÁGUAS - CAPTAÇÃO	VMP	2013	2014	2015
Clorofila <i>a</i> (µg/ l)	10	6,0	< LQ (3,0)	< LQ (1,4)
Cor verdadeira (mgPt-Col/ l)	75	20,5	17,5	25
Densidade de cianobactérias (Cel/ ml)	20.000	60.188,5	16.592	833,5
O.D (mg/ l)	6,0	NA	NA	8,41
pH (à 25°C)	6 a 9	7,57	7,09	7,28
Sólidos totais dissolvidos (mg/ l)	500	52,5	24	24
Turbidez (NTU)	40	6,85	2,74	3,5
Alumínio dissolvido (mg/ l)	0,1	0,043	0,097	0,03
Bário total (mg/ l)	0,7	0,0109	0,127	< LQ (0,01)
Cloreto total (mg/ l)	250	0,9	1,03	2,0
Cloro residual total (mg/ l)	0,01	0,1	0,08	NA
Ferro dissolvido (mg/ l)	0,009	0,237	0,133	0,04
Fluoreto total (mg/ l)	0,3	< LQ (0,05)	0,21	0,2
Fósforo total (mg/ l)	0,002	0,04	0,02	0,03
Manganês total (mg/ l)	0,1	0,0172	0,0194	< LQ (0,01)
Sulfato total (mg/ l)	250	< LQ (0,5)	0,91	1,0
Zinco total (mg/ l)	0,002	0,0199	0,0560	< LQ (0,02)
Coliformes termotolerantes (nmp/100 ml) - <i>E. coli</i>	1.000	5,0	< LQ (0,001)	9,0
Coliformes Totais - CT (nmp/100 ml)	NA	3.790	1.203	102,5
DQO (mg/ l)	NA	13	11	11,5
Boro (mg/ l)	0,5	0,003	< LQ (0,001)	< LQ (0,1)
Condutividade (µS/ cm)	NA	NA	NA	30

Os valores registrados em águas do local de captação (Córrego Papagaio), de 2013 à 2015, foram superiores aos seus respectivos VMP (Tabela 2.3), somente quanto aos parâmetros: Densidade de cianobactérias em 2013 (60.188,5 Cel/ ml); para o Ferro dissolvido 2013 (0,237 mg/ l); 2014 (0,133 mg/ l); 2015 (0,04 mg/ l); para o Fósforo total em 2013 (0,04 mg/ l); 2014 (0,02 mg/ l); 2015 (0,03 mg/ l); para o Zinco total em 2013 (0,0199 mg/ l) e em 2014 (0,0560 mg/ l).

As águas dos cinco locais de estudo apresentam-se fora do padrão brasileiro regulamentado, prejudicando a qualidade dessas águas, que por vezes são destinadas ao abastecimento doméstico, à proteção das comunidades aquáticas entre outros usos, permitidos localmente. Outros locais, a exemplo do lugar de captação também tem seus níveis de qualidade da água alterado, como verificado a partir dos parâmetros físico-químicos registrados anteriormente. No entanto, para o uso prioritário ao qual se destinam (abastecimento para consumo humano) poderia não representar ameaça ao bem-estar humano, já que os valores informados dizem respeito a água bruta e deveriam ainda, serem submetidas à tratamento a fim de garantir a qualidade necessária para tal fim. No entanto, o enquadramento dos corpos de água deve estar baseado não necessariamente, no seu estado atual, mas, deveriam possuir os níveis de qualidade para atender a saúde, às necessidades da comunidade, assim como o equilíbrio ecológico aquático.

O O.D é um dos parâmetros mais importantes quando se trata de qualidade da água, pois este tem a finalidade de caracterização de efeitos da poluição das águas, por despejos orgânicos. As bactérias que fazem uso de oxigênio, nos seus processos respiratórios, durante a estabilização da matéria orgânica, podem provocar a redução da concentração de O.D no meio. Portanto, na ausência de O.D é comum no fundo de lagos a presença de ferro e manganês dissolvidos naturalmente e podem causar cor a água, além de sabor conferindo poluição visual (virtualmente presentes como no R2 e no R3). A depender da magnitude desse fenômeno, ocasiona a mortalidade da vida aquática. O VMP para o O.D deveria ser de no mínimo 6 mg/ l, e em todos os locais pesquisados, estiveram fora do normatizado pela Conama. Por exemplo no R1 (Cerrado), sinalizou valor abaixo do padrão, o que pode ocasionar mortandade de organismos aquáticos, como é o caso

de peixes mais exigentes (que não sobrevivem com  $O.D \leq 2 \text{ mg/l}$ ), não excluindo, portanto, girinos, já que, com essas condições ambientais, não há possibilidade de vida. Para os demais locais (C1, C2, R3), os valores para O.D foram acima do padrão legal, isso quer dizer que há presença de algas no meio, responsáveis pela fotossíntese, motivo da alteração do parâmetro. Análises realizadas para o local C1, apresentou resultados de O.D em torno de  $6 \text{ mg/l}$ , tanto para o mês de janeiro quanto abril de 2015. Certamente, esses resultados são devidos à presença de macrófitas aquáticas em parte dos canais de irrigação da área de cultivo agrícola, vegetação frequente nessa altura do ano. Nos demais locais também se observou a presença de vegetação aquática na lâmina d'água, fator que elevou os níveis de O.D, em função da fotossíntese.

A Turbidez representa o grau de interferência, com a passagem da luz através da água, conferindo uma aparência turva, ocasionada pela presença de sólidos em suspensão na água, podendo ser proveniente de partículas de rocha, argila, silte, algas e outros microrganismos ou ainda, por despejos domésticos/ industriais, ou erosão. A turbidez em si, provoca impacto negativo visual. Porém, o acúmulo de sólidos em suspensão pode servir de abrigo à microrganismos patogênicos (Von Sperling, 1996), razão pela qual a turbidez deve ser monitorada. Em se tratando de um ambiente com fim agropecuário, a presença de Turbidez de 82,3 NTU (no local agrícola C2) pode ter origem antropogênica, associada ao uso de compostos tóxicos e com grandes chances da presença de organismos patogênicos.

Mesmo que o pH esteja em conformidade com a legislação (Conama, 2005), nos locais antropizados mais baixo (ácido) do que nos locais com vegetação natural (ecótono e cerrado), para os anfíbios em fase de desenvolvimento pode representar um risco à qualidade de vida. Um pH em torno de 6,0 como por exemplo nos locais (C1, C2, R3) algumas espécies de anuros podem não se adaptar bem às condições ambientais, conseqüentemente ocasionar mortalidade, alterações biológicas e até extinção de espécies (Relyea & Jones, 2009). Em Vermont - USA, a espécie *Rana pipiens* 25G, o pH de 7,5 desencadeou supressão de reprodução, bem como múltiplas interações de estresse, que pode levar a exacerbados efeitos químicos a biota aquática em sistemas naturais (Chen et al., 2004). Já para Castro & Pinto

(2000), valores entre 6,0 e 7,0 são considerados ideais para o cultivo de girinos de *Rana catesbeiana*, mas Cribb et al., (2013) afirmaram que a faixa de tolerância dessa espécie, quando cultivada na região Sul do Brasil, é de 6,5 à 7,5.

Observa-se também que, a partir de estudos realizados em girinos de vinte espécies de anfíbios em Ubatuba – São Paulo, e a influência da variação do pH em águas de treze locais (variou de 5,8 à 7), para Jordani (2013) o pH funciona como filtro ambiental e, espécies com exigências de habitats semelhantes (padrão de ocorrência associada) são influenciados de maneiras distintas por diferentes características do ambiente. Qualquer um dos químicos sozinhos de acordo com Pessie (2002), possui propriedades estruturais únicas e funções fisiológicas que tornam os anfíbios parcialmente sensíveis a perturbações ambientais e lesões cutâneas. Essa sensibilidade inerente faz da pele um local de avaliação extremamente importante tanto no exame clínico quanto na pós-morte do paciente anfíbio, inclusive muitas das doenças de pele já foram registradas para anfíbios em cativeiro, tais como: lesões cutâneas, alterações na qualidade da água (como pH, amônia) e exposição a irritantes químicos, são todos os perigos potenciais do ambiente cativo que podem levar à irritação da pele. Além disso, muitas doenças infecciosas da pele, como síndrome da "perna vermelha", microbacteriose e saprolegniasis são muitas vezes devido a fatores ambientais.

Os teores de Ferro dissolvido, nos locais C2, R2, R3 variam, podendo ser, as áreas antropizadas, um fator deteriorador da qualidade da água. O Alumínio dissolvido é influenciado pelo pH, temperatura, fluoretos, sulfatos e matéria orgânica. O  $Al^{3+}$  apresenta solubilidade baixa quando o pH se encontra entre 5,5 e 6,0. Em maiores profundidades, tende a aumentar e em função do pH ser menor e ocorrer anaerobiose. Se a estratificação e a conseqüente anaerobiose não forem muito fortes, o teor de alumínio diminui no corpo de água como um todo, à medida que se distancia da estação chuvosa. O aumento da concentração de alumínio associado com o período de chuvas e, portanto, acaba por vincular-se com a alta turbidez (R2 com pH 6,3 e turbidez 82,3 NTU). Maior valor de alumínio, também foi registrado em R2 (0,5 mg/ l), detectado na água da região de Formoso do Araguaia - TO provavelmente, deva ter sido lixiviado e transportado do solo para o compartimento aquático.

Os anfíbios estão restritos a locais aquáticos e valem-se da pele úmida e brânquias para respiração e osmoregulação. As toxinas transmitidas pela água, incluindo amônia, nitrito, metais, desinfetantes, pesticidas e cloro são preocupação a manutenção da conservação dos anfíbios. Devido à elevada diversidade de espécies e à tolerância variável de espécimes, alguns anfíbios expostos à água de má-qualidade podem ser afetados. Devido à rápida dispersão de toxinas solúveis em água, mais do que um animal em um recinto é geralmente afetado por qualidade da água deteriorada. A temperatura da água, pH, amônia e nitrito são parâmetros fundamentais para monitoramento diário em ambientes aquáticos consideraram que o desenvolvimento e o refinamento da biologia dos anfíbios possibilita maior compreensão sobre muitas doenças (infecciosas ou não) que ocorrem entre várias espécies de anfíbios (Wright & Whitaker, 2001). Densmore & Green (2007), relataram etiologias de doenças não infecciosas comumente, encontradas para anfíbios incluindo neoplasia, deficiências ou sobrecargas nutricionais absolutas ou específicas, toxicidades químicas e manejo ambiental ou de criação inadequada. Em parte, devido à alta permeabilidade de sua pele, os anfíbios são muito suscetíveis a tóxicos e a variedade de produtos químicos torna o cenário mais difícil de ser compreendido.

Os produtos químicos à base de nitrogênio pode agir como tóxicos, conforme apontaram ( Marco & Blaustein, 1999), para a existência de produtos contaminantes de águas naturais, via escoamento com debilitação, malformações e morte de girinos de anfíbios de criação de lagoas. Em ambiente aquático em que há acúmulo de nitrogênio (amônia e nitritos), podem ser prejudiciais ou letais para anfíbios aquáticos, assim como são para peixes, percebidos muitas vezes, devido a interrupção ou falha no estabelecimento da filtragem biológica adequado que resultou no acúmulo excessivo de resíduos nitrogenados, conseqüentemente desencadeando problemas à saúde dos organismos em sistemas fechados e qualquer aumento, superiores a 0,02 mg/ l, valor legislado, são potencialmente problemáticos, podendo provocar, segundo Wright & Whitaker (2001), aumento da produção de mucosa, pigmentação da pele alterada e natação/ comportamento anormal (podem ser sinais de toxicidade de amônia) e, se não resolvida, essa síndrome é muitas vezes letal. A toxicidade crônica também pode ocorrer com

níveis mais baixos de amônia e pode produzir imunossupressão e aumento da suscetibilidade a doenças infecciosas.

Ao relatarem os efeitos observados Densmore & Green (2007), apresentam que a toxicidade do nitrito também pode ocorrer entre os anfíbios em níveis acima de 0,1 mg/ e produzir methemoglobinemia e comprometer o fluxo de oxigênio do sangue para os tecidos. O tratamento para toxicidade de resíduos nitrogenados envolve alterações na água (ex. a cor), e correção de quaisquer fatores causais subjacentes (por exemplo, filtração inadequada da água, alta densidade de estocagem). Também é possível tratar anfíbios que têm meta-hemoglobinemia, resultante da toxicidade do nitrito, com banhos aerados com azul de metileno. Vários pesticidas, seja como contaminantes ambientais afetam populações aquáticas de anfíbios. Esses produtos químicos incluem muitas classes de tóxicos potencial, como organofosforados, carbamatos, organoclorados, piretróides. Os efeitos podem variar de acordo com a dose, espécie, fase de vida e o produto químico em questão. Geralmente, os sinais clínicos marcantes da toxicidade dos pesticidas são neurológicos e potencialmente incluem tremores, convulsões, reflexo de retendo reduzido e atividade locomotor, e postura e comportamento abnormal. Altas doses e exposições prolongadas são muitas vezes letais, e as certezas da exposição de pesticidas têm sido implicadas em eventos de mortalidade entre populações selvagens de anfíbios. Mas, também associaram exposições ambientais com debilitação generalizada, incluindo crescimento e desenvolvimento prejudicados e função imunológica prejudicada (Blaustein et al., 2018; Biga & Blaustein, 2013; Blaustein & Johnson, 2003; Blaustein et al., 2003; Sparling et al., 2014; Marco & Blaustein, 1999; Blaustein et al., 1994; Blaustein, 1993, 1994).

Considerando-se que a água é um nutriente fundamental para manutenção da vida e tendo reconhecida a interferência dos diversos processos antrópicos na sua qualidade, entendemos como razões para que o presente estudo verificasse os efeitos dos locais aquáticos, quanto às características físico-químicas e microbiológicas da água utilizada para consumo humano na cidade de Formoso.

Conforme afirmaram Campos et al., (2003), a qualidade da água depende da finalidade à qual se destina. Com base nos VMP's apresentados neste estudo,



verifica-se que as amostras de água não estão condizentes com a classificação apontada para Classe 2, da Resolução 357/ 2005 Conama. Bates (2000), aborda caracteristicamente uma situação que é comum na região deste estudo (Formoso do Araguaia), as comunidades se desenvolveram em torno de fontes de água superficiais adequadas e acessíveis, principalmente naturais. Entretanto, ao mesmo tempo, a fonte de água potável também pode servir de rota para o descarte de resíduos (efluentes diversos). O aumento da demanda por água proveniente de um desenvolvimento urbano cada vez mais denso (exemplo: comércio e agricultura), exacerbou a extensão do reuso e essa realidade torna-se comum à muitos sistemas fluviais principalmente devido, à localização da fonte de água para determinada comunidade esteja à jusante do descarte de resíduos de outra

No caso de ambientes lóticos é comum o aumento na concentração de íons, sobretudo nutrientes, como: Nitrogênio (N) e Fósforo (P) de origem orgânica (eutrofização), que pode ser devido a agricultura (Reichardt & Timm, 2012). Em Pastagens (R3), o valor foi elevado, merece maior atenção quanto à saúde da vida aquática, em especial dos anfíbios devido à toxicidade de amônia ser altamente prejudicial. Quando apresentados em excesso, esses íons têm poder de agentes poluidores, na drenagem superficial, provocando impactos negativos, ainda que considerado de nível baixo, da ordem de: crescimento excessivo de algas; toxicidade aos organismos aquáticos, devido ao aumento de amônia (Von Sperling, 1996). Além disso, a toxicidade de metais pesados também é problemática entre anfíbios e efeitos deletérios já foram descritos quando para alguns deles, tais como: cobre, alumínio, mercúrio, zinco, manganês, comumente usados em recipientes ou tubulações/ encanamentos. Produtos químicos clorados, são rotineiramente empregados como agentes de limpeza ou desinfetantes e podem ser causas de contaminação em alguns desses locais, em decorrência da fixação de moradias em áreas rurais, nas proximidades dos locais de estudo. São produtos altamente tóxicos para muitas espécies de anfíbios, particularmente para estágios de vida aquática, conforme verificados em locais de pastagem (comum a existência e cercados e lagoas no entorno das residências onde se acumulam efluentes de pias, e de currais). Baixos níveis de concentrações de cloro geralmente, presentes na água da torneira podem ser prejudiciais ao longo do tempo. Níveis mais elevados

podem ser agudamente, prejudiciais ou letais e produzir lesões hemorrágicas e ulcerativas na pele e ocasionar a morte. Outros produtos (como desinfetantes, sabonetes e detergentes) à base de iodo, também podem produzir toxicoses que envolvem debilitação generalizada e morte em adultos ou girinos (Browne et al., 2007; Hayes et al., 2010; Densmore & Green 2007; Hayes et al., 2006; Mackenzie et al., 2003; Wright & Whitaker, 2001).

Conforme afirmaram Campos et al., (2003), a qualidade da água depende da finalidade à qual se destina. Com base nos VMP's apresentados neste estudo, verifica-se que as amostras de água não estão condizentes com a classificação apontada para Classe 2, da Resolução 357/ 2005 Conama. Bates (2000), aborda caracteristicamente uma situação que é comum na região deste estudo (Formoso do Araguaia), as comunidades se desenvolveram em torno de fontes de água superficiais adequadas e acessíveis, principalmente naturais. Entretanto, ao mesmo tempo, a fonte de água potável também pode servir de rota para o descarte de resíduos (efluentes diversos). O aumento da demanda por água proveniente de um desenvolvimento urbano cada vez mais denso (exemplo: comércio e agricultura), exacerbou a extensão do reuso e essa realidade torna-se comum à muitos sistemas fluviais principalmente devido, à localização da fonte de água para determinada comunidade esteja à jusante do descarte de resíduos de outra.

Ficou evidente, no presente estudo, que as características físico-químicas das águas sofrem influência de fatores de natureza hidrológica, sazonal e antrópica, provocando reflexos na composição química, biológica da qualidade hídrica dos locais investigados, que coloca a potabilidade do recurso em risco.

### **3.3 Solo**

A caracterização dos locais de estudos, em Formoso do Araguaia - TO, em 2016, a partir dos parâmetros levantados e registrados para o solo, estão apresentados na Tabela 2.4.

**Tabela 2. 4: Resultados dos parâmetros físico-químicos do solo, caracterização dos cincos locais de estudo, Formoso do Araguaia - TO, 2016**

Parâmetros - Solo (2016)		C1	C2	R1	R2	R3	Caracterização dos parâmetros (Embrapa)
Dados complementares	CTC (cmolc/dm <sup>3</sup> )	13,06	6,27	5,4	15,33	12,83	> 15 Presença de argila 2:1 na fração argila; < 5 Baixo teor de argila ou predominância de argila 1:1 como a caulinita
	Sat. Bases (%)	78,25	77,67	79,63	42,6	41,54	Baixo < 50; Médio (50 à 70); Alto > 70
	Sat. Al. (%)	0	0	0	7,11	15,8	Baixo < 30; Médio (30 à 50); Alto > 50
cmol <sub>c</sub> /dm <sup>3</sup> (mE/100 ml)	Ca <sup>2+</sup> + Mg <sup>2+</sup>	9,95	4,8	4,2	6	4,7	-
	Cálcio (Ca <sup>2+</sup> )	7,15	3,3	2,9	4,4	3,2	Baixo < 1,6; Médio (1,6 à 3,0); Alto > 3,0
	Magnésio (Mg <sup>2+</sup> )	2,8	1,5	1,3	1,6	1,5	Baixo < 0,4; Médio (0,4 à 1,0); Alto > 1,0
	Alumínio Trocável - Al <sup>3+</sup>	0	0	0	0,5	1	Baixo < 0,5; Médio (0,5 à 10); Alto > 10
	Acidez potencial (H+Al)	2,75	1,4	1,1	8,8	7,5	-
	Potássio (K <sup>+</sup> )	0,365	0,07	0,1	0,53	0,63	-
K mg/dm <sup>3</sup> (ppm)		142	28	38	208	246	Baixo < 30; Médio (30 - 60); Alto > 60
P (Melich)		15,5	17,8	12,7	70	20,6	Argila < 150: Baixo (P entre 0 - 10); Médio (P entre 10,1 - 20); Alto (P > 20). Argila (150 - 350): Baixo (P entre 0 - 7); médio (P entre 7,1 - 15); Alto (P > 15). Argila < 350 e > 600: Baixo (P entre 0 - 4); Médio (P entre 4,1 - 8); Alto (P > 8)
M.O (g/dm <sup>3</sup> )		56,5	11	3	40	20	-
M.O (%)		5,65	1,1	0,3	4	2	Baixo < 1,5; Médio (1,5 - 3,0); Alto > 3,0
pH (CaCl <sub>2</sub> )		5,5	5,2	6,2	4,5	4	-
Textura (%)	Argila	19	8	13	43	50	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Textura arenosa - material que compreende as classes texturais areia e areia franca, ou seja, teor de areia menos teor de argila &gt; 700 g kg<sup>-1</sup>;</li> <li>• Textura média - material com menos de 350 g kg<sup>-1</sup> de argila e mais de 150 g kg<sup>-1</sup> de areia, excluídas as classes texturais areia e areia franca;</li> <li>• Textura argilosa - material com conteúdo de argila entre 350 g kg<sup>-1</sup> e 600g kg<sup>-1</sup>;</li> <li>• Textura muito argilosa - material com conteúdo de argila superior a 600 g kg<sup>-1</sup>;</li> <li>• Textura siltosa - material com menos de 350 g kg<sup>-1</sup> de argila e menos de 150 g kg<sup>-1</sup> de areia</li> </ul>
	Limo	5,5	4	5	11	11	
	Areia	75	88	82	46	39	
Textura (g/Kg)	Argila	190	80	130	430	500	
	Limo	60	40	50	110	110	
	Areia	750	880	820	460	390	
Classe Textural		Franco Argilo Arenosa	Areia	Areia Branca	Argila Arenosa	Argila Arenosa	Embrapa USDA (Informado pelo Laboratório)
Índice de Fertilidade	P <sup>+</sup>	bom	médio	médio	bom	bom	Informado pelo Laboratório
	Ca <sup>2+</sup>	bom	bom	bom	médio	médio	
	Mg <sup>2+</sup>	bom	bom	bom	bom	bom	
	K <sup>+</sup>	bom	médio	médio	bom	bom	
	pH	médio	médio	alto	baixo	muito baixo	

O solo predominante no território de Formoso do Araguaia – TO, é do tipo Plintossolos (Pétricos, Argilúvicos, Háplicos). Com erodibilidade potencial considerada de muito fraca a fraca: compreende áreas formadas por solos, normalmente, de grande significado agrícola. Sendo solos muito profundos, porosos, bem permeáveis – mesmo quando muito argilosos -, friáveis situados em relevo plano, com declividade que raramente ultrapassam 3%. A ecodinâmica da paisagem é estável (pedogênese > morfogênese) e os processos de escoamento superficial são difusos e lentos. As áreas de APP dos cursos d'água, apresentam solos com características de erodibilidade especial, ou seja, a condição da maioria dos solos vai de imperfeitamente drenados à muito mal drenados, com o nível do lençol freático normalmente elevado. A ecodinâmica da paisagem é de instável e de transição (pedogênese < ou  $\sim$  morfogênese). Os processos envolvidos são de escoamento concentrado ao longo da drenagem, remobilização e deposição de sedimentos finos, bem como escoamento difuso e lento nas planícies, terraços fluviais e margens de lagos, além de eventuais inundações (Tocantins, 2012).

Um dos principais parâmetros para avaliar uma qualidade do solo é o pH, o qual indica que este solo está ácido (4,0 a 6,2). Para Tomé Jr., (1997), o pH se manifesta em valores baixos, quando há um empobrecimento em cálcio ( $\text{Ca}^{+2}$ ) e magnésio ( $\text{Mg}^{+2}$ ). Os fatores que influenciam no pH do solo são: material de origem, precipitação, decomposição da matéria orgânica, vegetação nativa, tipo de cultura, profundidade do solo, adubação nitrogenada e inundação. Outros parâmetros que associados ao pH, é o alumínio trocável, que em solo (C1, R1) apresentou parcial (ou totalmente) insolubilizado, ou seja, não mais causando danos as raízes das plantas. Normalmente, em área destinada a agropecuária do Tocantins, é empregado o calcário dolomítico, para corrigir a acidez. No entanto, um pH entre 4 e 5, indica a presença de alumínio trocável ( $\text{Al}^{3+}$ ), como em R2 (Ecótono) e R3 (Pastagem). A presença de alumínio no solo pode inibir o crescimento radicular e influenciar na disponibilidade de outros nutrientes e processos como a mineralização da matéria orgânica (Embrapa, 2015).

O teor de cálcio em todos os seis locais foi considerado alto (de 2,9 a 11,4  $\text{mol}_e/\text{dm}^3$ ). À medida que se aumenta na profundidade do solo ocorre um decréscimo nos teores de nutrientes, que se deve ao fato do solo possuir grandes

quantidades de íons  $H^+$ . Este solo possui baixa Capacidade de Troca Catiônica - CTC, em C2, em R1, influenciando na Saturação de Bases e na Saturação de Alumínio.

Os locais C1 (Agrícola) e R1 (Cerrado) sofrem influência de cobertura do solo fitoflorestal, característico de ambiente com predomínio de vegetação do bioma Cerrado. Em C1, conta com a presença das manchas de vegetação em áreas de cultivo agrícola, que provocam variações dos teores de CTC. O local R1 e R2, apresentaram valores acima de  $15 \text{ cmol}_c\text{dm}^{-3}$  indicando relação de argila na proporção de 2:1. Valores menores que  $5 \text{ cmol}_c\text{dm}^{-3}$  indicam baixo teor de argila (proporção de 1:1 argila e areia), predominância de caulinita, como nos demais locais analisados (C2, R1). Quanto aos locais C1 e R1 a Saturação por Bases ter ligação - V, diretamente proporcional aos teores de Cálcio e de Magnésio, foi do tipo elevada. Uma vez os valores de  $Ca^{+2}$  e  $Mg^{+2}$  apresentaram-se baixos no solo, conseqüentemente a saturação por bases também deveria ser baixa, já que dependem do teor de cálcio e magnésio contidos no solo. No entanto, apenas neste caso, os resultados apontados nessas análises contradizem a regra, ao apresentarem altos valores de Cálcio e Magnésio, variando de 2,9 a  $11,4 \text{ cmol}_c/\text{dm}^3$  para o C1 e de 1,2 a  $4,4 \text{ mol}_c/\text{dm}^3$  para o R1, respectivamente para o solo dos seis locais, quanto deveria ser baixo. Diferente do que os resultados para V nos locais R2 e R3, que apresentaram valores baixos (41,5 e 42,6), nessa mesma ordem.

O R2 apresentou teor de  $Al^{3+}$  equivalente à  $0,5 \text{ cmol}_c/\text{dm}^3$  e o R3 com  $1,0 \text{ cmol}_c/\text{dm}^3$ , na profundidade de 0 - 20 cm. Os demais locais não apresentaram índices de Alumínio trocável em amostras de solo coletadas em maio de 2015. A partir destes níveis, pode-se dizer que, o  $Al^{3+}$  no solo são de baixo à médio, mesmo assim, não deixa de contribuir para acidez do solo, visto que este é um indicativo da presença de sua existência em dois dos seis locais.

A saturação por Alumínio (m), justamente nos locais R2 e R3, também se apresentou com menores quantidades de cátions úteis, onde coincidiu com a presença de  $Al^{3+}$  trocável, no qual se obteve maior Saturação por Alumínio, na camada superficial do solo de 7,1 e 15,8%, respectivamente.

Os teores de fósforo encontrados situaram-se na faixa de 12 a  $70 \text{ mg}/\text{dm}^{-3}$ , indicando assim a situação desse mineral neste solo, de médio a adequado,

necessário para o bom desenvolvimento das culturas. O Ambiente onde se destacou com altos teores de Fósforo disponíveis ( $70 \text{ mg/ dm}^{-3}$ ) no solo foi basicamente o R2, área de Transição entre Cerrado e Floresta Amazônica (Ecótono). O fósforo quando disponível em solo tropical apresenta-se, por natureza, baixo (Embrapa, 2006).

Teores altos de potássio disponíveis no solo, indicam presença de minerais primários e pouco intemperismo, o que ocorre em solos de regiões mais secas. De acordo com os resultados os locais (C1, C2, R2 e R3), exemplificaram solos com teores de potássio elevados. E o R1 que se apresentou na faixa mediana em relação a quantidade de potássio no solo. Locais que estão com os teores baixos para Potássio, estão mais propícios à ocorrência de problemas, como: lavagem dos solos mais drástica, as gramíneas crescem mais rápido, entretanto o excesso de umidade causa baixa aeração, decomposição de resíduos e de plantas é lenta, a acumulação de M.O é diretamente proporcional ao teor de umidade do solo (Bertoni & Lombardi Neto, 2005). Entretanto, a baixa umidade relativa do ar, região de clima quente e seco evita esses tipos de problemas e em contrapartida, pode favorecer à salinidade ao solo, ocasionadas pelo acúmulo de Carbonato de Cálcio nos solos, que denota a cor esbranquiçada.

O teor de potássio no solo apresentou médio (C1); baixo (C2); médio (R1); alto (R2); alto (R3). A composição granulométrica responsável por definir a classe textural do solo, classificou em C1 (Franco Argilo-arenosa à Arenosa); C2 (Arenosa); R1 (Arenosa); R2 (Argilo-arenosa); R3 (Franco Argilo-arenosa à Arenosa).

O teor de matéria orgânica (M.O) foi Baixo para o solo dos locais C2 (1,1 %), R3 (0,3%). No entanto, o R3 (2,0%), C1 (4%) e o R2 (10,3%). Sabe-se que o nível de matéria orgânica dos solos do Tocantins é relativamente baixo, com exceção das baixadas mais úmidas.

O Índice de fertilidade do solo composto a partir dos valores de (P,  $\text{Ca}^{+2}$ ,  $\text{Mg}^{+2}$ , K e variação de pH), determinou a fertilidade classificada no solo dos locais como: R1 de bom a médio para um pH alto; R2 de bom à médio para um pH baixo; R3 de bom a médio para um pH muito baixo; C1 de bom à médio com pH variando médio; C2 de bom à médio com pH médio.

A fertilidade dos solos dos locais desta pesquisa pode assim ser definida: C1 - agricultura de arroz e soja, apresentou boa fertilidade, textura argilo-arenoso à arenoso, com disponibilidade de M.O variando de baixo à alto, a depender do status de colheita; P e K considerados adequados, Solo do tipo ácido; C2 - Misto, de pastagem e agricultura de arroz e soja, apresentou fertilidade de média a boa; distrófico (baixo teor de M.O); arenoso e ácidos; potássio (K) com baixos teores e fósforos (P) adequados. Em R1 – (Cerrado, com solo ácido; fertilidade de médio a bom; textura arenosa, P adequado e K com níveis considerados medianos e caráter distrófico, redução do teor de M.O (médio). Distrófico: termo usado para caracterizar solo de fertilidade baixa com saturação de bases (V%) e alumínio ( $100 \times \text{Al}^{3+} / \text{Al}^{3+} + \text{S}$ ) menores que 50% (Kiehl, 1979); em R2 - Ecótono, Solo extremamente ácido, com P e K adequados, com teores altíssimos; Textura Argilo-Arenosa; M.O em elevado teor; em R3 – pastagem, apresentou boa fertilidade e teor de M.O foi intermediário; Argilo-Arenoso; P e K adequados, porém solos extremamente ácidos.

### 3.4 Pesticidas nas matrizes ambientais

**Na água:** Os resultados para os parâmetros orgânicos analisados em água da região de Formoso do Araguaia, em 2015, não apresentaram valores registrados em amostras de água, dos cinco locais de estudo, assim como nos laudos técnicos informados pela Companhia de Abastecimento do Tocantins (Odebrech/Saneatins), para o córrego Papagaio (captação de água para abastecimento da cidade de Formoso), em desconformidade, com o padrão legal da Resolução 357/2005 (Conama).

**No sedimento:** Para as amostras de sedimentos foram analisadas, em janeiro de 2016, alguns princípios ativos utilizados na agricultura e com base nos relatórios de ensaios realizados pelo Laboratório ACS Agroambiental (Tabela 2.5). Os valores registrados em sedimento foram para acetamiprido em C1 (0,1 mg/kg); azoxistrobina + ciproconazol em C1 (0,4 mg/kg) e em C2 (0,6 mg/kg); clorantraniliprole em C1 (0,1 mg/kg) e em C2 (0,3 mg/kg); difenoconazol em C2 (0,2 mg/kg); fipronil em C1 (0,1 mg/kg) e em C2 (0,5 mg/kg); fipronil e Piraclostrobina

em C1 (0,1 mg/kg) e em C2 (0,9 mg/kg); imidacloprido em C1 (0,2 mg/kg) e em C2 (0,3 mg/kg); imidacloprido e tiodicarbe em C1 (0,3 mg/kg) e em C2 (0,7 mg/kg); piraclostrobina e epoxiconazol em C1 (0,2 mg/kg) e em C2 (0,4 mg/kg); trifloxistrobina e ciproconazol em C1 (0,4 mg/kg) e em C2 (0,7 mg/kg); trifloxistrobina e tebuconazol em C1 (0,2 mg/kg) e em C2 (0,4 mg/kg); tiametoxam em C1 (0,3 mg/kg) e em C2 (0,8 mg/kg); tiametoxam e cipermetrina em C1 (0,4 mg/kg) e em C2 (0,9 mg/kg); tiodicarbe em C1 (0,1 mg/kg) e em C2 (0,4 mg/kg).

**Tabela 2.5:** Pesticidas detectados em sedimentos de dois locais de estudo (C1 e C2), Formoso do Araguaia - TO, (2016). Os compostos analisados são apresentados em miligramas por quilogramas (mg/ kg) e não há referência de Valor Máximos Permitido - VMP regulamentado pela legislação brasileira (Conama 420/ 2009). LQ = limite de quantificação do equipamento (HPLC- DAD) (laboratórios de análises ACS Laboratórios, em Goiânia - GO).

Compostos Orgânicos nos sedimentos (2016)	VMP	Locais de estudo				
		C1	C2	R1	R2	R3
Tiodicarbe (mg/kg)	NR	0,1	0,4	< LQ (0,1)	< LQ (0,1)	< LQ (0,1)
Acetamiprido (mg/kg)	NR	< LQ (0,1)	0,1	< LQ (0,1)	< LQ (0,1)	< LQ (0,1)
Trifloxistrobina + Tebuconazol (mg/kg)	NR	0,2	0,4	< LQ (0,1)	< LQ (0,1)	< LQ (0,1)
Piraclostrobina + Epoxiconazol (mg/kg)	NR	0,2	0,4	< LQ (0,1)	< LQ (0,1)	< LQ (0,1)
Clorantniliprole (mg/kg)	NR	0,1	0,3	< LQ (0,1)	< LQ (0,1)	< LQ (0,1)
Azoxistrobina + Ciproconazol (mg/kg)	NR	0,4	0,6	< LQ (0,1)	< LQ (0,1)	< LQ (0,1)
Difenoconazol (mg/kg)	NR	< LQ (0,1)	0,2	< LQ (0,1)	< LQ (0,1)	< LQ (0,1)
Trifloxistrobina + Ciproconazol (mg/kg)	NR	0,4	0,7	< LQ (0,1)	< LQ (0,1)	< LQ (0,1)
Fipronil+Piraclostrobina (mg/kg)	NR	0,1	0,9	< LQ (0,1)	< LQ (0,1)	< LQ (0,1)

Para treze compostos analisados registrou-se valores acima dos limites de quantificação do equipamento em locais agrícolas (C1, C2). Para os dezessete compostos não há referência de Valor Máximos Permitido – VMP, regulamentado pela legislação brasileira (Conama 420/ 2009). Os sedimentos dos locais referências (R1, R2 e R3) não apresentaram resíduos desses pesticidas detectados em valores acima dos limites de quantificação do equipamento - LQ's (Tabela 2.5). Os pesticidas analisados pertencem as classes de inseticidas e fungicidas (nos respectivos grupos químicos): **Inseticidas:** acetamiprido, imidacloprido,



tiametoxam (neonicotinoides); flubendiamida (organoclorado); tiodicarbe(metilcarbamato de oxima); profenofos (organofosforados); clorantianiliprole (antranilamida); cipermetrina (piretroide); fipronil (pirazol). e em **fungicidas (grupo químico):** azoxistrobina, piraclostrobina, trifloxistrobina (estrobilurina); ciproconazol, difenoconazol, epoxiconazol; tebuconazol (triazol); fluaziam (do grupo químico das dinitroanilinas).

Na maioria das vezes os princípios ativos são utilizados de forma associada, conforme apresentado: imidacloprido e tiodicarbe; tiametoxam + cipermetrina; trifloxistrobina + tebuconazol; piraclostrobina + epoxiconazol; fipronil + piraclostrobina; azoxistrobina + ciproconazol (mg/kg); trifloxistrobina + ciproconazol. Aumentando o risco de efeitos aos organismos aquáticos expostos a esses compostos, como anuros principalmente em fase de desenvolvimento (embriões e larvas). O tiametoxam, comumente utilizado na agricultura da região, já foi identificado Saraiva (2016), em amostras ambientais do município de Formoso do Araguaia - TO e a sua toxicidade confirmada para invertebrados, afetando o equilíbrio ecológico de componentes da cadeia alimentar dos anfíbios (Ibama, 2012; Pough et al., 1998). Em decorrência de sua toxicidade à abelhas, o produto passou por processo de reavaliação no Brasil, porém segue com uso autorizado (Registro ANVISA nº 3183400660011 – TIAMETOXAM), bem como os demais produtos que estão com registro ativos na ANVISA para uso no território brasileiro. No entanto, constam com restrições de uso em outros países como é o caso do profenofos (proibido na união europeia e na suíça); epoxiconazol (com uso limitado no Reino Unido até 2021).

### 3.5 Flora

A vegetação tropical amostrada nos cinco locais de estudo em Formoso do Araguaia – TO, contemplou 29 (vinte e nove) Famílias (Tabela 2.6). Os locais com maior diversidade de espécies foram o Agrícola 2\_misto (32 Famílias) e o Cerrado (28 Famílias). Das 74 amostras coletadas, compreenderam à 14 Famílias (32 amostras), identificadas no ambiente Misto (Arroz/ soja e pastagem); 1 Família (2 amostras) identificadas no ambiente “Agrícola”, coberto por Arroz e onde também se plantam soja após colheita do arroz; “Cerrado”, 14 Famílias (28 amostras);

Ecótono com 4 Famílias (4 amostras); e em “Pastagem”, com 8 Famílias (8 amostras).

Tabela 2.6: Tipo de vegetação, identificada até ao taxon Família, predominante nos locais de estudo C1, C2 R1, R2 e em R3, Formoso do Araguaia, TO (2015 e 2016).

Local	Tipo de vegetação predominante (2015 e 2016)
C1	Poaceae
C2	Anacardiaceae, Bignoniaceae, Combretaceae, Curcubitaceae, Cyperaceae, Dilleniaceae, Fabaceae, Malpighiaceae, Malvaceae, Myrtaceae, Nyctaginaceae, Poaceae, Sapindaceae, Urticaceae
R2	Anacardiaceae, Malpighiaceae, Malvaceae, Rubiaceae
R1	Anacardiaceae, Asteraceae, Caesalpinioideae, Combretaceae, Curcubitaceae, Dilleniaceae, Heliconiaceae, Malpighiaceae, Malvaceae, Marantaceae, Poaceae, Rhamnaceae, Rubiaceae, Smilacaceae
R3	Anacardiaceae, Asteraceae, Boraginaceae, Chrysobalanaceae, Fabaceae, Heliconiaceae, Malpighiaceae, Vitaceae

Em suma, percebeu-se a presença de árvores nos cinco locais amostrados, ganhando destaque no ambiente agrícola a gramínea e, no local cerrado predominou árvores/ arbustos.

No C1, formado por arroz e soja, predominou a vegetação da Família Poaceae, já que na época de amostragem da vegetação havia plantio de arroz irrigado por inundação. No C2, com a presença do mesmo cultivo – arroz e soja, também foi avaliado, entretanto este contou com o incremento de cultivo, ou seja, a presença de ambiente de pastagem adjacente ao cultivo agrícola, por isso foi denominado de ambiente Misto (agrícola e pastagem). Foram amostradas quatorze Famílias de vegetação no Misto e a que teve destaque em termos quantitativos também foi a Poaceae.

No R1 (Cerrado) foram inventariadas 14 Famílias de vegetação, e as que mais se destacaram em termos de abundância relativa foram as Dilleniaceae e Malpighiaceae. No R2 (Ecótono) foram registradas quatro famílias: Anacardiaceae, Malpighiaceae, Malvaceae e Rubiaceae. No R3 (Pastagem) foram registradas oito Famílias, porém apenas 3 (três) delas foram comuns ao ambiente misto com o agrícola, Anacardiaceae, Fabaceae e Malpighiaceae. Outras diferentes Famílias que estiveram presentes no ambiente Pastagem foram: Asteraceae, Boraginaceae.

No entanto, nos C1 e C2 Formoso percebeu-se ser comum a presença de outros animais (não inventariados por este estudo), tais como: peixes, bem como animais de maior porte (onças, capivaras, veados, lobos-guará, emas). De acordo com Begon et al. (2010), animal ocupante do topo da cadeia alimentar (ex. onças), indica o nível de equilíbrio da cadeia trófica. Porém, observou-se que a fragmentação florestal e a alta disponibilidade de presas fáceis em campos agrícolas, poderiam atrair os possíveis predadores a esses locais.

Conforme Duellman & Trueb (1994), os ambientes influenciam nas características morfológicas e morfométricas dos girinos. Acerca disso, estudos com interesse em conhecer a morfologia e a biologia das larvas de anuros, durante o seu desenvolvimento, tem sido feitos via análise morfométrica dos girinos, contribuindo com a descrição dos indivíduos e evidenciando as diferenças existentes, dentre os diferentes organismos (Pezzuti, 2011; Haddad et al., 2013; Santos & Lima, 2013). A fitofisionomia da paisagem que cobre o solo da região Formoso do Araguaia – TO colabora com a existência de grande diversidade de anfíbios. Situada em uma área de transição entre o Cerrado e Floresta Amazônica, a cidade de Formoso, tem características edafoclimáticas particulares, garantindo-lhe a diversidade de girinos, conseqüentemente de anuros, sendo até então, desconhecida. A jusante onde o riacho é mais largo e mais sombreado, os invertebrados que pastejam ou raspam algas em pedras (pastejadores-raspadores) alimentos são mais abundantes. A fragmentação de partículas grandes em partículas orgânicas pequenas, bem como processo físico de decomposição das folhas, é responsável por esse aumento de que serve de alimento para coletores-apanhadores e coletores filtradores (Townsend et al., 2010).

### **3.6 Anuros**

#### **3.6.1. Diversidade de espécies de anuros**

A diversidade específica de anuros variou entre os cinco locais estudados (Tabela 2.7). O índice diversidade *Shannon-Wiener* registrado para 2015, foi de em C1 (0,049), C2 (1,53), R1 (1,67), R2 (2,63), R3 (2,11), conforme estão apresentados na Tabela 2.7.

Tabela 2.7: Espécies de anfíbios anuros localizados nos cinco locais de estudo, na região de Formoso do Araguaia, Brasil (2015).

Local	Tipo	Espécies capturadas em 2015	H'
C1	Arroz e soja	<i>Elachistocleis cesarii</i> , <i>Elachistocleis ovalis</i> , <i>Hypsiboas multifasciatus</i> , <i>Hypsiboas raniceps</i> , <i>Leptodactylus chaquensis</i> , <i>Leptodactylus fuscus</i> , <i>Leptodactylus latrans</i> , <i>Leptodactylus podicipinus</i> , <i>Lysapsus laevis</i> , <i>Physalaemus cuvieri</i> , <i>Rhinella granulosa</i> , <i>Rhinella schneideri</i> , <i>Scinax fuscovarius</i>	0,049
C2	Arroz, soja e pastagem	<i>Dendropsophus cruzi</i> , <i>Dendropsophus nanus</i> , <i>Elachistocleis cesarii</i> , <i>Hypsiboas albopunctatus</i> , <i>Hypsiboas boans</i> , <i>Hypsiboas raniceps</i> , <i>Leptodactylus fuscus</i> , <i>Leptodactylus latrans</i> , <i>Leptodactylus podicipinus</i> , <i>Leptodactylus pustulatus</i> , <i>Physalaemus cuvieri</i> , <i>Rhinella granulosa</i>	1,53
R1	Cerrado	<i>Barycholos ternetzi</i> , <i>Hypsiboas raniceps</i> , <i>Leptodactylus fuscus</i> , <i>Leptodactylus latrans</i> , <i>Leptodactylus pentadactylus</i> , <i>Leptodactylus podicipinus</i> , <i>Leptodactylus pustulatus</i> , <i>Physalaemus centralis</i> , <i>Physalaemus cuvieri</i> , <i>Rhinella ocelata</i>	1,67
R2	Ecótono	<i>Dendropsophus cruzi</i> , <i>Dendropsophus nanus</i> , <i>Elachistocleis cesarii</i> , <i>Elachistocleis ovalis</i> , <i>Hypsiboas albomarginatus</i> , <i>Hypsiboas cinerascens</i> , <i>Hypsiboas faber</i> , <i>Hypsiboas goianus</i> , <i>Hypsiboas punctatus</i> , <i>Hypsiboas raniceps</i> , <i>Hypsiboas rosenbergi</i> , <i>Leptodactylus chaquensis</i> , <i>Leptodactylus chaquensis</i> , <i>Leptodactylus fuscus</i> , <i>Leptodactylus latrans</i> , <i>Leptodactylus leptodactyloides</i> , <i>Leptodactylus podicipinus</i> , <i>Leptodactylus pustulatus</i> , <i>Phyllomedusa hypochondrialis</i> , <i>Physalaemus albonotatus</i> , <i>Physalaemus centralis</i> , <i>Physalaemus cuvieri</i> , <i>Physalaemus marmoratus</i>	2,63
R3	Pastagem	<i>Dendropsophus cruzi</i> , <i>Elachistocleis cesarii</i> , <i>Hypsiboas albopunctatus</i> , <i>Hypsiboas raniceps</i> , <i>Leptodactylus chaquensis</i> , <i>Leptodactylus fuscus</i> , <i>Leptodactylus latrans</i> , <i>Leptodactylus pentadactylus</i> , <i>Leptodactylus podicipinus</i> , <i>Leptodactylus pustulatus</i> , <i>Scinax granulatus</i>	2,11

Legenda: Local = corresponde aos cinco locais de estudo que foram codificados por: C1, C2, R1, R2, R3; Tipo = corresponde ao tipo de vegetação existente; Espécies = são as espécies de anfíbios anuros metamorfoseados que foram localizadas em cada local de estudo; H' = Índices de Diversidade de espécies de anfíbios anuros calculados por local de estudo, em 2015.

Em locais com menor diversidade de vegetação, como nos locais agrícolas (C1), onde predomina arroz irrigado por inundação apresentou menor índice de diversidade de anuros ( $H' = 0,049$ ). O contrário também se confirmou para os demais locais. Pelo menos três fatores podem ser responsáveis pelos diferentes padrões de composição e diversidade de espécies de anuros, a partir da alteração da cobertura vegetal original, como: a) a capacidade das populações de algumas espécies em colonizar o ambiente de área alterada, originado por ação antrópica; b) tolerâncias fisiológicas distintas das espécies em relação às condições ambientais; e c) dependência de microambientes específicos para a reprodução por algumas espécies das duas áreas (Moraes et al., 2007).

### 3.6.2. Dados biométricos dos anuros

De forma a identificar possíveis efeitos dos agroecossistemas na condição corporal dos anfíbios, foram efetuadas comparações dos parâmetros biométricos monitorados para cada espécie recolhida nos diferentes locais de estudo.

#### 3.6.2.1. *Rhinella granulosa*

A espécie *R. granulosa* foi capturada nos locais C1 (n = 3) e em C2 (n = 2). Comparando os indivíduos dos dois locais, verificou-se que não apresentaram diferenças em suas condições corporais, quanto à média dos parâmetros morfométricos: comprimento rostro-cloaca, diâmetro do tímpano, comprimento do membro posterior e massa (teste *Student t*:  $p \geq 0,908$ ; Figura 2.4).

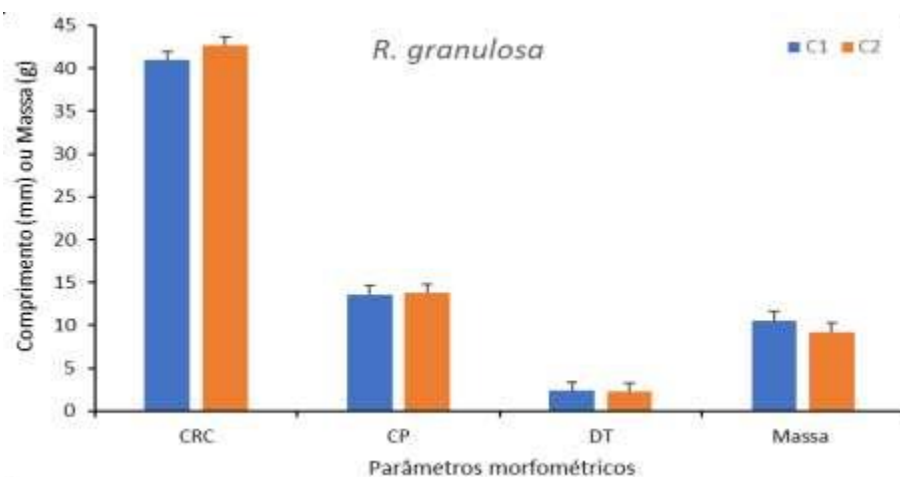


Figura 2.4: Média do comprimento rostro-cloaca (CRC), diâmetro do tímpano (DT), comprimento do membro posterior (CP), e massa dos indivíduos de *Rhinella granulosa*, capturados nos locais C1 (azul) e C2 (laranja) na região de Formoso do Araguaia - TO, Brasil(2015). As barras de erro correspondem aos desvios padrão.

#### 3.6.2.2. *Dendropsophus nanus*

A espécie *D. nanus* foi capturada em locais R2 (n = 9) e em C2 (n = 2). Ao comparar os parâmetros biométricos dos anuros dos dois locais, não foram observadas diferenças significativas para: comprimento rostro-cloaca, diâmetro do tímpano, comprimento do membro posterior e massa (teste *Student t*:  $p \geq 0,306$ ; Figura 2.5).

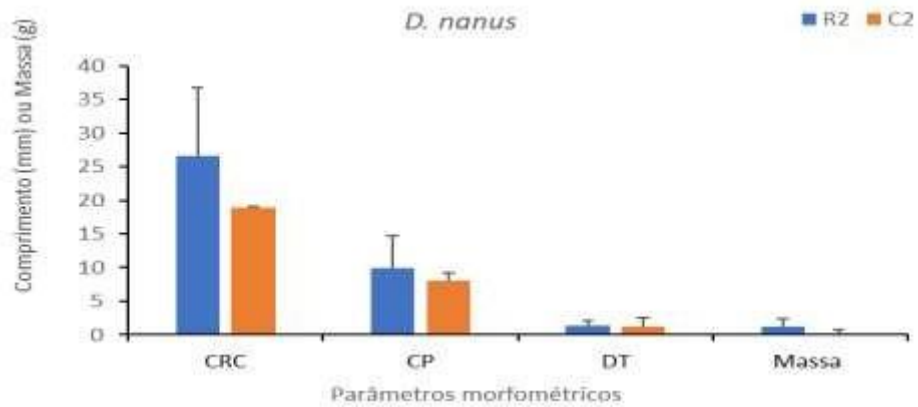


Figura 2.5: Média do comprimento rostro-cloaca (CRC), diâmetro do tímpano (DT), comprimento do membro posterior (CP), e massa dos indivíduos de *Dendropsophus nanus* capturados nos locais R2 (azul) e C2 (laranja), na região de Formoso do Araguaia - TO, Brasil(2015). As barras de erro correspondem aos desvios padrão.

### 3.6.2.3. *Elachistocleis ovalis*

A espécie *E. ovalis* foi capturada nos locais R2 (n = 14) e C1 (n = 5), para os quais não apresentaram diferenças em suas condições corporais, quanto à média dos parâmetros morfométricos: comprimento rostro-cloaca, diâmetro do tímpano, comprimento do membro posterior e massa (teste *Mann-Whitney*:  $p \geq 0,095$ ; Figura 2.6).

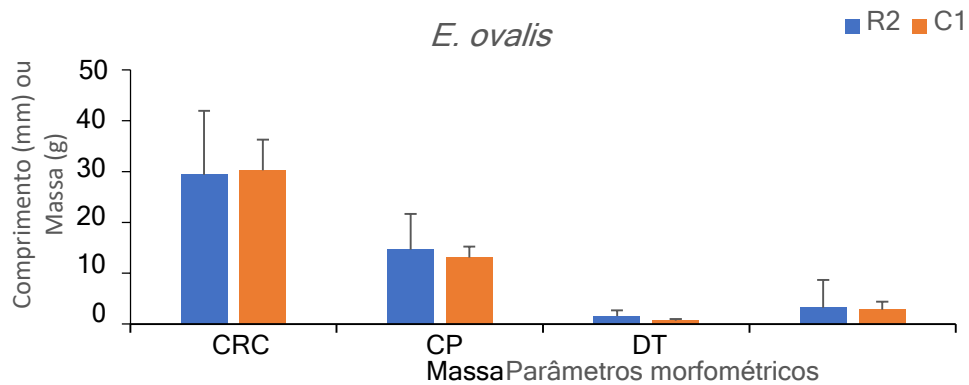


Figura 2.6: Média do comprimento rostro-cloaca (CRC), diâmetro do tímpano (DT), comprimento do membro posterior (CP), e massa dos indivíduos de *Elachistocleis ovalis*, capturados nos locais R2 (azul) e C1 (laranja), na região de Formoso do Araguaia - TO, Brasil(2015). As barras de erro correspondem aos desvios padrão.

#### 3.6.2.4. *Hypsiboas albomarginatus*

A espécie *H. albomarginatus* foi capturada em R3 (n = 5) e em R2 (n = 5). Os parâmetros morfométricos medidos nos indivíduos dos dois locais não apresentaram diferenças de: comprimento rostro-cloaca, diâmetro do tímpano, comprimento do membro posterior e massa (teste *Student t*:  $p \geq 0,409$ ; Figura 2.7).

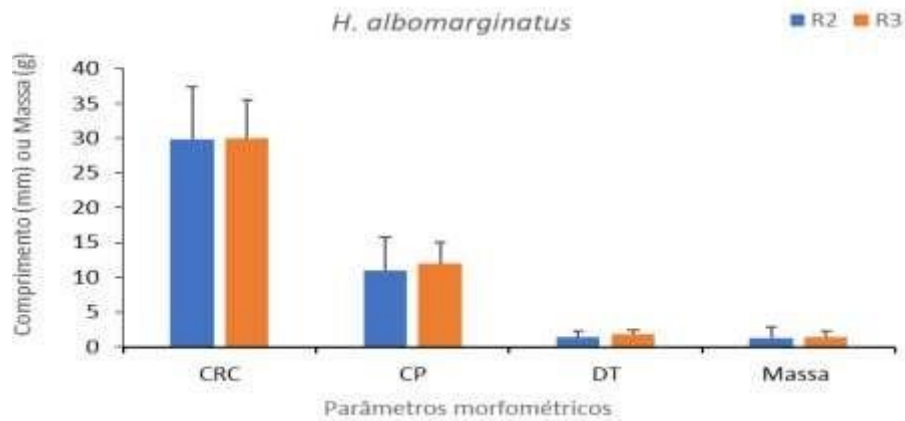


Figura 2.7: Média do comprimento rostro-cloaca (CRC), diâmetro do tímpano (DT), comprimento do membro posterior (CP), e massa dos indivíduos de *Hypsiboas albomarginatus*, capturados nos locais R2 (azul) e R3 (laranja), na região de Formoso do Araguaia - TO, Brasil (2015). As barras de erro correspondem aos desvios padrão.

#### 3.6.2.5. *Leptodactylus pustulatus*

A espécie *L. pustulatus* foi capturada nos locais R1 (n = 4) e em C2 (n = 2). Ao comparar os parâmetros biométricos dos indivíduos dos dois locais foram observadas diferenças. Os animais capturados em R1 apresentaram maior comprimento rostro-cloaca, comprimento do membro posterior e massa do que os do local C2 (teste *Student t*:  $p \leq 0,0179$ ; Figura 2.8).

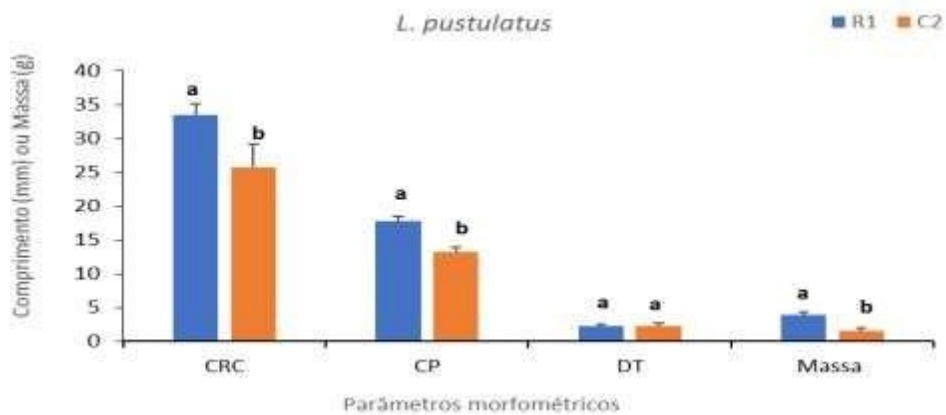


Figura 2.8: Média do comprimento rostro-cloaca (CRC), diâmetro do tímpano (DT), comprimento do membro posterior (CP), e massa dos indivíduos de *Leptodactylus pustulatus*, capturados nos locais R1 (azul) e C2 (laranja), na região de Formoso do Araguaia - TO, Brasil (2015). As barras de erro correspondem aos desvios padrão. a, b - indicam diferenças significativas entre R1 e C2 para cada parâmetro morfométrico  $p \leq 0,0179$ .

### 3.6.2.6. *Elachistocleis cesarii*

A espécie *E. cesarii* apenas ocorreu nos locais R2 (n = 13), R3 (n = 5) e C1 (n = 2). Não foram observadas diferenças significativas nos parâmetros biométricos analisados entre as duas populações para: comprimento rostro-cloaca, diâmetro do tímpano, comprimento do membro posterior e massa (teste *Kruskal-Wallis*:  $p \geq 0,669$ ; Figura 2.9).

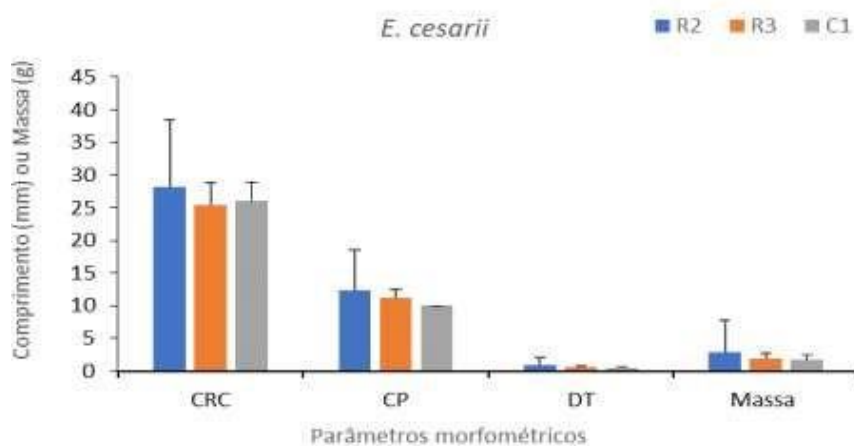


Figura 2.9: Média do comprimento rostro-cloaca (CRC), diâmetro do tímpano (DT), comprimento do membro posterior (CP), e massa dos indivíduos de *Elachistocleis cesarii*, capturados nos locais R2 (azul), R3 (laranja) e C1 (cinza), na região de Formoso do Araguaia - TO, Brasil (2015). As barras de erro padrão correspondem aos desvios padrão.



### 3.6.2.7. *Hypsiboas raniceps*

A espécie *H. raniceps* foi capturada nos locais R2 (n = 8), R3 (n = 6), C1 (n = 4) e C2 (n = 4). Os parâmetros morfométricos medidos nos indivíduos desses locais apresentaram diferenças em suas condições corporais. Os animais capturados em C1 apresentaram maior diâmetro do tímpano do que os dos locais C2, R2 e R3 e os do local C2 apresentaram maior massa do que os dos locais C1, R2 e R3 e (teste *Tukey*.  $p \leq 0,028$ ; Figura 2.10).

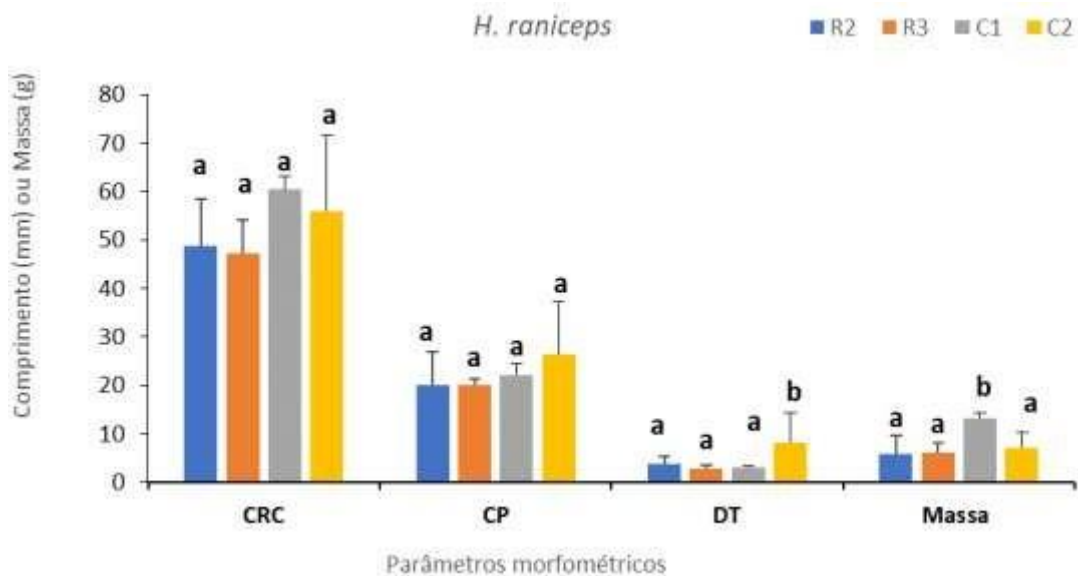


Figura 2.10: Média do comprimento rostro-cloaca (CRC), diâmetro do tímpano (DT), comprimento do membro posterior (CP), e massa dos indivíduos de *Hypsiboas raniceps*, capturados nos locais R2 (azul), R3 (laranja), C1 (cinza) e C2 (amarelo), na região de Formosodo Araguaia - TO, Brasil (2015). As barras de erro correspondem aos desvios padrão. a, b - indicam diferenças significativas entre R1 e C2 para cada parâmetro morfométrico  $p \leq 0,028$ ).

### 3.6.2.8. *Leptodactylus chaquensis*

A espécie *L. chaquensis* foi capturada nos locais R2 (n = 13), R3 (n = 2) e em C1 (n = 5). Ao comparar os parâmetros biométricos dos anuros dos três locais, não foram observadas diferenças em suas condições corporais quanto à média de comprimento rostro-cloaca, diâmetro do tímpano, comprimento do membro posterior e massa (teste *Tukey*.  $p \geq 0,115$ ; Figura 2.11).

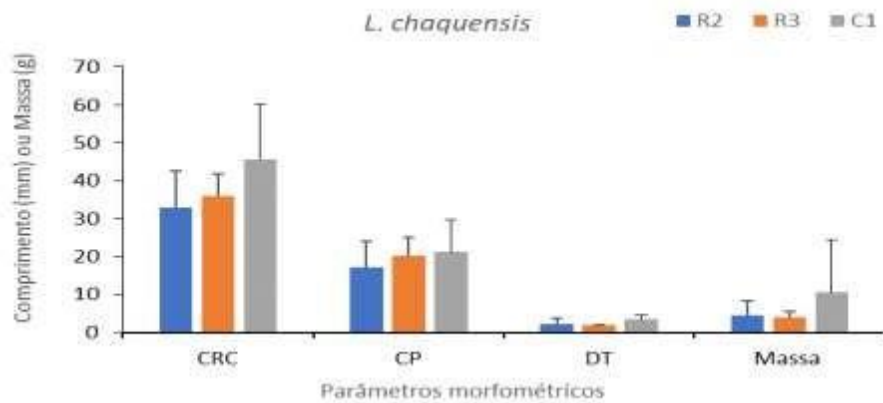


Figura 2.11: Média do comprimento rostro-cloaca (CRC), diâmetro do tímpano (DT), comprimento do membro posterior (CP), e massa dos indivíduos de *Leptodactylus chaquensis*, capturados nos locais R2 (azul), R3 (laranja) e C1 (cinza), na região de Formoso do Araguaia - TO, Brasil (2015). As barras de erro correspondem aos desvios padrão.

### 3.6.2.9. *Leptodactylus fuscus*

A espécie de *L. fuscus* foi capturada nos locais R2 (n = 8), R3 (n = 12), C1 (n = 3) e em C2 (n = 4). Ao comparar os parâmetros biométricos dos anuros dos quatro locais, não foram observadas diferenças em suas condições corporais quanto à média de comprimento rostro-cloaca, diâmetro do tímpano, comprimento do membro posterior e massa (teste *Tukey*.  $p \geq 0,460$ ; Figura 2.12).

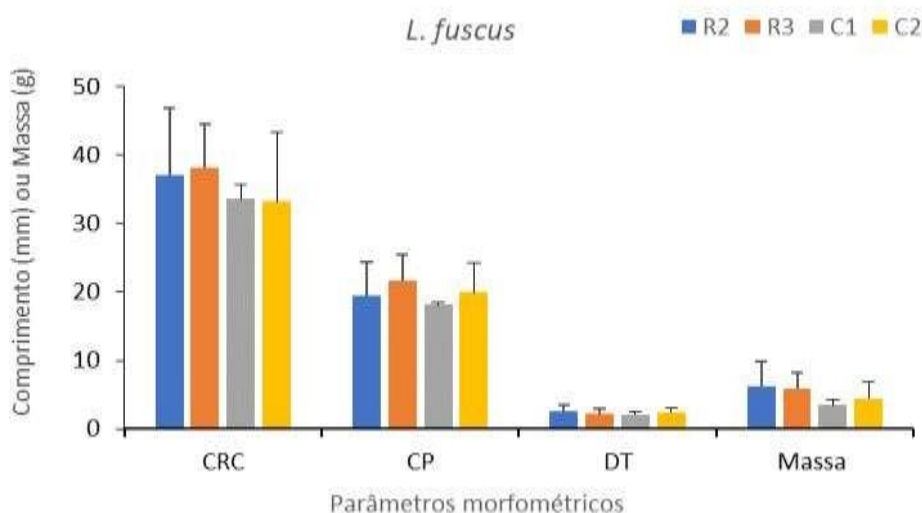


Figura 2.12: Média do comprimento rostro-cloaca (CRC), diâmetro do tímpano (DT), comprimento do membro posterior (CP), e massa dos indivíduos de *Leptodactylus fuscus*, capturados nos locais R2 (azul), R3 (laranja), C1 (cinza) e C2 (amarelo), na região de Formoso do Araguaia - TO, Brasil (2015). As barras de erro correspondem aos desvios padrão.

### 3.6.2.10. *Leptodactylus latrans*

A espécie de *L. latrans* foi capturada nos locais R1 (n = 14), R2 (n = 14), C1 (n = 45), C2 (n = 48) e em R3 (n = 9). Ao comparar os parâmetros biométricos dos anuros dos cinco locais, foram observadas diferenças em suas condições corporais. Os animais dos locais C1, C2 e R1 apresentaram maior comprimento rostro-cloaca, diâmetro do tímpano, comprimento do membro posterior e massa do que os dos locais R2 e R3 (teste *Kruskal-Wallis*:  $p \leq 0,00$ , Figura 2.13).

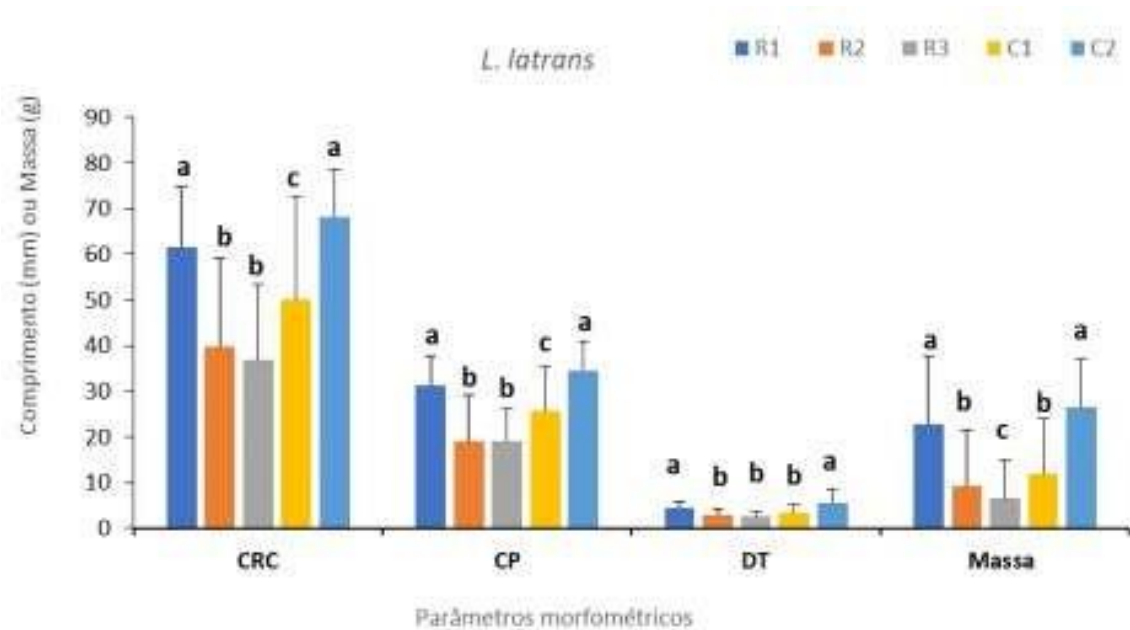


Figura 2.13: Média do comprimento rostro-cloaca (CRC), diâmetro do tímpano (DT), comprimento do membro posterior (CP), e massa dos indivíduos de *Leptodactylus latrans*, capturados nos locais C1 (amarelo), C2 (azul claro), R1 (azul), R2 (laranja) e R3 (cinza), na região de Formoso do Araguaia - TO, Brasil (2015). As barras de erro correspondem aos desvios padrão. a, b - indicam diferenças significativas entre C2 e R1, para cada parâmetro morfométrico  $p \leq 0,00$ .

### 3.6.2.11. *Leptodactylus podicipinus*

A espécie *L. podicipinus* foi capturada nos locais C1 (n = 17), C2 (n = 11), R1 (n = 14), R2 (n = 34), e em R3 (n = 4). Ao comparar os parâmetros biométricos dos anuros dos cinco locais, não foram observadas diferenças em suas condições corporais quanto à média de comprimento rostro-cloaca, diâmetro do tímpano, comprimento do membro posterior e massa (teste *Kruskal-Wallis*:  $p \geq 0,312$ ; Figura 2.14).

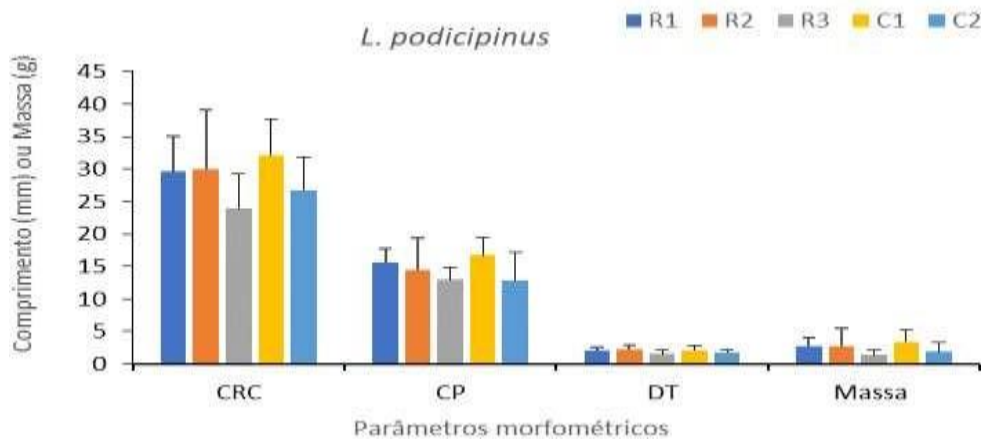


Figura 2.14: Média do comprimento rostro-cloaca (CRC), diâmetro do tímpano (DT), comprimento do membro posterior (CP), e massa dos indivíduos de *Leptodactylus podicipinus*, capturados nos locais C1 (amarelo), C2 (azul claro), R1 (azul), R2 (laranja) e em R3 (cinza), na região de Formoso do Araguaia - TO, Brasil (2015). As barras de erro correspondem aos desvios padrão.

### 3.6.2.12. *Physalaemus cuvieri*

A espécie *P. cuvieri* foi capturada nos locais C1 (n = 3), C2 (n = 3) e em R2 (n = 11). Ao comparar os parâmetros biométricos dos anuros dos três locais, não foram observadas diferenças em suas condições corporais quanto à média de comprimento rostro-cloaca, diâmetro do tímpano, comprimento do membro posterior e massa (teste *Tukey*.  $p \geq 0,146$ ; Figura 2.15).

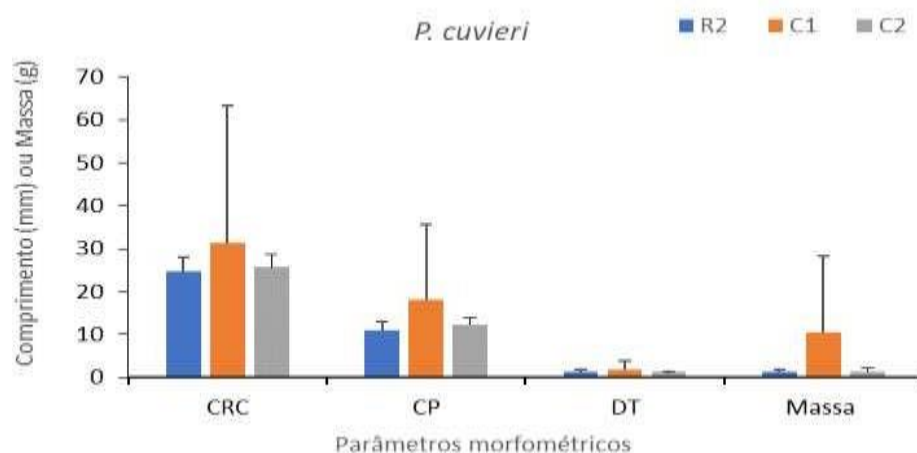


Figura 2.15: Média do comprimento rostro-cloaca (CRC), diâmetro do tímpano (DT), comprimento do membro posterior (CP), e massa dos indivíduos de *Physalaemus cuvieri*, capturados nos locais R2 (azul), C1 (laranja) e C2 (cinza), na região de Formoso do Araguaia - TO, Brasil (2015). As barras de erro correspondem aos desvios padrão.

No que diz respeito ao índice de diversidade de espécies também foram registradas variações entre os cinco locais, observa-se a diversidade de espécies - H' em C1 (0,049), C2 (1,53); R1 (1,67); R2 (2,63) no R3 (pastagem = 2,11). Sendo que em relação a morfometria dos anfíbios anuros capturados na região de Formoso do Araguaia – TO, registrou-se efeitos significativos ( $p < 0,05$ ) das condições corporais para três espécies: *L. pustulatus*, *H. raniceps* e *L. latrans*. Para *L. pustulatus* registrou-se aumento significativo dos anuros do local R1 comparativamente aos indivíduos do local C2. Quanto à espécie *H. raniceps*, os efeitos significativos os indivíduos do C1 foram maiores (13,25 g), do que os em R2 (5,70 g), R3 (6,15 g) e C2 (7,13 g). Para a espécie *L. latrans* todos os parâmetros morfométricos medidos nos cinco locais registrou animais em C2 maiores do que em R2 e R3; e para os indivíduos do C2 maiores do que do local C1; e espécimes do local R1 são maiores do que do local R2 e do R3, conforme valores (médias e desvios padrão) já descritos para os parâmetros (CRC, CP, DT e da massa).

O maior registro de anuros capturados foi durante os meses de novembro a março (época chuvosa), considerado período de reprodução (Auricchio & Salomão, 2002). As famílias de anuros (Bufonidae, Leiuperidae, Leptodactylidae e Microhylidae) já haviam sido capturadas no município de Formoso do Araguaia – TO. As espécies *Rhinella schneideri*, *Scinax fuscovarius*, *Leptodactylus labyrinthicus*, *L. fuscus* e *Physalaemus cuvieri*, poderiam ser endêmicas, mesmo assim, com possibilidade de ocorrência em locais antropizados como em área agrícola ou em domínio de Cerrado. Espécies localizadas em bioma Cerrado, tem ampla distribuição geográfica, na Floresta Amazônica, a exemplo da espécie *Dendropsophus nanus*, comum também, na Mata Atlântica, no Chaco e nos Pampas; a *Hypsiboas punctatus* (na Amazônia, Cerrado); o gênero *Phyllomedusa* (em florestas tropicais da Amazônia); *Leptodactylus labyrinthicus* (no Cerrado) (Frost, 2017; Pavan, 2007; Heyer, 2005). O Cerrado favorece, em todos os aspectos, as demais espécies registradas para a área de estudo, em especial, para a área agrícola, onde esteve presente espécies que são de áreas abertas, e se adaptam a locais alterados. Foi comum a presença de anuros vocalizando em poças temporárias, no meio das lavouras e às margens de canais de irrigação, tais como: *Dendropsophus*, *Physalaemus*, *Leptodactylus*. E apesar de poucos estudos

terem sido realizados nessa região, o Tocantins denota possuir rica anurofauna, conforme o registro de anuros ( $H'$ ) apresentado neste estudo para região sob influência de agricultura de arroz e soja desde os anos 80. Por se tratar de área no entorno de unidade de conservação ambiental, pode abrigar espécies ainda desconhecidas bem como espécies em risco de extinção, antes mesmo de descobertas. Para tanto, são necessários estudos intensivos e de longa duração, em mais localidades principalmente, no domínio de Cerrado e Ecótono, para avaliar de forma precisa, a distribuição da riqueza, ao longo de toda a extensão do domínio (Valdujo et al., 2005), tendo em vista que efeitos significativos foram registrados para os locais R1 e no R2.

Nesse sentido, observa-se que algumas espécies que ocorreram nesta área tropical alterada são ecologicamente generalistas e podem invadir locais antropizados, tais como: *Hypsiboas*, *Leptodactylus* e *Physalaemus*. Foi comum há vários locais desde ecótono até pastagem e agrícola de Formoso do Araguaia. Os anfíbios com ampla distribuição geográfica que ocorrem em áreas de Cerrado, foram registrados também na região tropical de Formoso do Araguaia. Inclusive, na área sob influência agrícola, foi identificada espécie com poder farmacológico (*Phyllomedusa*) e ameaçada de extinção.

### 3.7 Ensaio de ecotoxicidade a amostras de água superficial e sedimentos

A exposição às matrizes ambientais (água superficial e sedimento), induziu mortalidade superior a 25% nos organismos expostos a água e sedimento do local C2. Nos restantes tratamentos a mortalidade registada foi sempre inferior ou igual a 25% (C1, R1, R2, R3, C0, Ctrl). No que diz respeito aos parâmetros morfométricos analisados, observou-se que os girinos expostos às matrizes ambientais dos locais e C1, R1, R2, R3, R4 e C0 apresentaram um tamanho da cauda superior aos girinos do grupo controle (Anova de 1-via seguida do teste *Homl-Sidak*:  $p < 0,001$ ; Figura 2.16). Do mesmo modo os girinos expostos às amostras ambientais de C1, R1, R2, R3, R4, e apresentaram um tamanho total do corpo superior aos girinos do controle (Anova de 1-via seguida do teste *Homl-Sidak*:  $p < 0,001$ ; Figura 2.16). Finalmente, observou-se que os girinos expostos a amostras de R3 possuíam um comprimento

rosto-cloaca superior aos girinos expostos às amostras ambientais de C0 e controle (Anova de uma via seguida do teste *Hommel-Sidak*:  $p < 0,002$ ; Figura 2.16).

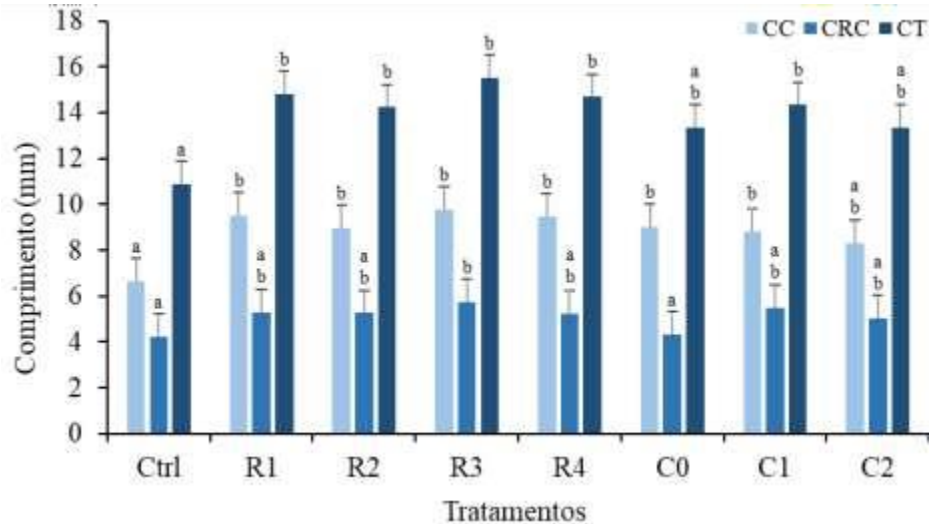


Figura 2.16: Média do comprimento da cauda (CC), rostro-cloaca (CRC), e total (CT), de girinos de *P. cuvieri*, após sete dias de exposição às amostras de ambientes (água +sedimento) recolhidas nos sete locais de estudo (C1, C2, R1, R2, R3, R4, C0) e ao controle. As barras de erro correspondem aos valores de desvios padrão. As letras a, b, c indicam grupos homogêneos dentro de cada parâmetros morfométricos.

Estes resultados apontam para que não há efeitos tóxicos a curto prazo das matrizes ambientais recolhidas nos diferentes locais. Apenas no caso de C2 houve uma mortalidade de 33%. Isto indica que apesar de se terem detectados contaminantes orgânicos e pesticidas nos locais estudados, devem estar em concentrações que não provocam efeitos significativos a curto prazo nestes organismos.

Em geral, houve um aumento do tamanho dos organismos nos locais de referências relativamente ao controle. Isto pode ser devido aos sedimentos apresentarem mais matéria orgânica e complementado o alimento que foi fornecido a esses animais durante o ensaio.

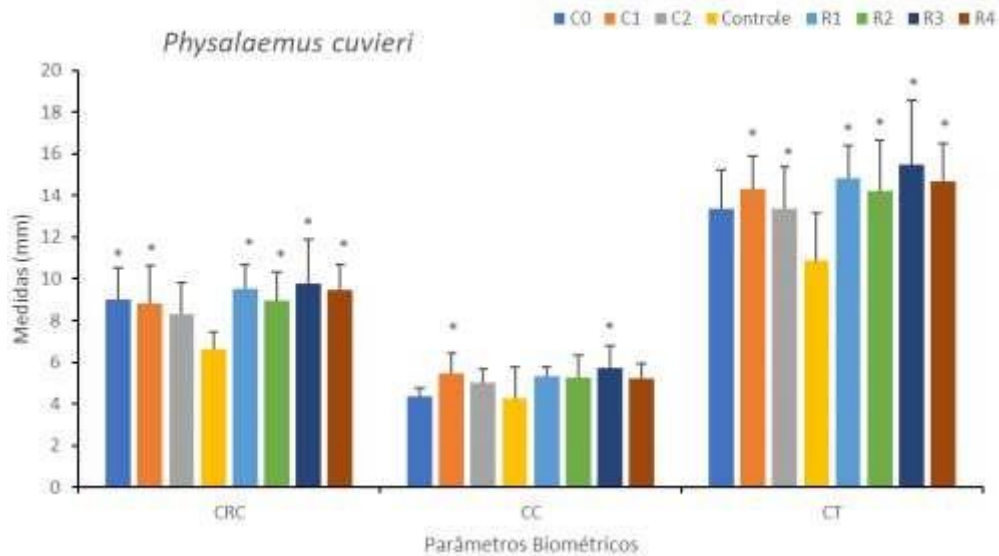


Figura 2.17: Média das medidas (mm) realizadas em girinos de *P. cuvieri* expostos, por um período de 7 dias (168 h), a oito tratamentos (mistura de água e sedimentos), de seis locais de estudo (expressos no gráfico), com base no CRC = comprimento do corpo; CC = comprimento da cauda; CT = comprimento total do girino. Dois controles foram empregados no teste, Ctrl (Controle) = réplicas controles em meio artificial Fetax (*hardwater*) mais areia esterilizada e o C0 = réplicas controles em meio artificial Fetax (*hardwater*) sem areia esterilizada. As barras de erro representam o desvio padrão. Os asteriscos representam locais que apresentaram medidas dos girinos naquele parâmetro (ou CRC ou CC ou CT), diferentes significativamente ( $p < 0,005$ ), quando comparados aos girinos do respectivo Controle - Ctrl. O estágio de desenvolvimento dos girinos 26 (Gosner, 1960).

A partir do teste Anova de uma-via realizado com as medidas (comprimento rostro-cloaca - CRC, comprimento da cauda - CC, comprimento total do girino - CT) e tratamentos experimentais do ensaio de toxicidade, a igualdade de variâncias para as análises foi assumida, com nível de significância ( $\alpha = 0,05$ ), a partir do método *Dunnnett* com 95 % de IC, demonstra a existência de diferenças entre os parâmetros biométricos quando comparados aos respectivos grupos controles (teste *Dunnnett*,  $p \leq 0,001$ ; Figura 2.17). Os girinos do local C2 e controle apresentaram menor comprimento rostro-cloaca do que os dos locais R1, R2, R3, C1 e C0 (teste *Dunnnett*,  $p \leq 0,001$ ). Os girinos de *P. cuvieri* apresentaram diferenças significativa do comprimento da cauda comparativamente ao controle e ao C0 (teste *Dunnnett*,  $p = 0,002$ ). Para o comprimento da cauda dos girinos dos locais C1 - arroz/soja ( $5,498 \pm 0,497$ ) e do R3 = Pastagem ( $5,728 \pm 1,039$  mm) apresentaram maior cauda do que os do controle ( $4,245 \pm 1,555$ ). O comprimento total dos girinos



de *P. cuvieri* apresentaram diferenças significativa comparativamente ao controle e ao C0 (teste *Dunnett*,  $p = 0,000$ ). Os girinos dos locais C1, C2 R1, R2 e R3, apresentaram maior comprimento do que os girinos do controle e do C0.

Independente da variação apresentada pelo índice de diversidade de espécies de anuros adultos – H', nos locais de estudo C1 (0,049), C2 (1,53), R1 (1,67), R2 (2,63) e em R3 (2,11), observa-se que os girinos da espécie submetida ao ensaio de toxicidade apresentaram maior CRC para todos os locais comparativamente aos do controle. O valor de H' foi de 2,11 no R3 e de 0,049 no C1 e para nesses mesmos locais as larvas de *P. cuvieri* submetidas a exposição de água e sedimento apresentaram maiores comprimentos de cauda. Para esses dois locais não estaria acontecendo a reabsorção da cauda durante o desenvolvimento dessa espécie. Já com relação aos valores registrados para comprimento corpóreo – CT, os girinos estariam se desenvolvendo mais rapidamente em exposição a amostras de água e sedimento dos cinco locais dos girinos em meio ótimo (controle). A cauda dos girinos tem a função de atuar como mecanismo de defesa diante de algum estresse ou ameaça de predador, sendo possível sobreviver e até atingir a metamorfose após desprender da cauda. Esse comportamento pode ser adotado na tentativa de se livrar de um predador ou alterações de estresse ao qual seja submetido no meio aquático. Efeitos diferentes são percebidos em anuros adultos e não são registrados em girinos do mesmo local, conforme apresentado girinos sofrem alterações em suas medidas, e no entanto, é registrada elevada diversidade de espécies de anuros adultos (como exemplificado no local R3), pode não ocasionar efeitos em organismos em fase larval de *P. cuvieri*. Ao compararmos os dados de morfometria de adulto de *P. cuvieri* dos três locais C1 ( $n = 3$ ), C2 ( $n = 3$ ) e em R2 ( $n = 11$ ) não foram observadas diferenças em suas condições corporais quanto à média de comprimento rostro- cloaca, diâmetro do tímpano, comprimento do membro e massa (teste *Tukey*:  $p \geq 0,146$ ; Figura 2.15). No entanto, a riqueza de *P. cuvieri* é em torno de 70% maior em R2 (11 espécimes) do que em C1 assim como em C2 (em ambos foram capturados apenas 3 espécimes em cada local). Com isso, é possível que esta espécie esteja sob efeitos de alterações existentes nos locais de estudo, e em outras espécies ser mais ou menos significativo o nível de impacto e a depender

do estágio larval. Devido aos efeitos morfométricos verificados em girinos neste ensaio de toxicidade de água e sedimento dos locais de estudo, pode desencadear alterações de longo prazo no desenvolvimento larval até a metamorfose.

Em campos agrícolas de Formoso do Araguaia foi comum a presença de diversas e rica fauna terrestre e aquática, como por exemplo, avifauna, bem como outros vertebrados têm por seu habitat, devido a imensa disposição de canais de irrigação que por vezes apresentam um aspecto azul-esverdeado ou coberto por plantas aquáticas (águapés), como pode ser associado às poças, habitat de girinos. Esses locais, portanto, se tornam perfeitos à reprodução dos anfíbios (McDiarmid & Altig, 1999; Pough et al., 2004).

Os efeitos negativos da contaminação em anfíbios são especialmente elevados quando os animais são adicionalmente estressados por outros fatores ambientais devido aos processos de adaptação econômica (Ortiz-Santaliestra et al., 2010). Pesticidas como os detectados nos sedimentos dos locais agrícolas neste estudo (C1, C2), também são utilizados para capina química em pastagens dessa região (R3). Portanto, a anurofauna identificada nos cinco pontos, pode ainda ser submetida às alterações de fontes diversas de forma direta e indireta. Por exemplo, além da atividade agrícola e o uso de pesticidas a pecuária pode impactar os anfíbios dessa área, ainda que tenham sido detectados apenas em locais de prática agrícola e em baixas quantidades. A bovinocultura desenvolvida, por si só pode impactar também os anfíbios (por meio do pisoteio em habitats comungados, como por exemplo trilhas formadas pelo próprio animal), já que foi comprovada a existência de diversidade variável de espécies de anuros nessa região e, em diferentes estágios de desenvolvimento.

De forma geral, os anfíbios possuem grupos com diferenças importantes quanto a capacidade de tolerar as alterações ambientais, ou seja, abrangem desde espécies sensíveis (especialistas) a robustas (generalistas). As especialistas são mais exigentes quanto aos habitats que ocupam, ao contrário das generalistas, pouco exigentes, com altas taxas de crescimento e alto potencial de dispersão (Negri, 2015; Wells, 2007).

O local R3, mostrou-se um importante ambiente para o estudo já que apresentou ( $H' = 1,67$ ), o que pode ser devido a presença de fragmentos de

vegetação neste local, até então comum em pastagens do bioma Cerrado tocantinense. Algumas espécies mais resistentes são potencialmente favorecidas por locais agrícolas. É certo que, de forma geral, os desmatamentos prejudicam ou chegam a extinguir localmente algumas populações de anfíbios de locais florestais. Mas, isso não acontece com todas as espécies, algumas são capazes de invadirem as áreas outrora ocupadas pelas florestas (Becker et al., 2016; Haddad, 2008).

A perda de espécies muitas vezes é indicativa da existência de poluição e, mudanças na riqueza de espécies de um rio, lago, ou ambiente terrestre proporcionando bioensaios de proporção da sua contaminação (Begon et al., 2007). Entretanto, outras espécies levam desvantagens, por não conseguirem se adaptar a mudanças no meio. Neste caso, a expansão agrícola oferece riscos a muitas populações de anfíbios de ambientes fechados, por não se adaptarem às novas condições, que provocam, inclusive à sua extinção, em função da remoção ou forte perturbação da floresta (MMA, 2009).

A composição da fauna de anuros do estado apresentou maior representatividade pelas famílias Leptodactylidae e Hylidae, mas também foram encontradas: Bufonidae, Leuperidae, Microhylidae. As espécies *Hypsiboas* ocorreram em grande abundância e ocupavam locais antropizados, apesar de apresentarem distribuição principalmente, amazônica.

De acordo com a faixa de transição em que se realize buscas a composição de espécies encontrada na bacia hidrográfica do rio Tocantins é diferente. Em região de domínio do Cerrado, em fronteira com Caatinga (Valdujo et al., 2011), registrou-se: *Dendropsophus rubicundulus*, *Rhinella ocellata*, *Barycholos ternetzi*, com espécies consideradas típicas da Caatinga, como: *Corythomantis greeningi*, *Leptodactylus troglodytes* e *Pleurodema diplolister*, e espécies pertencentes ao ambiente amazônico, como: *Scinax constrictus* (pertencente a *S. rostratus*), *Osteocephalus cf. taurinus*, *Rhaebo guttatus* (Vitt et al., 2005). Já nos locais deste estudo como por exemplo no R2 – ecótono de cerrado e floresta amazônica não foram localizadas espécies características desses biomas.

Em áreas abertas do Cerrado acumulam-se água (poças), geralmente, utilizadas para reprodução dos anfíbios. Apesar da diversidade de habitats para reprodução em áreas abertas ser, de um modo geral, menor que em florestas

(Cardoso et al., 1989), o uso de ambientes abertos para reprodução é mais utilizado por espécie endêmica ou fortemente associadas ao Cerrado, quanto por aquelas que ocorrem em mais de um domínio, devido à maior extensão das formações campestres e savânicas quando comparada ao Cerrado (Oliveira-Filho & Ratter, 2002).

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Ao todo, foram alvo deste estudo cinco tipos de locais, cada um respeitando a sua especificidade, porém não perdendo o enfoque deste estudo, sempre se voltando para a influência dos pesticidas agrícolas. Com isso feito, possibilitou-se comparar os distintos locais entre si, conduzindo a uma avaliação consistente, da qualidade ambiental para a área de abrangência do município de Formoso do Araguaia – TO, Brasil, antes não existente.

Em face à significativa variabilidade ambiental abiótica (precipitação) pela influência da abundância, distribuição e estruturação de anuros de região tropical em ambientes aquáticos lênticos, característicos de ambientes eutróficos, recomenda-se seu contínuo monitoramento para evitar prejuízos aos usos do sistema aquático, para abastecimento e sobretudo conservação das espécies de anuros.

Conclui-se que os agrossistemas expõem os anfíbios anuros ao risco de contaminação em decorrência da presença de pesticidas oriundos do cultivo de arroz e soja da região. Os registros realizados para a região de Formoso do Araguaia, comprova que tanto há uma elevada biodiversidade da fauna quanto da flora apesar de altamente fragmentadas para plantio agrícola e criação de bovinos.

A área em torno de 20 mil hectares, destinada à produção de arroz, irrigado em sistemas do tipo inundação, há praticamente 40 anos, ininterruptamente, um dos maiores produtores de grãos, destinados à produção de sementes. A mesma região é mundialmente, reconhecida em função da presença do maior parque fluvial do mundo, Parque Nacional do Araguaia, e é considerada como um sítio RAMSAR (área úmida de importância ecológica para o mundo) com rica biodiversidade. Ambas podem estar interagindo em diversos fatores ambientais.

Apesar da metodologia ter se mostrado importante para a tomada de decisões que nortearam o desenvolvimento de ensaios ecotoxicológicos como no Capítulo IV desta Tese, o biomonitoramento contínuo por meio de espécies de anuros tropicais e pesticidas comumente utilizados em culturas agrícolas, pode gerar resultados científicos mais robustos, possibilitando que dados diversos sejam produzidos para região tropical, servindo de parâmetros a outras localidades com características semelhantes. Por isso é fundamental a continuidade das investigações, empregando metodologias diversas em diferentes espécies de anfíbios, já que neste trabalho foi comprovado efeitos em termos de biomassas tanto em anuros arborícolas quanto terrícolas. Esse monitoramento pode evidenciar em diferentes níveis de organização biológica, a significância e magnitude do impacto dos pesticidas às populações de anfíbios.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AB´SABER, A.N. Espaços ocupados pela extensão dos climas secos na América do Sul, por ocasião dos períodos glaciais quaternários. **Paleoclimas**. 3:1-18. 1977.
- ABNT. Associação Brasileira de Normas Técnicas. Publicada a nova versão da ISO/IEC 17025. 2005.
- ABRAMOVAY, R. Alimentos versus população: está ressurgindo o fantasma malthusiano?. **Ciência e Cultura**, v. 62, n. 4, p. 38-42, 2010.
- ALBUQUERQUE, A. F.; RIBEIRO, J. S.; KUMMROW, F.; NOGUEIRA, A. J. A.; MONTAGNER, C. C.; UMBUZEIRO, G. A. Pesticides in brazilian freshwaters: a critical review. **Environmental Science: Processes & Impacts**, v. 00, P. 1-9, 2016.
- ALMEIDA, M. D.; CAVENDISH, T. A.; BUENO, P. C.; ERVILHA, I. C.; GREGÓRIO, L. de S.; KANASHIRO, N. B. de O.; ROHLFS, D. B.; CARMO, T. F. M. do. A flexibilização da legislação brasileira de agrotóxicos e os riscos à saúde humana: Análise do Projeto de Lei nº 3.200/2015. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 33, n. 7, 2017.
- ALTIG, R.; WHILES, M. R.; TAYLOR, C. L. What do tadpoles really eat? Assessing the trophic status of an understudied and imperiled group of consumers in freshwater habitats. **Freshwater Biology**, v. 52, n. 2, p. 386-395, 2007.
- ANKLEY, G. T. et al. Assessment of environmental stressors potentially responsible for malformations in North American anuran amphibians. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 58, n. 1, p. 7-16, 2004.
- APHA. American Public Health Association. **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**, 1984.
- ARANGO, H. G. **Bioestatística: teórica e computacional**. 2 ed. Rio de Janeiro. Guanabara Koogan, 2005.
- ARRUDA, M. R.; MOREIRA, A.; PEREIRA, J. C. R. **Amostragem e Cuidados na Coleta de Solo para Fins de Fertilidade**. Embrapa Amazônia Ocidental, 2014.
- AURICCHIO P.; SALOMÃO M. da G. Técnicas de coleta e preparação de vertebrados para fins científicos e didáticos. **Instituto Pau Brasil de História Natural, São Paulo**, p. 77-123, 2002.
- BATES, A. J. Water as consumed and its impact on the consumer—do we understand the variables?. **Food and chemical toxicology**, v. 38, p. S29-S36, 2000.
- BECKER, C. G.; RODRIGUES, D.; LONGOL, A. V.; TOLEDO, F.; LAMBERTINI, C.; LEITE, D. S.; HADDAD, C. F. B.; ZAMUDIO, K. R. Deforestation, host community structure, and amphibian disease risk. **Basic and applied ecology**, v. 17, n. 1, p. 72-80, 2016.

- BEDOR, C. N. G. **Estudo do potencial carcinogênico dos agrotóxicos empregados na fruticultura e sua implicação para a vigilância da saúde.** Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, v. phd, 2008.
- BEGON, M., TOWNSEND, C. R., HARPER, J. L. **Ecologia: de indivíduos a ecossistemas.** Tradução Adriano Sanches Melo... et al., - 4. ed. - Porto Alegre: Artmed, 2007. 752p.
- BERTONI, J.; LOMBARDI NETO, F. L. **Conservação do solo.** 5. ed. São Paulo: Ícone, 2005. 355 p.
- BLAUSTEIN, A. R. Declining amphibian populations in perspective. **Park Science**, v. 13, p. 8-9, 1993.
- BLAUSTEIN, A. R.; WAKE, D. B.; SOUSA, W. P. Amphibian declines: judging BLAUSTEIN, A. R. Chicken little or Nero's fiddle? A perspective on declining amphibian populations. **Herpetologica**, v. 50, n. 1, p. 85-97, 1994.
- stability, persistence, and susceptibility of populations to local and global extinctions. **Conservation biology**, v. 8, n. 1, p. 60-71, 1994.
- BLAUSTEIN, A. R.; URBINA, J.; NYDER, P. W.; REYNOLDS, E.; DANG, T.; HOVERMAN, J. T. HAN, B.; OLSON, D. H.; SEARLE, C.; HAMBALÉK, N. M. Effects of emerging infectious diseases on amphibians: a review of experimental studies. **Diversity**, v. 10, n. 3, p. 81, 2018.
- BLAUSTEIN, A. R.; ROMANSIC, J. M.; KIESECKER, J. M.; HATCH, A. C. Ultraviolet radiation, toxic chemicals and amphibian population declines. **Diversity and distributions**, v. 9, n. 2, p. 123-140, 2003.
- BOTH, C.; KAEFER, I. L.; SANTOS, T. G.; CECHIN, S. T. Z. An austral anuran assemblage in the Neotropics: seasonal occurrence correlated with photoperiod. **Journal of Natural History**, v. 42, n. 3-4, p. 205-222, 2008.
- BRANDÃO, C.J.; BOTELHO, M. J. C.; SATO, M. I. Z.; LAMPARELLI, M. C (org.). **Guia nacional de coleta e preservação de amostras: água, sedimento, comunidades aquáticas e efluentes líquidos.** Companhia Ambiental do Estado de São Paulo - CETESB; Brasília: ANA, 2011. Disponível em: <https://arquivos.ana.gov.br/institucional/sge/CEDOC/Catalogo/2012/GuiaNacionalDeColeta.pdf>. Acesso em 12 jan. 2018.
- BRASIL, G. C. **Diagnóstico Ambiental e Institucional: plano de monitoramento ambiental do estado do Tocantins.** Governo do Estado do Tocantins. Fundação Dom Cabral, 2002.
- BROCHARDT, V. A. **Direito à informação sobre agrotóxicos.** 2020, 236F. Tese (Doutorado) - Universidade de Brasília, Brasília, 2020.
- BROWNE, R. K.; ODUM, R. A.; HERMAN, T.; ZIPPEL, K. Facility design and associated services for the study of amphibians. **ILAR journal**, v. 48, n. 3, p. 188-202, 2007.
- BRUNELLI, E. et al. Gill alterations as biomarkers of chronic exposure to endosulfan in *Bufo bufo* tadpoles. **Histology and Histopathology**, v. 25, n. 12, p. 1519-1529, 2010.

- BURELLA, P. M.; SIMONIELLO, M. F. da; POLETTA, G. L. Evaluation of stage-dependent genotoxic effect of Roundup®(glyphosate) on *Caiman latirostris* embryos. **Archives of environmental contamination and toxicology**, v. 72, n.1, p. 50-57, 2017.
- CAMARGO, A. J. A.; OLIVEIRA, C. M.; FRIZZAS, M. R.; SONODA, K. C.; CORRÊA, D. C. V. Coleções entomológicas: legislação brasileira, coleta, curadoria e taxonomias para as principais ordens. **Embrapa Cerrados-Livro científico (ALICE)**, 2015.
- CAMPOS, J. A. D. B.; FARACHE FILHO, A.; FARIA, J. B. Qualidade da água armazenada em reservatórios domiciliares: parâmetros físico-químicos e microbiológicos. **Alimentos e Nutrição Araraquara**, v. 14, n. 1, 2009.
- CAMPOS, C. E. C. **Ecologia de comunidades e comportamento reprodutivo de anfíbios anuros em savana amazônica**. [S.L.] Universidade Federal do Rio Grande do Norte, 2015.
- CARDOSO, A. J.; ANDRADE, G. V.; HADDAD, C. F. B. Distribuição espacial em comunidades de anfíbios (Anura) no sudeste do Brasil. **Revista Brasileira de Biologia**, v. 49, n. 1, p. 241-249, 1989.
- CARNEIRO, F. F., AUGUSTO, L. G. da S.; RIGOTTO, R. M.; FRIEDRICH, K.; BÚRIGO, A. C (org.). **Dossiê ABRASCO: um alerta sobre os impactos dos agrotóxicos na saúde**. EPSJV/Expressão Popular, 2015.
- CASTRO, J. C.; PINTO, A. T. Quality of water in tanks of tadpole of bull frog, *Rana catesbeiana* Shaw, 1802, cultivated in different stock densities. **Revista Brasileira de Zootecnia (Brazil)**, 2000.
- CHELME-AYALA, P.; LI, X.; NOUR, M.; EL-DIN\*, M. D.; IKEHATA, K.; SMITH, D. W. Pesticides and herbicides. **Water Environment Research**, v. 79, n. 10, p. 1766-1850, 2007.
- CHEN, C. Y.; HATHAWAY, K. M.; FOLT, C. L. Multiple stress effects of Vision® herbicide, pH, and food on zooplankton and larval amphibian species from forest wetlands. **Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal**, v. 23, n. 4, p. 823-831, 2004.
- CONAMA. Conselho Nacional do Meio Ambiente. **Resolução nº 420**, de 28 de dezembro de 2009. Dispõe sobre critérios e valores orientadores de qualidade do solo quanto à presença de substâncias químicas e estabelece diretrizes para o gerenciamento ambiental de áreas contaminadas por essas substâncias em decorrência de atividades antrópicas. Diário Oficial, (249), p. 81-84, 2009.
- \_\_\_\_\_. Conselho Nacional do Meio Ambiente. **Resolução nº 357**, 18 de março de 2005. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. Diário Oficial, (53), p. 58-63, 2005. <https://doi.org/10.12957/revista.053>, de 18/03/2005.
- COTA, A. P. **Técnicas de coletas, herborização e inventário florístico de arbóreas**. Manejo Florestal. Universidade Federal de Viçosa.



- CRIBB, A. Y.; AFONSO, A. M.; MOSTÉRIO, C. M. F. **Manual técnico de ranicultura**. Embrapa Agroindústria de Alimentos, Brasília, p. 13-71, 2013.
- CUNHA, M. L. **Determinação de resíduos de pesticidas em sedimentos dos principais rios do Pantanal Mato-grossense por CG/EM**. 2003. 91f. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Saúde Coletiva, Universidade Federal de Mato Grosso, Cuiabá, 2003.
- DALL'AGNOL, A. O Brasil na produção global de alimentos. **Agrojornalismo**, 2020. Disponível em: < <https://blogs.canalrural.com.br/embrapasoja/2020/09/21/o-brasil-na-producao-global-de-alimentos/#:~:text=Rodrigues%2C%20o%20Brasil%20%C3%A9%20o,nacional%20entre%206%20a%208%20%25L>>. Acesso em 21 set. 2020.
- DENSMORE, C. L.; GREEN, D. E. Diseases of amphibians. **Ilar Journal**, v. 48, n. 3, p. 235-254, 2007.
- DIMITRIE, D. a.; SPARLING, D. W. Joint toxicity of chlorpyrifos and endosulfan to Pacific treefrog (*Pseudacris regilla*) tadpoles. **Archives of environmental contamination and toxicology**, v. 67, n. 3, p. 444-452, 2014.
- DUELLEMAN, W. E.; TRUEB, L. **Biology of amphibians**. JHU press, 1994.
- EDWARDS, C. A. Persistent pesticides in the environment. **Persistent pesticides in the environment**, n. Ed. 2, 1973.
- EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Manual de métodos de análise de solo**. 2. ed. rev. atual. - Rio de Janeiro, 1997.
- \_\_\_\_\_. **Aptidão agrícola das terras do Estado de Tocantins**. Serviço Nacional de Levantamento e Conservação de Solos, Rio de Janeiro, RJ, 2004.
- \_\_\_\_\_. **Manual de Procedimentos de Coleta de Amostras em Áreas Agrícolas para Análise da Qualidade Ambiental: Solo, Água e Sedimentos**, 2006.
- \_\_\_\_\_. **Guia Prático para Interpretação de Resultados de Análises de Solo**. (L. F. Sobral & J. L. dos Anjos, Marcos Cabral de Vasconcellos Barretto, Airon José da Silva, Orgs.), Embrapa. Aracaju, SE, 2015.
- FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. **Statistical pocketbook: World food and agriculture**, 2015.
- \_\_\_\_\_. **Livro de Atividades - Heróis da Alimentação**. Roma. 2020. <https://doi.org/10.4060/ca9845pt>.
- FARIAS, P. R. S. **Manual de Entomologia Geral**. Belem, PA: Edufra, 2013.
- FERNANDES, V. A.; SILVA, L. F.; MESQUITA, T. R. R.; CAPETTINI, L. S. A.; RODRIGUES, A. L. P.; SANTOS, S. L. Uso de pesticidas na agricultura-Análise da prática na cidade de Ibitiré/MG. **Scientia Plena**, v. 8, n. 3 (a), 2012.
- FIorentino, G.; BROSSI, L.; AMELONG, I.; CAMPANATTI, C. As oito grandes tendências de crescimento até 2020. **Boston: Bain & Company, Inc**, 2012.
- FONSECA, C. F.; BECKER, C. G.; HADDAD, C. F. B.; PRADO, P. I. **Metamorfose: o declínio mundial dos anfíbios é agravado pela desconexão entre**

o hábitat aquático dos girinos e o hábitat terrestre dos adultos, induzida pelas atividades humanas. **Scientific American Brasil**, v. 72, p. 88-93, 2008.

FORLANI, M. C. et al. Herpetofauna do Parque Estadual Carlos Botelho, São Paulo, Brasil. **Biota Neotropica**, v. 10, n. 3, p. 266-309, 2010.

FROST, D. R. **Amphibian species of the world: an online reference**. Version 6.0. (Access December 07, 2017). Electronic Database accessible at: <http://research.amnh.org/herpetology/amphibia/index.html>. American Museum of Natural History, New York, USA.

GOMES, A. S. Análise de Dados, 2006.

GOSNER, K. L. A Simplified table for staging anuran embryos and larvae with notes on identification. **Herpetologica**, v. Vol. 16, n. 3, p. 183-190, 1960. Retrieved from <https://www.jstor.org/stable/3890061>.

GOULART, M. D. C.; CALLISTO, M. Bioindicadores de Qualidade de Água como Ferramenta em Estudos de Impacto Ambiental. **Revista da FAPAM**, v. 2, n. 2, p. 153-164, 2003.

GUERRA C., ARÁOZ, E. Amphibian malformations and body condition across an agricultural landscape of northwest Argentina. Amphibian malformations and body condition across an agricultural landscape of northwest Argentina. **Diseases of aquatic organisms**, v. 121, n. 2, p. 105-116, 2016.

HADDAD, C. F. B. Uma análise da lista brasileira de anfíbios ameaçados de extinção. In: PAGLIA, A. P.; DRUMMOND, G. M.; MACHADO, A. B. M. (Eds.). **Livro Vermelho da Fauna Brasileira**. Rio Claro - SP: Departamento de Zoologia, I.B., UNESP, p. 888. 2008.

HAIDAR, R.F.; FAGG, J. M. F.; PINTO, J. R. R.; DIAS, R. R.; DAMASCO, G.; SILVA, L. C. R.; FAGG, C. W. Florestas estacionais e áreas de ecótono no estado do Tocantins, Brasil: parâmetros estruturais, classificação das fitofisionomias florestais e subsídios para conservação. **Acta Amazonica**, v. 43, n. 3, p. 261-290, 2013.

HAYES, T. B.; CASE, P.; CHUI, S.; CHUNG, D.; HAEFFELE, C.; HASTON, K.; LEE, M.; MAI, V. P.; MARJUAO, Y.; PARKER, J.; TSUI, M. Pesticide Mixtures, Endocrine Disruption, and Amphibian Declines: Are We Underestimating the Impact? **Environmental Health Perspective**, v. 114, Suppl 1, p. 40-50, 2006.

HAYES, T. B.; P. FALSO, P.; GALLIPEAU, S.; STICE, M. The cause of global amphibian declines: a developmental endocrinologist's perspective. **Journal of Experimental Biology**, v. 213, n. 6, p. 921-933, 2010.

HEYER, W.R.; DONNELLY, M.A.; McDIAMID, R.W.; HAYEK, L.A.C.; FOSTER, M.S. **Measuring and monitoring biological diversity**. Standard methods for amphibians. Washing-ton, Smithsonian Institution Press, 1994.

HEYER, W. R. Variation and taxonomic clarification of the large species of the *Leptodactylus pentadactylus* species group (Amphibia: Leptodactylidae) from Middle America, northern South America, and Amazonia. **Arquivos de Zoologia Sao Paulo**, 2005.

- HIGUCHI, M.I. G.; HIGUCHI, N. A Floresta Amazônica e suas múltiplas dimensões: uma proposta de educação ambiental. 2a. edição revisada e ampliada. 2012.
- HILDEBRAND, M. 1995. **Análise da estrutura dos vertebrados**. São Paulo, Atheneu, 700p
- HUA, J.; WUERTHNER, V. P.; JONES, D. K.; MATTES, B.; COTHRAN, R. D.; RELYEA, R. A.; HOVERMAN, J. T. Evolved pesticide tolerance influences susceptibility to parasites in amphibians. **Evolutionary applications**, v. 10, n. 8, p. 802-812, 2017.
- HUCKEMBECK, S. **Abundância, uso de microhabitat e ecologia trófica de *Podonectes minutus* (Günther, 1858) (Anura: Hylidae) no Parque Nacional da Lagoa do Peixe (RS)**. 2010, 71f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Rio Grande – FURG, Rio Grande, 2010.
- IBAMA. Efeitos dos agrotóxicos sobre as abelhas silvestres no Brasil. Proposta metodológica de acompanhamento. (M. C. de Lima e Sá & A. Rocha, Orgs.). Brasília - DF, 2012.
- IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Manual Técnico da Vegetação Brasileira**. 2ª edição revista e ampliada, 2012.
- \_\_\_\_\_. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Monitoramento da cobertura e uso da terra do Brasil: 2016-2018**. 2020.
- IGA, L. M.; BLAUSTEIN, A. R. Variations in lethal and sublethal effects of cypermethrin among aquatic stages and species of anuran amphibians. **Environmental toxicology and chemistry**, v. 32, n. 12, p. 2855-2860, 2013.
- JORDANI, M. X. **Processos Ecológicos e Filogenéticos na Estruturação de Comunidades de Girinos**. 2013, 56F. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista, São José do Rio Preto, 2013.
- JORNAL NACIONAL. Queimadas em floresta no Médio Araguaia. Recuperado 24 de outubro de 2017, de <<http://g1.globo.com/jornal-nacional/noticia/2017/09/por-cao-de-queimadas-floresta-no-medio-araguaia-deve-desaparecer.html>>.
- JUNGES, C. M.; MAGLIANESE, M. I.; LAJMANOVICH, R. C.; PELTZER, P. M.; ATTADEMO, A. M. Acute toxicity and etho-toxicity of three insecticides used for mosquito control on amphibian tadpoles. **Water, Air, & Soil Pollution**, v. 228, n.4, p. 143, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11270-017-3324-6>.
- KIEHL, E. J. **Manual de edafologia**. São Paulo. Ceres, 1979.
- KOPP, K.; ETEROVICK, P. C. Factors influencing spatial and temporal structure of frog assemblages at ponds in southeastern Brazil. **Journal of Natural History**, v. 40, n. 29-31, p. 1813-1830, 2006.
- KOPP, K.; SIGNORELLI, L.; BASTOS, R. P. Distribuição temporal e diversidade de modos reprodutivos de anfíbios anuros no Parque Nacional das Emas e entorno, estado de Goiás, Brasil. **Iheringia. Série Zoologia**, v. 100, n. 3, p. 192-200, 2010.

KREBS, C. J. **Ecological methodology**. Menlo Park, California: Addison Wesley Educational Publishers, 1999.

LEITE, G. L. D.; SÁ, V. G. M. Apostila: **Taxonomia, Nomenclatura e Identificação de Espécies**. Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Agrárias, p. 50, 2010.

LEMOS, R. C.; SANTOS, R. D. **Manual de descrição e coleta de solo no campo**. Campinas, 1996. 45p.

LOOY, H.; DUNKEL, F. V.; WOOD, J. R. How then shall we eat? Insect-eating attitudes and sustainable foodways. **Agriculture and human values**, v. 31, n. 1, p. 131-141, 2014.

MACKENZIE, C. A.; BERRILL, M.; METCALFE, C.; PAULI, B. D. Gonadal differentiation in frogs exposed to estrogenic and antiestrogenic compounds. **Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal**, v. 22, n. 10, p. 2466-2475, 2003.

McDIARMID, R. W.; ALTIG, R. **Tadpoles: the biology of anuran larvae**. TheUniver Ed. London: The University of Chicago Press, 1999.

MAFFEI, F. **Relações entre variáveis ambientais e anfíbios anuros em áreas de cerrado e floresta estacional semidecidual**. 2014, 36f. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2014.

MAFFEI, F.; UBAID, F. K.; JIM, J. Anurofauna em área de cerrado aberto no município de Borebi, estado de São Paulo, Sudeste do Brasil: uso do habitat, abundância e variação sazonal. **Biota Neotropica**, v. 11, n. 2, p. 221-233, 2011.

MARCO, A.; BLAUSTEIN, A.R. The effects of nitrite on behavior and metamorphosis in Cascades frogs (*Rana cascadae*). **Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal**, v. 18, n. 5, p. 946-949, 1999.

MARTINELLI, L. A.; OMETTO, J. P. H. B.; FERRAZ, E. S.; VICTORIA, R. L.; CAMARGO, P. B. de; MOREIRA, M. Z. **Desvendando questões ambientais com isótopos estáveis**. São Paulo - SP, 2009.

MCNEELY, J. A e SCHERR, S. J. **Ecoagricultura: alimentação do mundo e biodiversidade**. São Paulo: editora Senac São Paulo, 2009.

MIYAZAKI, R. D.; DUTRA, R. R. C. Famílias de Coleoptera capturadas com armadilha luminosa em oito localidades do Paraná, Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 12, n. 2, p. 321-332, 1995.

MMA. Ministério do Meio Ambiente. Curso de Identificação Botânica de Espécies Arbóreas da Região Amazônica. Brasília - DF, 2009.

MORAES, R. A. de; SAWAYA, R. J.; BARRELLA, W. Composição e diversidade de anfíbios anuros em dois ambientes de Mata Atlântica no Parque Estadual Carlos Botelho, São Paulo, sudeste do Brasil. **Biota Neotropica**, v. 7, n. 2, p. 0-0, 2007.

NAPOLI, M. F.; CARAMASCHI, U. Geographic variation of *Hyla rubicundula* and *Hyla anataliasiasi*, with the description of a new species (Anura, Hylidae). **ALYTES-PARIS-**, v. 16, p. 165-189, 1999.

NOGUEIRA, C. de C.; FERREIRA, M. N.; RECODER, R. S.; CARMIGNOTTO, A. P.; VALDUJO, P. H.; LIMA, F. C. T. de.; GREGORIN, R.; SILVEIRA, L. F.; RODRIGUES, M. T. Vertebrados da Estação Ecológica Serra Geral do Tocantins: faunística, biodiversidade e conservação no Cerrado brasileiro. **Biota Neotropica**, v. 11, n. 1, p. 329-338, 2011.

OLIVEIRA-FILHO, A.; RATTER, J. Vegetation Physiognomies and woody flora of the Cerrado biome. In **The Cerrados of Brazil: Ecology and Natural History of a Neotropical Savanna** (P. S. Oliveira & R. J. Marquis). New York, 2002.

ORTIZ-SANTALIESTRA, M. E.; BENEITEZ, M. J. F.; LIZANA, M.; MARCO, A. Adaptation to osmotic stress provides protection against ammonium nitrate in *Pelophylax perezii* embryos. **Environmental Pollution**. v. 158, n. 3, p. 934-940, 2010.

ORTIZ-SANTALIESTRA, M. E.; SPARLING, D. W. Alteration of larval development and metamorphosis by nitrate and perchlorate in southern leopard frogs (*Rana sphenoccephala*). **Archives of environmental contamination and toxicology**, v. 53, n. 4, p. 639-646, 2007.

PAPINI, S.; ANDRÉA, M. M.; LUCHINI, L. C. **Segurança ambiental no controle químico de pragas e vetores**. 1 ed, Editora Atheneu, São Paulo, 2014.

PAVAN, D. **Assembleias de répteis e anfíbios do Cerrado ao longo da bacia do rio Tocantins e o impacto do aproveitamento hidrelétrico da região na sua conservação**. 2007, 422f. Tese (Doutorado) - Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo. Departamento de Zoologia, São Paulo, 2007.

PELTZER, P. M.; LAJMANOVICH, R. C.; ATTADEMO, A. M.; JUNGES, C. M.; CABAGNA-ZENKLUSEN, M. C.; REPETTI, M. R.; SIGRIST, M. E.; BELDOMÉNICO, H.; Effect of exposure to contaminated pond sediments on survival, development, and enzyme and blood biomarkers in veined treefrog (*Trachycephalus typhonius*) tadpoles. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 98, 2013.

PEREIRA, A.L.; BENEDITO, E. Isótopos estáveis em estudos ecológicos: métodos, aplicações e perspectiva. **Revista Biociências**, v. 13, n. 1-2, p. 16-27, 2007.

PESSIER, A. P. An overview of amphibian skin disease. In: **Seminars in avian and exotic pet medicine**. WB Saunders, 2002. p. 162-174.

PEZZUTI, T. L. Girinos do quadrilátero ferrífero, sudeste do Brasil: Ecomorfologia e chave de identificação interativa. 2011, 212f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Minas Gerais - Instituto de Ciências Biológicas, Belo Horizonte, 2011.

PICANÇO, M. C. **Entomologia**. Departamento de Biologia Animal. Universidade Federal de Viçosa. Viçosa - MG, 2010.

POUGH, F. H.; ANDREWS, R. M.; CADLE, J. E.; SAVITZKY, A. H and. WELLS, K. D. **Herpetology**. New Jersey. Prentice Hall, 1998.

- PROVETE, D. B.; GAREY, M. V.; SILVA, F. R. DA.; ROSSA-FERES, D. C. Anurofauna do noroeste paulista: lista de espécies e chave de identificação para adultos. **Biota Neotropica**, v. 11, n. 2, p. 377-391, 2011.
- REGITANO, J. B.; ALLEONI, L. R. F.; TORNISIELO, V. L. Atributos de solos tropicais e a sorção de imazaquin. **Scientia Agricola**, v. 58, n. 4, p. 801-807, 2001. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0103-90162001000400023&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-90162001000400023&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt)>. Acesso em 05 ago. 2019.
- REICHARDT, K.; TIMM, L. C. **Solo, planta e atmosfera: conceitos, processos e aplicações**. 2ª ed. Barueri: Manole, 2012.
- RELYEA, R. A.; JONES, D. K. The toxicity of Roundup Original Max® to 13 species of larval amphibians. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 28, n. 9, p. 2004-2008, 2009.
- RIBEIRO, R. da S.; EGITO, G. T. B. T. do; HADDAD, C. F. B. Chave de identificação: anfíbios anuros da vertente de Jundiá da Serra do Japi, Estado de São Paulo. **Biota Neotropica**, v. 5, n. 2, p. 235-247, 2005. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1676-06032005000300017&lng=pt&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1676-06032005000300017&lng=pt&tlng=pt)>. Acesso em 29 ago. 2019.
- ROCHA, A. A. **Monitoramento de agrotóxicos em áreas irrigadas por pivô central na microbacia do Tijunheiro, município de Morrinhos, Goiás**. 2011, 145f. Tese (Doutorado) - Universidade de São Paulo, Piracicaba-SP, 2011.
- ROCHA, A. G. da. **Agrotóxicos: Uma análise comparativa da legislação entre Brasil, União Europeia e Estados Unidos da América**. 2014, 75f. Monografia (Graduação) - Universidade de São Paulo, São Carlos, 2014.
- ROSSA-FERES, D. de C.; SAWAYA, R. J.; FAIVOVICH, J.; GIOVANELLI, J. G. R.; BRASILEIRO, C. A.; SCHIESARI, L.; ALEXANDRINO, J.; HADDAD, C. F. B. Anfíbios do Estado de São Paulo, Brasil: conhecimento atual e perspectivas. **Biota Neotropica**, v. 11, p. 47-66, 2011.
- SAATH, K. C. de O.; FACHINELLO, A. L. Crescimento da demanda mundial de alimentos e restrições do fator terra no Brasil. **Revista de Economia e Sociologia Rural**, v. 56, n. 2, p. 195-212, 2018.
- SANTOS, M. A. T.; AREAS, M. A. REYES, F. G. R. Piretróides-uma visão geral. **Alimentos e Nutrição Araraquara**, v. 18, n. 3, p. 339-349, 2007.
- SANTOS, M. C. O.; LIMA, M. S. C. S. **Morfometria e desenvolvimento de girinos em condições laboratoriais e naturais**. 2013, 3f. Trabalho (PIBIC) -Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2013.
- SARAIVA, A. S. **Avaliação da toxicidade de tiametoxam, ciproconazol e paraquat em invertebrados aquáticos**. 2016, 91f. Tese (Doutorado). Universidade Federal do Tocantins, Gurupi-TO, 2016.
- SILVA, A. G. C. **Biomassas presentes no Estado do Tocantins**. Biblioteca Digital da Câmara dos Deputados, p. 10, 2007. Disponível em: <[http://bd.camara.leg.br/bd/bitstream/handle/bdcamara/1424/biomassas\\_tocantins\\_silva.pdf?sequence=1](http://bd.camara.leg.br/bd/bitstream/handle/bdcamara/1424/biomassas_tocantins_silva.pdf?sequence=1)>. Acesso em 03 set. 2018.

SILVA, J. M.; SANTOS, J. R. Toxicologia de agrotóxicos em ambientes aquáticos. *Oecologia Brasiliensis*, v. 11, n. 04, p. 565-573, 2007.

SILVEIRA, R. M. **Bioensaios de toxicidade e organismos bioindicadores como instrumento para a caracterização ambiental do rio Itajaí-Mirim, SC.** 2007, 122f. Dissertação (Mestrado) - Universidade do Vale do Itajaí, Itajaí-SC, 2007.

SILVÉRIO-JÚNIOR, P. F., AMARAL-JÚNIOR, A. T., RANGEL, R. M.; VIAN, A. P. Genetic gains in popcorn by full-sib recurrent selection. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, v. 9, n. 1, 2009.

SPARLING, D.; W. BICKHAM, J.; COWMAN, D.; FELLERS, G. M.; LACHER, T.; MATSON, C. V.; MCCONNELL, L. *In situ* effects of pesticides on amphibians in the Sierra Nevada. *Ecotoxicology*, v. 24, n. 2, p. 262-278, 2014. <<http://dx.doi.org/10.1007/s10646-014-1375-7>.

TOCANTINS. **Diagnóstico do uso de agroquímicos nas sub-bacias hidrográficas a montante do Parque Estadual do Cantão.** CAMPO - Cia de Promoção Agrícola - CPA. Brasília, 2002. 233p.

TOCANTINS. Secretaria do Planejamento - SEPLAN. **Planejamento estratégico do estado do Tocantins.** Palmas - Tocantins. 2010.

\_\_\_\_\_. Secretaria do Planejamento e Meio Ambiente - SEPLAN. **Atlas do Tocantins: subsídios ao planejamento da gestão territorial.** Palmas, 2012.

\_\_\_\_\_. Secretaria do Planejamento e Meio Ambiente - SEPLAN. **Pesquisa de fauna e flora e elaboração dos estudos das alterações da cobertura vegetal e da ocupação antrópica nas regiões central e leste do estado do Tocantins.** Estudo de Herpetofauna. Versão Preliminar. Palmas-Tocantins. 2006. Disponível em: <[http://www.gesto.to.gov.br/site\\_media/upload/gestao/documentos/Relatorio\\_Final.pdf](http://www.gesto.to.gov.br/site_media/upload/gestao/documentos/Relatorio_Final.pdf). Acesso em 23 out. 2018.

TOMÉ JR, J. B. Manual para interpretação de análise do solo. Guaíba: Agropecuária, 1997. 247p;

TOWNSEND, C. R.; BEGON, M.; HARPER, J. L. **Fundamentos em Ecologia.** Tradução Leandro da Silva Duarte. 3.ed. - Porto Alegre: Artmed, 576p. 2010.

TRIOLA, M. F. **Introdução à Estatística.** 7ª Edição. Editora LTC, Rio de Janeiro, 1999.

VALDUJO, P. H.; CAMACHO, A.; RECODER, R. S.; TEIXEIRA JUNIOR, M.; GHELLERE, J. M. B.; MOTT, T.; NUNES, P. M. S.; NOGUEIRA, C.; RODRIGUES, M. T. Anfíbios da Estação Ecológica Serra Geral do Tocantins, região do Jalapão, Estados do Tocantins e Bahia. *Biota Neotropica*, v. 11, n. 1, p. 251-261, 2011.

VALDUJO, P. H.; CARNAVAL, A. C. O.Q.; GRAHAM, C. H. Environmental correlates of anuran beta diversity in the Brazilian Cerrado. *Ecography*, v. 36, n.6, p. 708-717, 2013.

VITT, L. J.; CALDWELL, J. P.; COLLI, G. R.; GARDA, A.; MESQUITA, D. O.; FRANÇA, F. G. R.; SHEPARD, D. B.; COSTA, G. C.; VASCONCELLOS, M. M.;

SILVA, V. N. Uma atualização do guia fotográfico dos répteis e anfíbios da região do Jalapão no Cerrado brasileiro. **Special Publications in Herpetology Sam Noble Oklahoma Museum of Natural History**, v. 2, p. 1-24, 2005.

VON SPERLING, M. **Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos**. Editora UFMG, 1996.

WOLMARANS, N. J. **The relationship between organochlorine pesticide exposure and biomarker responses of amphibians in the lower Phongolo River flood plain**. 2015, 108f. Dissertation (Magister) - Campus of the North- West University, Potchefstroom, 2015.

WRIGHT, K. M.; WHITAKER, B. R. **Amphibian medicine and captive husbandry**. Krieger Publishing Company, 2001.

YOUNES, M.; GALAL-GORCHEV, H. Pesticides in drinking water—a case study. **Food and chemical toxicology**, v. 38, p. S87-S90, 2000.



## CAPÍTULO III

### INFLUÊNCIA DA MODIFICAÇÃO DA PAISAGEM NO NICHOSOTÓPICO DE ANUROS NA REGIÃO TROPICAL

## 1. INTRODUÇÃO

Os impactos das atividades antrópicas sobre os ecossistemas se referem a pelo menos três tipos de pressão: física (degradação ou perda de habitats), química (ação de contaminantes ambientais e poluição), e biológica (introdução de espécies exógenas, perturbação na cadeia trófica, eliminação de espécies-chave da comunidade ecológica) (Scariot et al., 2005).

A principal ameaça aos anfíbios, no Brasil e no mundo, é a destruição, degradação e fragmentação de habitats (Wagner et al., 2014; Sparling et al., 2014; Toledo et al., 2010; Hayes et al., 2010; Haddad, 2008). Diante do declínio global que os anfíbios vêm enfrentando nas últimas décadas (Attademo et al., 2014; Rossa-Feres et al., 2011; Agostini et al., 2013; Bernarde et al., 2008), é de fundamental importância compreender e quantificar os efeitos que modificações ambientais, como a mudança na cobertura e uso do solo, exercem sobre esses organismos, considerando suas diferentes fases de desenvolvimento e os diferentes habitats que ocupam ao longo do ciclo de vida (Borzée et al., 2018a; Huckembeck et al., 2018; Ribeiro et al., 2020; Silva et al., 2018; Vaz-Silva et al., 2020; Weltje et al., 2018).

Algumas características fisiológicas e ecológicas dos anfíbios os tornam particularmente, suscetíveis as modificações antrópicas, como a existência de uma fase larval aquática, a presença de pele permeável que auxilia nas trocas gasosas nos adultos, e os hábitos alimentares predadores na maioria das espécies quando adultas (Böll et al., 2013; Zocche et al., 2013). Essas características fazem com que esses animais apresentem sensibilidade às alterações tanto nos parâmetros físico-químicos da água como na estrutura da vegetação no entorno dos corpos de água (Rossa-Feres et al., 2011).

Embora os anfíbios sejam considerados mais vulneráveis ao estresse ambiental durante o desenvolvimento inicial do girino (Greulich & Pflugmacher, 2003; Bridges, 2000), os efeitos dessa exposição podem ter consequências no desenvolvimento posterior (Bridges, 2000; Orton & Routledge, 2011; Orton & Tyler, 2015). Isso pode incluir um tamanho menor na metamorfose, expondo os anfíbios juvenis a um risco aumentado de predação, ou atraso no desenvolvimento e na

metamorfose, o que pode significar que os lagos efêmeros sequecem antes que esta ocorra (Egea-Serrano et al., 2012; Hayes et al., 2006; Altwegg & Reyer, 2003).

A pele permeável à água, desempenha um papel vital na respiração e osmorregulação, sendo o primeiro órgão, de espécies de anfíbios, com o qual os contaminantes ambientais entram em contato. Os anfíbios, além do contato via pele, fornece uma rota de exposição significativa a produtos químicos também por ingestão, sendo proposto como bioindicador das modificações ambientais prejudiciais, alterações estruturais detectadas após a exposição a contaminantes ambientais (Haslam et al., 2014; Bernabò et al., 2013; Fenoglio et al., 2009) e os embriões e as larvas tornam-se mais suscetível a insumos químicos do que a dos adultos, devido à falta de células especializadas e muitas das enzimas desintoxicantes presentes nos adultos (Fenoglio et al., 2009).

Os anfíbios exercem papel importante sobre o fluxo de energia e nutrientes nos sistemas ecológicos, atuando no transporte de contaminantes pelas redes alimentares. Larvas de anfíbios acumulam as maiores concentrações da maioria dos oligoelementos, possivelmente devido à sua ecologia alimentar, para tanto, podem servir como um elo crítico para a sua transferência trófica, acarretando implicações significativas à saúde dos anfíbios em ambientes contaminados (Attademo et al., 2016; Sanchez et al., 2014; Peltzer et al., 2013, 2017; Unrine et al., 2007).

Além disso, os anfíbios podem migrar por áreas secas e pastadas, mas apenas por tempo e distâncias limitadas, dependendo da vegetação existente entre as manchas de habitat. À medida que, as populações de anfíbios declinam, até pequenas perturbações no ambiente podem afetar significativamente sua sobrevivência (Colombo & Pollet, 2015).

A água de lagoas deterioradas nos agroecossistemas afeta as larvas de anfíbios, reduzindo sua sobrevivência e interfere nos parâmetros biológicos (Marco & Blaustein, 1999; Peltzer et al., 2008; Peltzer et al., 2013). Impactos nos estágios iniciais do desenvolvimento podem provocar efeitos negativos e o recrutamento de metamorfos (Schmutzer et al., 2008; Burton et al., 2008), de modo que as populações e a estrutura das comunidades de anfíbios são afetadas (Gray et al., 2004). Assim, estudos que enfocam o efeito, de contaminantes presentes nos

corpos de água, sobre a saúde das larvas de anfíbios fornecem informações cruciais para a sua conservação (Ficken & Byrne, 2012) e constituem um sinal de alerta do nível de modificação de determinado ambiente (Agostini et al., 2013; Bionda et al., 2011; Borzée et al., 2018b; Lajmanovich et al., 2011; Rocha, 2011).

Anfíbios, tanto na fase larval quanto adultos, se mostraram suscetíveis a nitrato. O composto proveniente de fertilizantes nitrogenados, a substância em concentrações de 3 mg/ l, abaixo do que é preconizado pelo Conselho Nacional do Meio Ambiente - Conama, para águas de consumo humano, ou seja, 10 mg/ l (Conama, 2008), sendo capaz de provocar impactos subletais em girinos durante exposições de curta duração (96 horas), desenvolvendo anormalidades físicas e comportamentais. O estresse causado por nitratos durante a fase larval (Gosner, 1960), desses organismos pode diminuir a resposta imune, a hemoglobina no sangue, os níveis de glóbulos brancos circulantes e gerar hemoglobinas reduzidas. Esses efeitos acarretam redução da alimentação e da mobilidade (natação), resultando em severa perda de peso e alta mortalidade dos indivíduos. Outras alterações, comprovadas durante o desenvolvimento, são: curvatura da cauda, edema e abaulamento do corpo, deformidades da cabeça e do sistema digestório. A magnitude desses efeitos está proporcionalmente, relacionada com o aumento das concentrações de nitrato. Em adultos, poucos ainda, são os estudos, que apresentam sinais clínicos de toxicidade aguda em anfíbios ao migrarem sobre campos recentemente fertilizados (Rouse et al., 1999).

A exposição a concentrações subletais de nitrito na água induz a mudanças comportamentais e morfológicas. Os girinos expostos a baixos níveis de nitrito metamorfoseiam mais lentamente e na tentativa de obter mais oxigênio, ocupam águas rasas com mais frequência (Rouse et al., 1999). Além disso, com o desenvolvimento retardado, emergem em um estágio inicial de desenvolvimento. Sendo a metamorfose dos anfíbios um período de reorganização morfológica drástica, durante o qual há redução de sua capacidade locomotora, se tornam mais vulneráveis à predação (Marco & Blaustein, 1999). Por outro lado, os adultos têm uma população mais diversificada de bactérias intestinais e são capazes de reduzir efetivamente a quantidade de nitrito disponível (Rouse et al., 1999).

Além das condições ambientais sazonais e da disponibilidade de alimentos, as dietas dos anfíbios anuros podem ser influenciadas pelas suas restrições morfológicas, que por sua vez são provocadas pelas alterações quanto ao uso de microhabitat e nas interações competitivas (Huckembeck et al., 2018).

As concentrações de nitrato nas águas superficiais de áreas agrícolas, na América do Norte, excedem os níveis críticos de toxicidade para os anfíbios, durante períodos sensíveis do desenvolvimento de anuros, como o embrião e larval (Gosner, 1960). Considerando que, pequenos lagos e valas representam grande parte do habitat de anfíbios disponíveis nas áreas agrícolas, a qualidade da água pode afetar diretamente os anfíbios (Ribeiro et al., 2017; Costa et al., 2017; Pauliet al., 1999).

Isto pode ser especialmente, danoso quando do uso de insumos agrícolas (fertilizantes e pesticidas) em culturas próximas às nascentes dos rios ou na construção de pequenas barragens e açudes para a agricultura e pecuária. Além disso, a perda e fragmentação da floresta também podem levar a um empobrecimento da estrutura e da diversidade da vegetação, afetando direta e indiretamente as populações de anfíbios, ocasionando alterações na qualidade das bordas da vegetação, mudanças na exposição aos ventos e ao sol e diminuição da umidade (Dutra & Ferreira, 2017; Moreira, 2017; Silvano & Segalla, 2005).

Dentre as espécies de anfíbios que ocorrem no Cerrado, mais de 50% delas são endêmicas (Valdujo et al., 2012). Desde o final dos anos 80, a perda de habitat e a contaminação química podem ser considerados dois dos principais vetores de degradação de paisagens agrícolas (Brandão et al., 2011; Margarido, 2011; Steffani et al., 2013). Estudos em área de Cerrado apontam que o desempenho de organismos como girinos varia significativamente devido a intensidade de uso da terra, conforme exemplificado por Negri (2015), em estudos realizados na nascente do rio Xingu observou que a sobrevivência, o crescimento e o desenvolvimento de girinos foram mais favoráveis nas condições ambientais das poças localizadas em pastagens do que em poças de Cerrado.

Características que se tornam ainda mais preocupantes quando consideramos que o Cerrado propriamente dito é um dos biomas mais ameaçados e menos protegido (Brasil, 2010), no território brasileiro. A destruição de habitats

dos anfíbios no Cerrado está relacionada principalmente, a velocidade da ocupação humana (Scariot et al., 2005) e as consequências provocadas pelo desmatamento, expansão da agricultura, mineração, incêndios e desenvolvimento de infraestrutura (Valdujo et al., 2012; Silvano & Segalla, 2005).

O uso de isótopos estáveis é particularmente útil em estudos sobre o movimento e o uso de recursos em animais e de redes tróficas, pois esses elementos circulam de uma maneira previsível entre compartimentos ambientais dos ecossistemas (Martinelli et al., 2010). Através das composições isotópicas de um consumidor e de seus recursos alimentares, se torna possível traçar os movimentos entre ambientes, a importância de diferentes recursos alimentares e de recursos hídricos e a posição trófica dos consumidores (Kupfer et al., 2006; Semlitsch, 2008; Mckechnie, 2004).

A dieta em anfíbios é influenciada por diferentes fatores determinantes para a composição alimentar, que podem estar relacionados ao próprio indivíduo bem como ao tamanho do corpo, formato do esqueleto, largura da mandíbula e fisiologia ou ainda às condições climáticas (como, por exemplo, sazonalidade) que definem a disponibilidade desses recursos alimentares (Grayson et al., 2005; Silva et al., 2018).

Para a reconstrução de dieta animal, a partir de isótopos estáveis não requerem observações comportamentais demoradas e fornecem informações sobre o material assimilado. Além disso, como as taxas de rotatividade dos tecidos diferem, os isótopos estáveis podem ser usados para reconstruir dietas sobre escalas de tempo variando de anos (em colágeno e ossos) a semanas e dias (no fígado e plasma sanguíneo). Os modelos mistos podem se tornar biologicamente, realistas quando contabilizadas múltiplas fontes de alimentos, dependência de concentração, variação na eficiência de assimilação, composição elementar e roteamento isotópico (Mckechnie, 2004).

Nesse sentido, as reconstruções da dieta por meio de isótopos estáveis têm aproveitado a variação isotópica de carbono associada com diferentes caminhos fotossintéticos para distinguir entre nutrientes de árvores e arbustos de ciclo fotossintético C3 e pastagens e gramíneas de ciclo C4. Os isótopos de nitrogênio também têm sido empregados com sucesso para determinar o nível trófico e reconstruir a dieta animal (Mckechnie, 2004). Assim, dados isotópicos de

$\delta^{13}\text{C}$  e  $\delta^{15}\text{N}$  podem ser representados num espaço bivariado, de forma análoga ao nicho n-dimensional proposto por (Hutchinson, 1957), formando um  $\delta$  espacial. As áreas dos polígonos ou das elipses formadas pelas composições isotópicas de uma espécie nesse  $\delta$  espaço pode ser definida então como os seus nichos isotópicos (Cloyed & Eason, 2017; Cloyed et al., 2015).

Assim, o presente estudo teve como objetivo geral determinar e comparar o nicho isotópico de girinos e anuros adultos entre ambientes antropizados e naturais. Neste contexto, buscou-se: i. Determinar e comparar as amplitudes de nicho isotópico de anuros em ambiente natural, de pastagem e agrícola; ii. Verificar a existência de sobreposição de nicho isotópico dos anuros entre os ambientes natural, de pastagem e agrícola. iii. Relacionar a composição isotópica dos anuros a outros compartimentos ambientais amostrados (vegetação, sedimento e invertebrados) nos três locais de estudo.

Nesse contexto, os estudos foram conduzidos sob hipóteses: os anuros, tanto na fase larval quanto adultos, apresentariam menor amplitude de nicho isotópico no local de pastagem, amplitude intermediária em agrícolas e maior amplitude em local natural; quanto a sobreposição dos nichos isotópicos dos anuros apresentariam pouca sobreposição, principalmente devido a sua relação com os recursos basais dos três locais e a influência de fertilizantes nas áreas agrícolas. Nas áreas de pastagem haveria maior influência de recursos oriundo de plantas do ciclo fotossintético C4 em relação ao natural e agrícola. Por outro lado, haveria enriquecimento de nitrogênio nos recursos alimentares e nos consumidores do local agrícola do que em pastagem e natural, devido aos fertilizantes (compostos nitrogenados) utilizados nas áreas agrícolas.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1. Área de estudo

O estudo foi realizado no município de Formoso do Araguaia, na região do Projeto de Irrigação Formoso. Na área de abrangência do município foram demarcadas cinco áreas (em poças de água ou no seu entorno), e coletadas amostras de vegetação, sedimentos, invertebrados e anuros (girinos e adultos). Além da área foco do estudo, com predomínio do cultivo agrícola de arroz irrigado por inundação e soja (agrícola 1 - C1), praticado anualmente, mais quatro áreas foram demarcadas sendo: mista composta de arroz e soja com pastagem (agrícola 2 - C2); com pastagem (pastagem - R3), e duas referências, no domínio Cerrado (Cerrado - R1); e a outra localizada na transição entre Cerrado e Floresta Amazônica (ecótono - R2). As cinco áreas demarcadas são caracterizadas como:

Área Agrícola 1 (C1): situada as coordenadas geográficas 11°48'1,6" S e 049°37'12,8" W, sob influência de área agrícola do "Projeto Formoso", no município de Formoso do Araguaia, estado do Tocantins. Predomina o plantio de arroz e soja, anualmente. No entorno das glebas de arroz estão os canais de irrigação, onde é comum regeneração da vegetação natural de florestas. Todos os canais de irrigação passam por revitalização, momento no qual a vegetação natural é totalmente removida com produtos químicos e maquinários, a fim de evitar interferências na produção, prevalecendo um campo uniforme de arroz. As coletas de anuros coincidiram com o plantio de arroz irrigado por inundação (janeiro de 2016), representado como local composto somente por gramíneas.

Área Agrícola 2 (C2): situada as coordenadas geográficas 11°46'46,6" S e 049° 53'18,7" W, na divisa do Projeto Agrícola Formoso, em confluência com propriedade rural privada. Nesta propriedade predomina atividade intensiva de pecuária, com solo coberto por pastagem plantada, capim do tipo *Brachiaria decumbens*, entretanto, na área como um todo predomina o cultivo de arroz.

Área de Cerrado (R1): situada as coordenadas geográficas 12° 00' 37,6" S e 049° 40' 08,4" W, distando 35 quilômetros da zona urbana do município de Formoso do Araguaia – TO. Caracteriza-se pela presença de árvores, arbustos e gramíneas, apresentando um ambiente em bom estado de conservação.



Área de Ecótono (R2): situada às coordenadas geográficas 11°47'34,3" S e 049°45'50,1" W, nas proximidades do Parque Nacional do Araguaia, onde se localiza a Ilha do Bananal. Possui representatividade de vegetação de portes diversos, desde gramíneas e ervas até arbustos e árvores, transição de Cerrado e Floresta Amazônica.

Área de Pastagem (R3): situada as coordenadas geográficas 11°46'37,8" S e 049°51'13,1" W, é considerado uma das paisagens mais abundantes no estado do Tocantins. Apresenta predomínio de gramíneas, porém com algumas árvores não são cortadas (espécies protegidas por lei) e outras plantas se desenvolvem. Anualmente, é feita a limpeza do terreno, com produtos químicos ou mecanizada (Bertoni & Lombardi Neto, 2005). As poças localizadas nesta área eram de três tipos: i) Formadas pela irregularidade do terreno e abastecida com água das chuvas, originando poças; ii) Canal às margens de estrada para trânsito de veículos até às propriedades rurais; iii) Contenção hídrica, preparadas em meio à pastagem, para dessedentação animal.

Para o estudo isotópico, todas as amostras coletadas nessas cinco áreas demarcadas foram agrupadas em três ambientes de acordo com a matriz de uso do solo: Natural (R1 + R2), Agrícola (C1 + C2) e Pastagem (R3).

## **2.2. Coleta e processamento das amostras**

### **2.2.1. Sedimento**

As amostras de 500 gramas compostas de sedimentos coletadas em poças (interior e borda) das áreas de estudo, em profundidade de 0 a 20 centímetros no perfil do solo. O material coletado foi armazenado em sacos plásticos, etiquetado (data, local, destino) e congelado.

### **2.2.2. Vegetação**

Nos pontos estudados ocorreram amostragens da vegetação de cobertura do solo a fim de identificar as espécies que circundam os habitats de anfíbios, verificar a composição isotópica (isótopos estáveis de carbono e nitrogênio) e a situação comparativa entre os diversos pontos de estudo, assim como correlacionar

com as espécies de anuros encontradas em cada local e características físico-químicas da água e do solo, quando possível.

As coletas de amostras de vegetação foram realizadas em janeiro de 2016, (período chuvoso), época de reprodução dos anfíbios, e quando foi possível amostrar maior quantidade de material vegetal, em função da ausência de queimadas e germinação da flora. Imediatamente, após a coleta desse material, as espécies foram classificadas *in locu* em: gramíneas, ervas, arbustos ou subarbustos, árvores e lianas.

Amostras de vegetação de pequeno, médio e grande porte, arbustos e gramíneas foram coletadas no entorno das poças de onde foram coletados girinos. As poças onde foram capturados anuros (desovas, girinos, juvenis e adultos), foram adotadas como padrão de local de coletas, e as amostragens de vegetação foram feitas num raio de 100 metros no entorno de cada um desses locais. As folhas foram recolhidas nos estratos inferiores e laterais das copas de arbustos; raízes, flores, sementes e frutos também foram coletados, totalizando 61 (sessenta e uma) amostras, nos cinco ambientes estudados. A fim de facilitar a posterior identificação.

### 2.2.3. Invertebrados e anuros (girinos e adultos)

A busca por artrópodes e girinos foi realizada durante o período diurno, percorrendo-se poças temporárias e permanentes e os indivíduos adultos através de busca ativa no período noturno. As amostras foram armazenadas em *ependorf* identificados mantidos congelados até seu processamento.

As amostras de tecido animal passaram inicialmente pela etapa de extração de lipídeos, conforme o Procedimento Operacional Padrão (POP) do Laboratório de Ecologia Isotópica (LEI) do Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA) – Universidade de São Paulo (USP), desenvolvido por Fisher & Fracassi (Dados não publicados), de maneira a evitar a influência de diferentes concentrações de gordura sobre as composições isotópicas finais.

Todas as amostras coletadas foram encaminhadas ao Laboratório de Ecologia Isotópica do Centro de Energia Nuclear da USP, onde foram secas em estufa a 50°C por aproximadamente 48 horas, até atingir massa constante. Em

seguida foram fragmentadas ou maceradas ao menor tamanho possível e pesadas em cápsulas de estanho até atingir uma massa entre 0,8 e 1,0 mg. As composições isotópicas de carbono e nitrogênio foram determinadas pela combustão “on-line” da amostra em um analisador elementar Carlo Erba (CHN-1110) acoplado a um espectrômetro de massas *Finnigan Delta Plus*, utilizando a metodologia CF-IRMS (Continuous Flow – Isotope Ratio Mass Spectrometers). O padrão interno secundário foi o *sugarcane*, previamente comparado ao *PDB* e *Vismow*, padrões internacionais. O erro analítico foi de 2% para concentrações e de 0,2‰ para as análises isotópicas.

O cálculo da composição isotópica do carbono e nitrogênio foi feito por meio da equação:

$$\delta C^{13} \text{ ou } \delta^{15} N = \left( \frac{R_{amostra} - R_{padrão}}{R_{padrão}} \right) * 1000$$

onde R é a razão molar C<sup>13</sup>/C<sup>12</sup> ou N<sup>15</sup>/N<sup>14</sup> na amostra e no padrão, sendo os resultados representados em delta (δ) por mil (‰).

## 2.3. Análises estatísticas

### 2.3.1. Vegetação e Sedimento

A caracterização da dinâmica da cobertura e uso do solo da área de estudo se faz de fundamental importância quando se pretende estudar os efeitos provocados por estressores ambientais a uma determinada população, neste caso, anfíbios. Nesse sentido, as áreas foram caracterizadas quanto a sua diversidade fitofisionômica e isotópica, de maneira a descrever a base da cadeia trófica das diferentes áreas utilizadas pelos anfíbios. Regressões lineares foram construídas para testar a relação entre tipo de sedimento e vegetação presente e os seus valores de δ<sup>13</sup>C e de δ<sup>15</sup>N, e análises da normalidade das variáveis dependentes e dos resíduos também foram realizadas, todas no R (Team, 2012).

### 2.3.2. Invertebrados e anuros (girinos e adultos)

Os dois grupos foram caracterizados quanto a riqueza de espécies, gêneros, famílias ou ordens presentes em cada uma das áreas. Os anuros adultos foram comparados entre as diferentes áreas quanto a abundância dos indivíduos amostrados. Regressões lineares foram construídas para testar a relação entre tamanho (comprimento rostro-cloacal) dos anuros adultos e os seus valores de  $\delta^{13}\text{C}$  e de  $\delta^{15}\text{N}$ , e análises da normalidade das variáveis dependentes e dos resíduos também foram realizadas, todas no R (Team, 2012).

### 2.3.3. Análises de métricas isotópicas e análises estatísticas

Aspectos da estrutura trófica dos girinos e anuros nos três ambientes foram determinados por meio de métricas quantitativas relacionadas a posição dos dados no espaço bidimensional  $\delta^{15}\text{N} - \delta^{13}\text{C}$  (Layman et al., 2011). Os indivíduos são representados por pontos nesse espaço bidimensional, que em conjunto formam uma nuvem da qual é possível determinar tais relações tróficas.

As métricas calculadas consistiram na amplitude e sobreposição do nicho isotópico. A amplitude de nicho isotópico foi determinada por meio da elipse padrão bayesiana - SEAB (Jackson et al., 2011). A forma e o tamanho das elipses foram estimados a partir da matriz de covariância dos dados isotópicos. Esse cálculo considera apenas 40% dos dados dispostos mais centralmente, evitando assim efeito de valores extremos. As áreas das elipses estimadas são análogas às amplitudes de nicho isotópico. A simulação de Monte Carlo via cadeia de *Markov* (Markov chain Monte Carlo – MCMC) foi utilizada para gerar as distribuições posteriori. Essas consistiram em três cadeias de *Markov*, com 10000 iterações, mais 1000 iterações de adaptação. No entanto, apenas os resultados de uma a cada cinco iterações foram considerados, totalizando um número efetivo de 6000 iterações. A sobreposição de nicho isotópico avaliada graficamente, levando-se em conta as sobreposições das áreas das elipses padrão corrigidas - SEAC (Jackson et al., 2011). A sobreposição das SEAC é estimada a partir da sua localização no espaço bidimensional  $\delta^{15}\text{N} - \delta^{13}\text{C}$ . A forma e o tamanho das SEAC são estimados de forma análoga aos da SEAB. As análises de amplitude e de sobreposição de

nicho isotópico foram realizadas no pacote *Stable Isotope Bayesian Ellipses in R* (Siber - Jackson et al., 2011) do programa R (Team, 2012).

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1. Vegetação

Os valores (média e desvio padrão) registrados para  $\delta^{15}\text{N}$  e  $\delta^{13}\text{C}$ , respectivamente variou de (‰): Natural =  $(3,13 \pm 2,64)$  e  $(-29,56 \pm 3,04)$ ; Pastagem =  $(4,99 \pm 2,03)$  e  $(-25,92 \pm 6,57)$ ; Agrícola =  $(3,95 \pm 2,18)$  e  $(-25,02 \pm 7,38)$ . Entre os três locais de estudo não foram observadas diferenciações isotópicas de  $\delta^{15}\text{N}$  e de  $\delta^{13}\text{C}$ . No entanto, independente do ambiente considerado, observa-se variação entre os grupos florísticos (Figura 3.1).

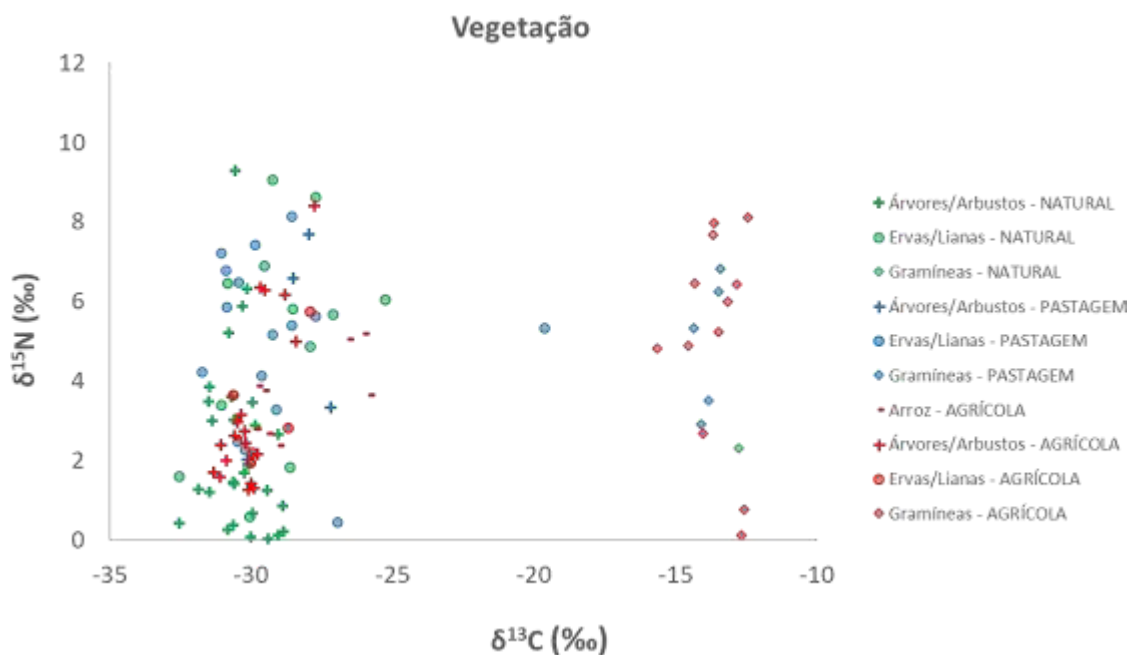


Figura 3.1: Valores Médios de  $\delta^{13}\text{C}$  e  $\delta^{15}\text{N}$  medidos em ‰ na vegetação dos três locais (Natural, Agrícola e Pastagem), Formoso do Araguaia, estado do Tocantins, Brasil.

A vegetação tropical coletada (74 amostras), em Formoso do Araguaia, contemplou 29 famílias, sendo identificada por local: no C1 (1 família), C2 - misto (32 famílias), R1 (28 famílias), R2 (4 famílias), R3 (8 famílias). Os locais com maior diversidade de famílias da vegetação são: o C2 (Misto de arroz/ soja com

pastagem) e o R1 = (Cerrado). Observamos com o agrupamento dos dados por ambiente propostos (Natural, Agrícola e Pastagem), implica no C1 (local que apresenta menor quantidade (uma) após unificado ao C2 passa a ser considerado um local com elevada diversidade, já o C2 está representado por 32 famílias da flora. Os três ambientes então passariam a apresentar Natural (14 famílias), Agrícola (14 famílias) e Pastagem (8 famílias). A presença de pastagem influencia na diversidade da flora de ambiente agrícola local agrícola puramente (com uma família), Pastagem puramente (8 famílias) e misto agrícola com pastagem esse número sobe para 32 famílias.

No que se refere a diversidade fitofisionômica Gama et al. (2018) identificaram 27 famílias da flora em fragmento florestal de Cerrado *sensu stricto* na região do Formoso do Araguaia e em área agrícola identificaram oito espécies destacando-se as famílias Poaceae e Cyperaceae (popularmente conhecidas como capins, gramas ou relvas). Além de gramíneas, registrou-se outras espécies como ervas daninhas (como são denominadas aquelas espécies da flora indesejáveis em cultivos agrícolas). Ressalta-se que tanto Poaceae quanto Cyperaceae foram registradas no ambiente Agrícola neste estudo.

A partir de registros científicos e técnicos, em torno de 43,51% da área do território tocantinense está destinada a práticas agropecuárias, 2,11% a culturas temporárias e 41,9% coberto por vegetação de domínio Cerrado. A vegetação natural do Tocantins gradativamente, tem sido substituída por cultivos agrícolas (19% da área existente, cerca de um milhão e novecentos mil hectares de Cerrado *stricto sensu* em 1990 a 2007). Também existem registros de incremento na agropecuária de aproximadamente 3 milhões de hectares, correspondente a 37% de aumento no uso do solo (Quirino et al., 2017; Souza & Matricardi, 2011; Santana et al., 2011; Brasil, 2007, 2009; Marcuzzo et al., 2011; Silva & Almeida, 2007; Souza & Matricardi, 2011; Alho, 2005).

A maior diversidade observada pode estar relacionada a presença de espécies arbustivas e arbóreas, não consideradas em estratos vegetacionais. A bacia do rio Formoso situa-se uma região de transição entre Cerrado-Floresta Estacional, onde a fitofisionomia natural se caracteriza tanto por formações campestres entremeadas por arvorestas como por porções florestadas de Savana Arbóreo Densa (Tocantins, 2012).

Ao comparar com dados da literatura científica observa-se que a composição isotópica registrada passa por substituição de matriz de uso e ocupação solo, em Formoso do Araguaia. No entanto, a quantidade irregular de amostras da vegetação coletadas, devido principalmente à composição fitofisionômica diversificada existente em cada uso do solo (Natural, Pastagem e Agrícola) dificulta diferenciar isotopicamente, os três ambientes de estudo.

O local Natural, configurado por duas áreas, sendo uma com vegetação de domínio Cerrado e a outra com vegetação de ecótono (transição entre Cerrado e Floresta Amazônica). Ambos são caracterizados por um mosaico de diferentes estratos florísticos (Tocantins, 2012; Higuchi & Higuchi, 2012; Tocantins, 2004; Santos, 2000), compostos por espécies que apresentam diferentes ciclos fotossintéticos (C3 e C4), e conseqüentemente diferentes valores de  $\delta^{13}\text{C}$ . Conforme Asner et al. (2015) e Newsome et al. (2007), as mudanças dos traçadores químicos são refletidos na paisagem como por exemplo, no dossel da floresta amazônica, portanto deverão ser refletidas as alterações de locais que tem padrões geográficos com assinaturas isotópicas específicas e previsíveis.

Para os locais de Pastagem e Agrícola observa-se padrão isotópico semelhante, com predomínio de gramíneas (ciclo fotossintético C4) para Pastagem. Porém plantas do ciclo C3 foram localizadas de forma pulverizadas (de algumas árvores e arbustos). A presença de bovinocultura (confirmada *in loco*), pode acarretar mistura de valores isotópicos de  $\delta^{13}\text{C}$ , conforme observado.

No local Agrícola, as culturas de arroz e soja, ambas refletem sinais isotópicos característicos C3. A semelhança entre os ambientes (Pastagem e Agrícola) são explicadas pela comum presença de gramíneas, registradas em meio ao cultivo agrícola de arroz/ soja, refletindo assinatura isotópica interindividual de plantas do ciclo C4. O grau de especialização e generalização em indivíduos e populações pode informar problemas tão diversos quanto a evolução do uso de recursos (Bolnick et al., 2013), neste caso a presença de gramíneas se deve à elevada fertilidade do solo dessa região (Biofísica, 2010; Ferraz et al., 2015),

novamente acarretando uma mistura de valores de  $\delta^{13}\text{C}$ , tornando os ambientes de pastagem agrícola isotopicamente semelhantes.

### 3.2. Sedimento

Os valores (média e desvio padrão) registrados para  $\delta^{15}\text{N}$  e  $\delta^{13}\text{C}$ , respectivamente variou de (‰): Natural =  $(4,35 \pm 1,50)$  e  $(-26,05 \pm 1,88)$ ; Pastagem =  $(5,67 \pm 2,00)$  e  $(-13,53 \pm 1,82)$ ; Agrícola =  $(4,45 \pm 1,21)$  e  $(-24,36 \pm 3,42)$ . A composição isotópica apresentou-se mais elevada no Natural ( $-26,0\text{‰}$ ) e no Agrícola ( $-25,8\text{‰}$ ) do que no ambiente Pastagem  $\delta^{13}\text{C}$  ( $-13,5\text{‰}$ ). Quanto ao valor de  $\delta^{15}\text{N}$  em Pastagem registrou-se mais baixo ( $3,5\text{‰}$ ), do que Agrícola ( $4,4\text{‰}$ ) e Natural ( $5,5\text{‰}$ ) (Figura 3.2). No que diz respeito ao sedimento analisado partiu de amostra do material no fundo dos corpos de água integrado por local de estudo. Os sedimentos são compostos, dentre outros materiais, por detritos da vegetação do entorno de corpos de água (Aravena et al., 1992; Aichner et al., 2010) pelo que se esperava uma relação entre os valores isotópicos desses dois compartimentos ambientais.

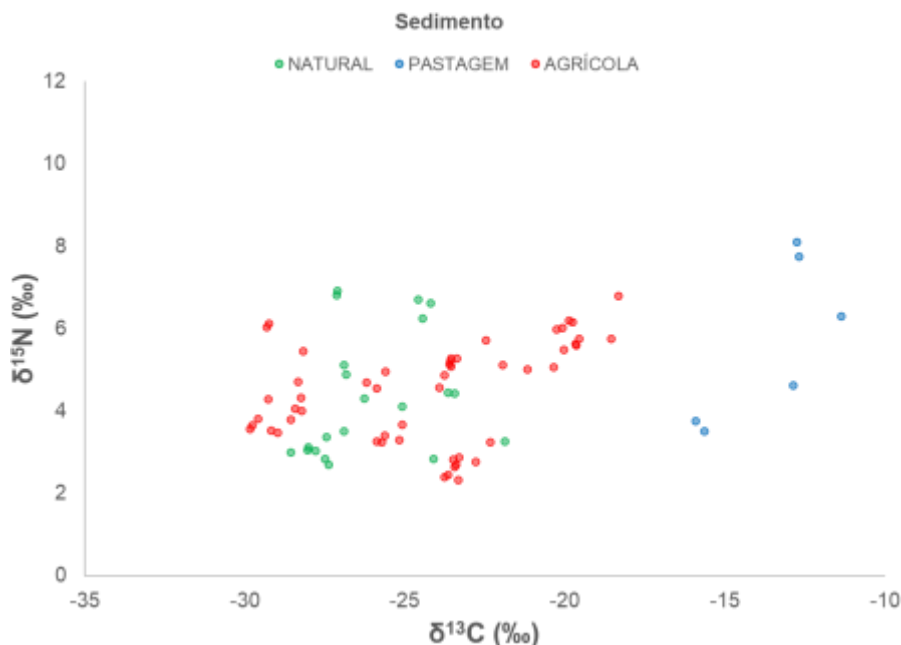


Figura 3.2: Valores Médios de  $\delta^{13}\text{C}$  e  $\delta^{15}\text{N}$  medidos em ‰ no sedimento dos três locais (Natural, Agrícola e Pastagem), Formoso do Araguaia, estado do Tocantins, Brasil.



O  $\delta^{13}\text{C}$  de - 13,5 ‰ se deve praticamente a detritos oriundos de gramíneas C4 do local de Pastagem, coerente com a maior abundância desse grupo florístico nesse solo. Por outro lado, os valores refletidos no Natural e no Agrícola (- 26 ‰ e - 25,8 ‰, respectivamente), evidenciam a influência de material tanto de origem de plantas C4 quanto de C3, mas com maior proporção de C3, condizente com o esperado e observado nesses usos do solo. Os resultados podem ser influenciados também pelo tamanho e profundidade dos locais com sedimentos (Muradás, 2012). No entanto, em ambiente natural no Tocantins Miranda (2016) relatou valores de gramíneas compreendidos entre (-11,96 a -16,67 ‰) para  $\delta^{13}\text{C}$  e de (3,63 a 4,36‰) para  $\delta^{15}\text{N}$ ; e em área de agrícola variou de (-11,54 a -12,49 ‰) para  $\delta^{13}\text{C}$  e de (4,65 a 10,37‰) para  $\delta^{15}\text{N}$ .

Corpos de água localizados em áreas do domínio Cerrado podem apresentar gramíneas (nas suas margens e no seu interior). Isso ocorre porque dependendo da área e do perímetro desses ambientes aquáticos, não desenvolvem vegetação marginais (arbórea ou arbustiva) fechadas, aumentando a incidência de luz solar, beneficiando o desenvolvimento de gramíneas. Portanto, a depender do tamanho do corpo da água e das espécies de girinos presentes nos locais analisados por este estudo, a escala local (espécies vegetais presentes nesses corpos de água e no seu entorno) pode ser mais representativa para a composição isotópica dos organismos do que a escala regional (matriz de uso do solo no qual o corpo de água está inserido).

### 3.3. Invertebrados

Os valores (média e desvio padrão) registrados para  $\delta^{15}\text{N}$  e  $\delta^{13}\text{C}$ , respectivamente variou de (‰): em Natural = (6,99 ± 1,21) e (- 24,54 ± 2,70); Pastagem = (6,08 ± 2,16) e (- 16,37 ± 1,14); Agrícola = (5,99 ± 2,09) e (- 24,25 ± 3,28). Os valores isotópicos de invertebrados mantiveram o padrão registrado para o sedimento. Em Pastagem foi marcado por isótopo de Carbono menor do que nos outros dois locais de uso do solo, enquanto o  $\delta^{15}\text{N}$  não apresentou variação (Figura 3.3). Ao todo foram amostrados 72 invertebrados identificados por artrópodes, distribuídos em 11 grupos taxonômicos, correspondendo à oito grupos no Natural,

oito no Agrícola e sete em Pastagem, conforme apresentados no Capítulo II desta Tese.

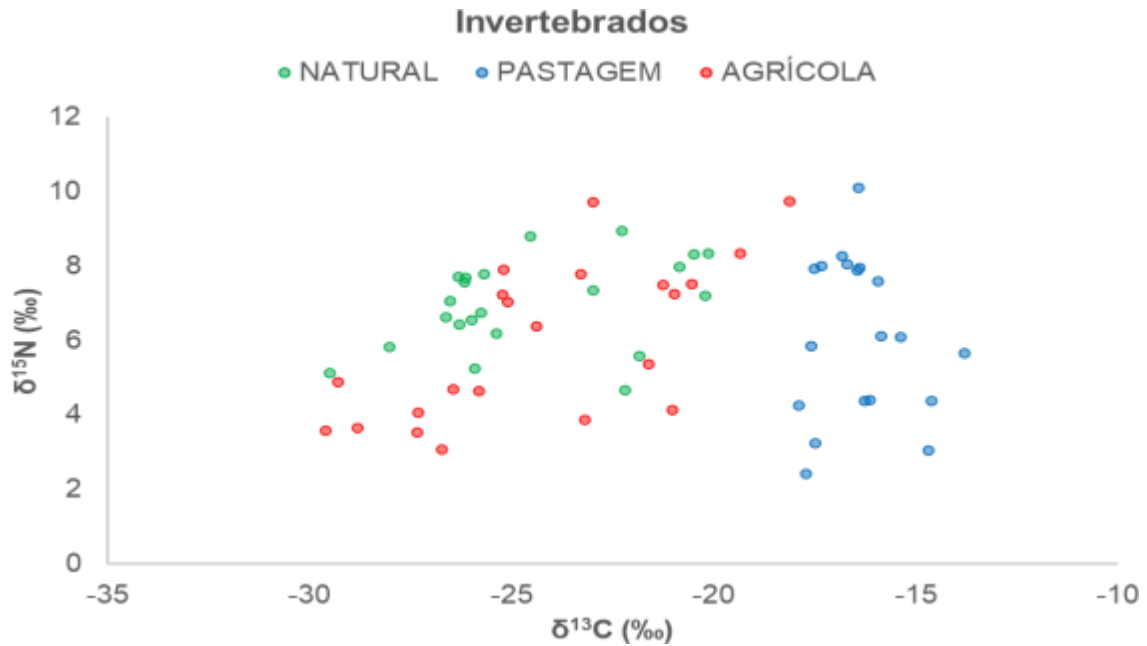


Figura 3.3: Valores Médios de  $\delta^{13}\text{C}$  e  $\delta^{15}\text{N}$  medidos em ‰ nos invertebrados (artrópodes) dos três locais (Natural, Agrícola e Pastagem), Formoso do Araguaia, estado do Tocantins, Brasil.

Os invertebrados estão representados por artrópodes (um conjunto de consumidores de diferentes níveis tróficos) e que consomem recursos diferentes, assim como indica as amplitudes dos valores isotópicos registrados. Portanto, os valores isotópicos dos invertebrados dessa região refletem de maneira mais fidedigna as abundâncias dos recursos basais presentes em cada um dos locais deste estudo. Tanto o sedimento como os artrópodes são mais representativos das abundâncias dos grupos florísticos, enquanto a vegetação analisada é mais representativa da diversidade desses grupos e dos seus valores isotópicos.

### 3.4. Anfíbios anuros

#### 3.4.1. Girinos

Os valores (média e desvio padrão) registrados para  $\delta^{15}\text{N}$  e  $\delta^{13}\text{C}$ , respectivamente variou de (‰): Natural =  $(5,54 \pm 2,54)$  e  $(-17,88 \pm 2,59)$ ; Pastagem

=  $(6,76 \pm 2,44)$  e  $(-18,13 \pm 2,53)$ ; Agrícola =  $(4,69 \pm 1,49)$  e  $(-24,92 \pm 4,43)$ . Sendo assim, a composição isotópica dos girinos do local Agrícola apresentou relação com os dados de isótopos ( $\delta^{15}\text{N}$  e  $\delta^{13}\text{C}$ ) do sedimento. E no Natural essa relação isotópica entre os girinos e o sedimento não foi observada a partir dos  $\delta^{15}\text{N}$  e  $\delta^{13}\text{C}$  (Figura 3.4).

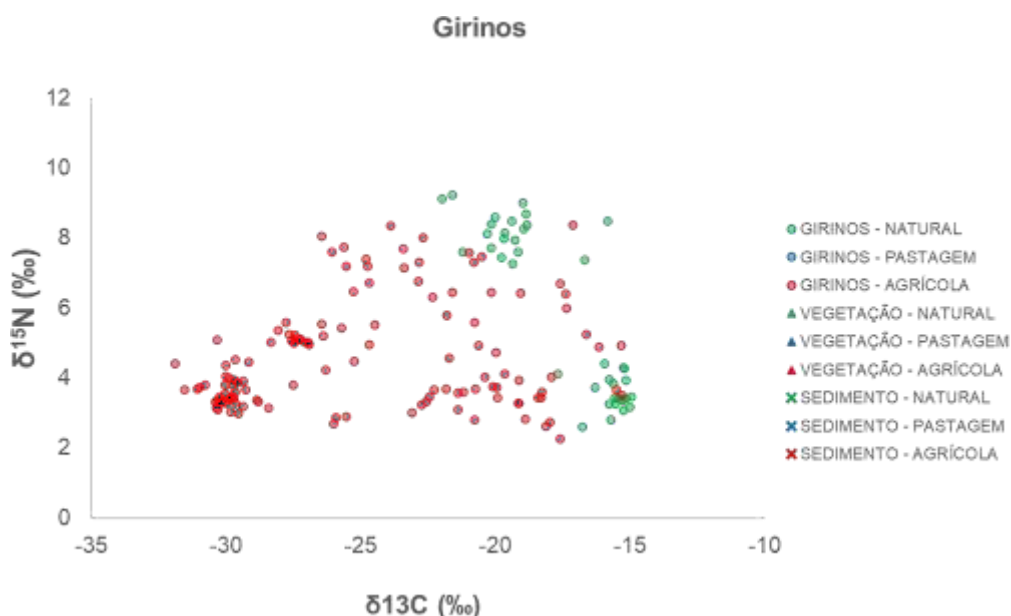


Figura 3.4: Valores Médios de  $\delta^{13}\text{C}$  e  $\delta^{15}\text{N}$  medidos em  $\delta$  ‰ nos girinos dos três locais (Natural, Agrícola e Pastagem), Formoso do Araguaia, estado do Tocantins, Brasil.

A amostra total analisada foi de 175 girinos dos três locais (Natural, Agrícola e Pastagem). No Pastagem, apenas 6 girinos foram localizados, portanto não foi possível obter relação das médias de valores isotópicos de  $\delta^{15}\text{N}$  e de  $\delta^{13}\text{C}$ , prejudicando análises mais conclusivas para este local. No Agrícola apresentou maior abundância de estágios larvais em desenvolvimento (com 124 girinos) e o Natural com 45 girinos.

As gramíneas registradas podem contribuir com o material particulado dissolvido na água, ou servirem como substrato para microrganismos e algas se estabelecerem, ou seja, todos recursos alimentares que podem ser consumidos pelos girinos, dependendo dos seus hábitos alimentares. Em geral, os girinos se alimentam principalmente de material suspenso na água, depositado no fundo dos corpos de água, ou do biofilme que cresce nos substratos disponíveis (Alford & Richards, 1999). Sendo assim, esperava-se uma relação entre esses organismos e os sedimentos amostrados no fundo dos corpos de água, entretanto, nem todas os

locais analisados demonstram essa relação. A ausência de relação entre girinose sedimento no uso de solo Natural pode estar relacionada a presença de gramíneas nas margens e interior dos corpos de água.

Os nichos isotópicos dos girinos dos ambientes Natural e de Pastagem apresentam alto grau de sobreposição. Os girinos apresentaram maior amplitude de nicho isotópico no Agrícola, com área média da elipse *bayesiana* padrão de 20,12 (14,76 - 148,60) ‰, completamente distintos do Natural, com 16,04 (9,36 - 115,20) ‰, e o nicho isotópico mais restrito foi em Pastagem de 13,80 (3,38 - 211,60) ‰ (Figura 3.5).

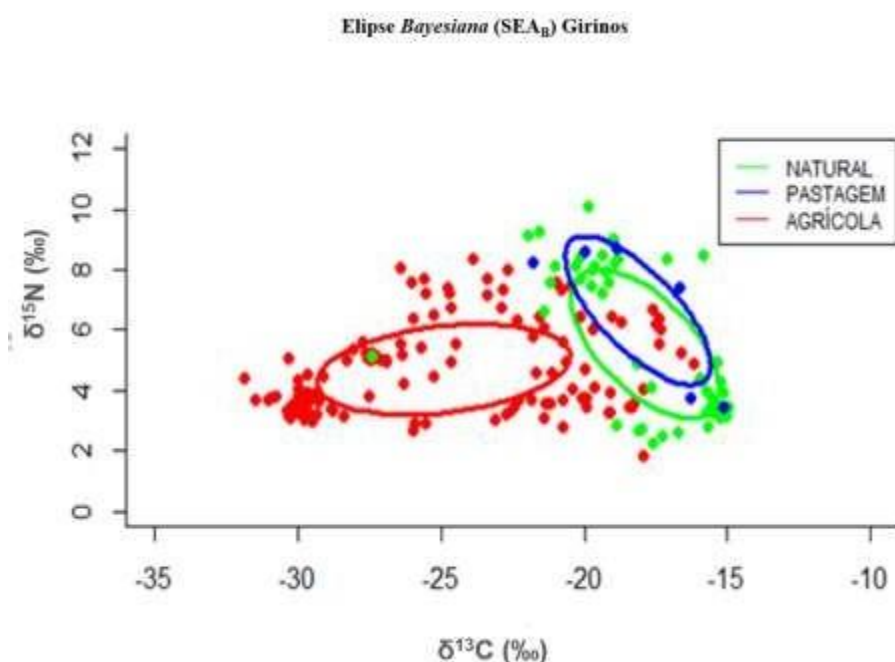


Figura 3.5: Elipse padrão bayesiana ( $SEA_B$ ) dos girinos dos três locais (Natural, Agrícola e Pastagem), Formoso do Araguaia, estado do Tocantins, Brasil.

A reprodução dos anfíbios depende profundamente, da disponibilidade de ambientes aquáticos que servem como sítios para o acasalamento, oviposição e crescimento larval (Semlitsch, 2002). Assim, a maior abundância de girinos na matriz agrícola pode estar associada a presença de espécies generalistas ou com hábitos que acabam por se beneficiar das mudanças do uso do solo (Semlitsch, 2008), como por exemplo, de *Leptodactylus latrans*. Essa espécie ocorre naturalmente em diferentes tipos de habitats, incluindo áreas mais abertas com a presença de gramíneas e localidades perturbadas (Galant, 2013; Gill et al., 2018;

Maffei, 2014; Sá et al., 2014) e, assim, com a substituição de uma matriz predominantemente, florestal por gramíneas, como arroz irrigado e outras culturas, pode se beneficiar e aumentar sua distribuição local e sua abundância. Outro fator que pode influenciar na determinação de elevada abundância neste local diz respeito a disponibilidade de corpos de água para reprodução nesse ambiente, formados em face da cultura do arroz irrigado.

Por sua vez, a disponibilidade de ambientes de reprodução é mais espacialmente e temporalmente dispersa no local Natural, que provavelmente implica em abundâncias intermediárias conforme o observado no presente estudo. Em Pastagem, apesar da disponibilidade de alguns corpos de água, apresentam-se menos estruturados, protegidos por vegetação ripária e mais espacialmente, isolados de outros corpos de água (Figura 3.6). Mesmo a presença de árvores isoladas no entorno dos corpos de água pode não ser suficiente para a manutenção de temperaturas mais amenas e umidade do ar relativa mais elevada, dois fatores determinantes para a presença e reprodução dos anfíbios (Duellman & Trueb, 1994; Pough et al., 2008).



Figura 3.6: Paisagens de dois locais (Natural e de Pastagem), Formoso do Araguaia, estado do Tocantins, Brasil.

Os anfíbios ontogênicos ao longo das migrações mudam seu habitat e alimentação, e, portanto, são importantes na ligação de ecossistemas terrestres e

aquáticos, conforme exemplificado por Trakimas et al. (2011) a partir da composição isotópica ( $\delta^{13}\text{C}$  e  $\delta^{15}\text{N}$ ) nas diferentes fases do desenvolvimento de *Rana temporaria*, do pantanal na Lituânia. Os valores  $\delta^{13}\text{C}$  em girinos *R. temporaria* foram marcadamente esgotados em comparação com adultos, ovos ou embriões, demonstrando uma mudança terrestre para aquática nas fontes de energia. Após o início da alimentação, girinos se aproximaram do equilíbrio isotópico com alimentos disponíveis (algas e resíduos). Os girinos apresentaram  $\delta^{15}\text{N}$  maiores que as algas e os resíduos, diferindo em 3,6 e 2,4‰, respectivamente, e semelhante  $\delta^{13}\text{C}$  a essas fontes.

#### 3.4.2. Adultos

Os valores (média e desvio padrão) registrados para  $\delta^{15}\text{N}$  e  $\delta^{13}\text{C}$ , respectivamente variam de (‰): Adultos: em Natural = ( $7,98 \pm 0,90$ ) e ( $-22,29 \pm 2,35$ ); Pastagem = ( $6,80 \pm 0,98$ ) e ( $-21,20 \pm 0,82$ ); Agrícola = ( $8,18 \pm 1,35$ ) e ( $-21,29 \pm 2,15$ ). No que diz respeito, a composição isotópica para anfíbios anuros envolveu 75 adultos dos três locais, sendo a maior abundância e riqueza de espécies observadas para o local Natural (com 42 indivíduos); Agrícola (31 indivíduos) e Pastagem (dois indivíduos). Os gêneros analisados foram: *Dendropsophus*; *Elachistocleis*; *Hypsiboas*; *Leptodactylus*; *Lysiaps*; *Osteocephalus*; *Physalaemus*; *Rhinella*; *Scinax*. No ambiente Natural foi registrada a maior diversidade no gênero *Leptodactylus* (cinco espécies), do que nos outros dois. O grupo mais abundante tanto no Natural quanto no Agrícola foi *Leptodactylus*. Outras informações acerca desses animais estão apresentadas no Capítulo II, desta Tese.

Espécies abundantes, tais como como é o caso da *Leptodactylus* (n = 36 indivíduos) e *Hypsiboas* (n = 20) são considerados modelos para estudos de relações tróficas em ecossistemas e possuem potencial de contribuição para a transferência de matéria e energia em diferentes níveis tróficos (Pazinato et al., 2011).

Para Campos et al., (2013a) diferentes habitats (riachos, poças temporárias e represas) inseridos no Cerrado, mas que se localizam em áreas que sofrem influências de atividades antrópicas, e registraram 19 espécies de anuros. Entretanto, a maioria dessas espécies são normalmente associadas a ambientes

antropizados e/ou fitofisionomias abertas. O mesmo padrão observa-se no presente estudo, onde a maioria das espécies registradas são generalistas e pouco exigentes quanto aos habitats que ocupam. No ambiente Agrícola foram encontradas riqueza de espécies e a abundância de anuros adultos intermediárias, indicando uma simplificação de habitats em relação ao ambiente Natural. A partir de registros realizados (como é o caso dos sedimentos dos corpos de água e os artrópodes terrestres), permitiram captar mudanças no uso do solo da região que são confirmados nessa matriz de uso de solo, cuja apresentou onze espécies de anuros, sendo que três delas são do gênero *Leptodactylus*.

De forma geral, o impacto da mudança do uso solo sobre os anuros pode ser considerado baixo. A presença de *Osteocephalus sp.*, uma espécie associada principalmente a ambientes florestais (Gascon, 1993) é um bom exemplo de como esses impactos ainda não foram pouco prejudiciais as comunidades de anfíbios, lembrando que a escala temporal pode impactar significativamente na composição isotópica de anuros dessa região, já que ao longo do tempo as modificações das comunidades de anfíbios também sofrem influência da escala temporal (Yeakel et al., 2016; Rodrigues & Rossa-Feres, 2011).

A expectativa era que os valores de  $\delta^{13}\text{C}$  e de  $\delta^{15}\text{N}$  dos anuros adultos, estariam relacionados aos valores médios isotópicos dos invertebrados (artrópodes). No entanto, ainda que pequena, apenas nos locais Natural e no Agrícola foi estabelecida alguma relação entre os isótopos desses dois locais. Para o local de Pastagem o número amostral de anuros (dois anuros) prejudicou qualquer conclusão (Figura 3.7).

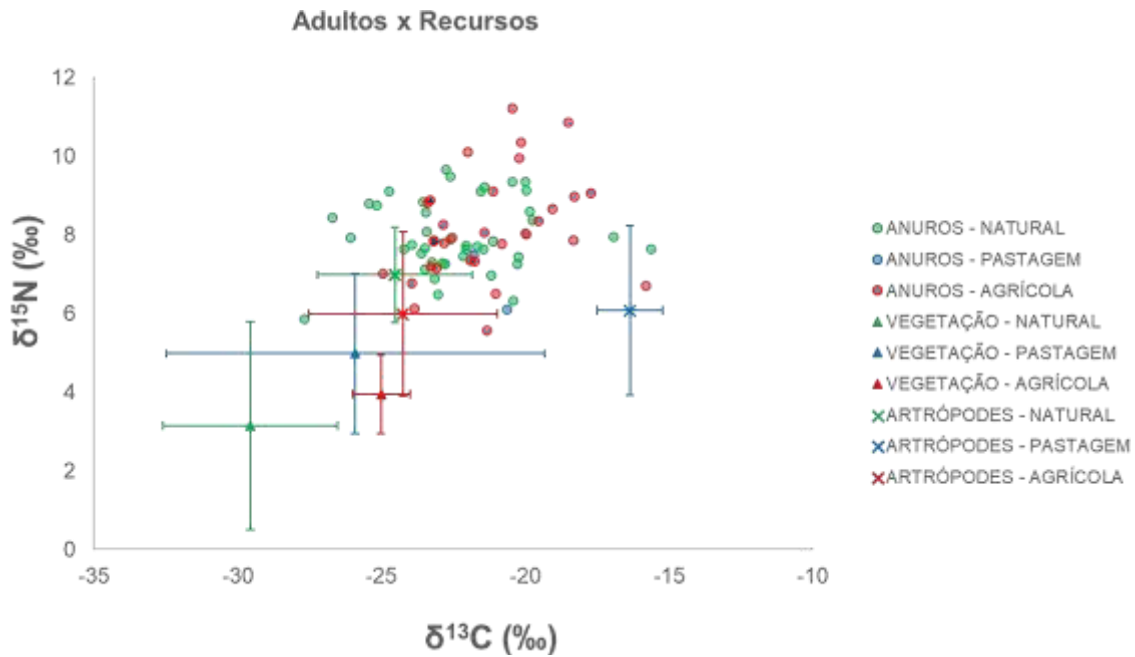


Figura 3.7: Comparação dos valores Médios de  $\delta^{13}\text{C}$  e  $\delta^{15}\text{N}$  medidos em  $\delta$  ‰ dos anuros adultos comparados aos recursos analisados nos três locais (Natural, Agrícola e Pastagem), Formoso do Araguaia, estado do Tocantins, Brasil.

Os nichos isotópicos dos anuros adultos apresentaram elevada sobreposição entre os locais Natural e Agrícola, com influência mais pronunciada de plantas C3 no Natural, e de plantas C4 no Agrícola. Apesar do local de Pastagem estar graficamente representado, a elipse bayesiana padrão dos dados dos anuros desse local tem baixa confiabilidade estatística devido ao baixo número amostral (dois indivíduos). A amplitude de nicho isotópico dos anuros adultos foi maior no local Agrícola, apresentando a área média da elipse no local Agrícola de 9,05 (4,53 - 124,30) ‰, sendo maior do que no local Natural de 7,06 (3,99 - 102,60) ‰ (Figura 3.8).

Os artrópodes, que são seus principais recursos alimentares, apresentaram uma grande amplitude de valores de  $\delta^{15}\text{N}$  nos três locais. Os adultos, diferentemente dos girinos, são predadores e se alimentam principalmente de artrópodes, dessa forma a expectativa era que os valores de  $\delta^{13}\text{C}$  e de  $\delta^{15}\text{N}$  dos anuros e dos artrópodes estivessem relacionados. Apesar de ter sido observada uma pequena relação entre esses grupos, e dessa relação sugerir que realmente os artrópodes amostrados contribuem para a dieta e as composições isotópicas dos anuros, outros recursos não amostrados são utilizados por esses predadores,



podendo estar mais associados a plantas de ciclo fotossintético C4 como sugerem os valores mais positivos de  $\delta^{13}\text{C}$  dos anuros em relação aos artrópodes considerados. Diferenças isotópicas já foram registradas em diferentes estágios de desenvolvimento de anuros, Trakimas et al. (2011) relataram divergências em excrementos de girinos e do tecido corporal em valores de  $\delta^{13}\text{C}$  ( $-30,3 \pm 1,6\text{‰}$ ) sendo mais semelhantes ao sedimento ( $-31,7 \pm 1,2\text{‰}$ ) e tecido corporal  $\delta^{13}\text{C}$  ( $-34,8 \pm 0,7\text{‰}$ ) mais semelhante às algas ( $-34,2 \pm 4,1\text{‰}$ ), sendo nos estágios 25 - 35 (Gosner, 1960) de *R. temporária* os recursos algas apresentam valores críticos, momento caracterizados pelo alto crescimento e baixo desenvolvimento.

Quanto a variabilidade isotópica e assimilação das presas ingeridas pelas *P. minuta* e *S. squalirostris* Huckembeck et al. (2018b) relataram diferenças interespecíficas na assimilação de carbono e nitrogênio de presas e fontes basais, com valores médios em *P. minuta* de  $\delta^{13}\text{C}$  variando de 26,64 a 22,28‰ e de  $\delta^{15}\text{N}$  variando de 4,25 a 7,48‰. Em *S. squalirostris* de  $\delta^{13}\text{C}$  variou de 23,53 a 17,28‰ e os de  $\delta^{15}\text{N}$  3,08 a 7,51‰.

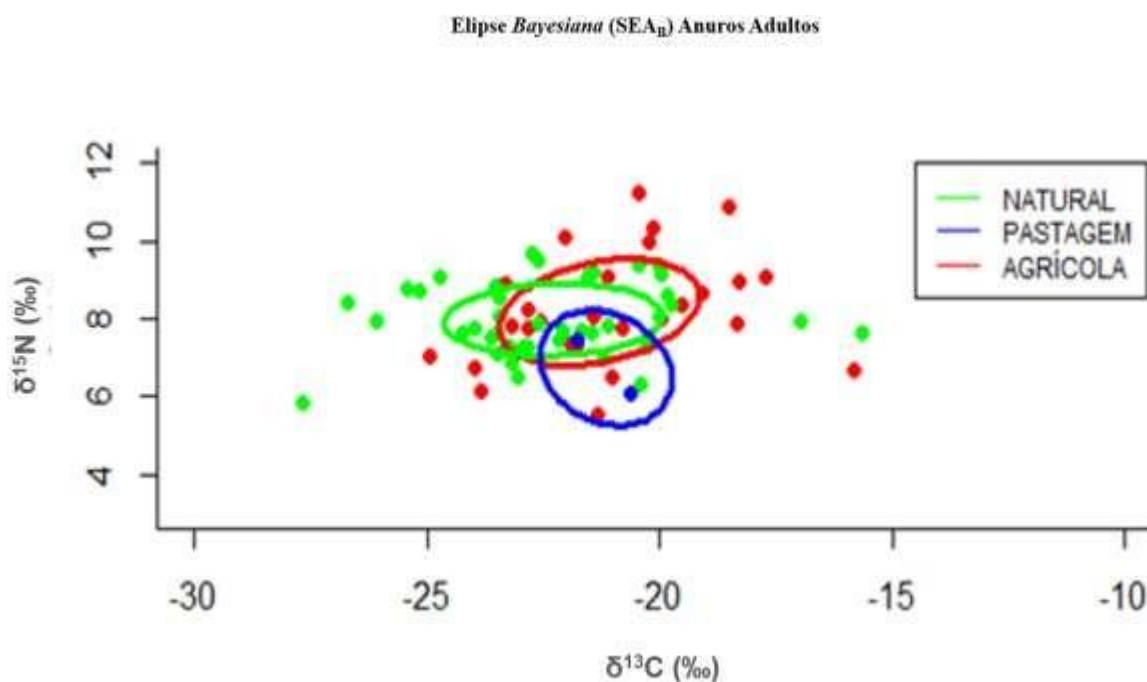


Figura 3.8: Elipse padrão bayesiana (SEA<sub>B</sub>) dos anuros adultos dos três locais (Natural, Agrícola e Pastagem), localizados em Formoso do Araguaia, estado do Tocantins, Brasil.

A maior amplitude de nicho isotópico calculada no local Agrícola indica que nessa matriz de uso do solo os girinos exploram uma gama mais ampla e diversa de recursos alimentares do que nos outros locais (Natural e Pastagem).

Para Araújo et al. (2007), o grau de especialização individual apresentou-se maior em populações mais generalistas de anuros, indicando que os nichos individuais permanecem estreitos mesmo que o nicho populacional seja amplo. Apesar de não terem registrado correlação entre a dieta e a morfologia dos indivíduos, alertaram para a falta de variação interindividual em região tropical, devido à alta diversidade podendo ser característica de comunidades dessa região. É a regra de regiões temperadas (que necessariamente resulta da expansão do nicho populacional mediante deliberação ecológica, pouco diversas em espécies) não seria aceitável nesse caso.

O tamanho corpóreo (comprimento rostro-cloacal) dos indivíduos anuros adultos não influenciou nos valores médios da composição de  $\delta^{13}\text{C}$  registrado com  $r^2$  ajustado a 0,011 e  $p = 0,18$  (Figura 3.9A) e de  $\delta^{15}\text{N}$  (com  $r^2$  ajustado - 0,007;  $p < 0,49$  Figura 3.9B).

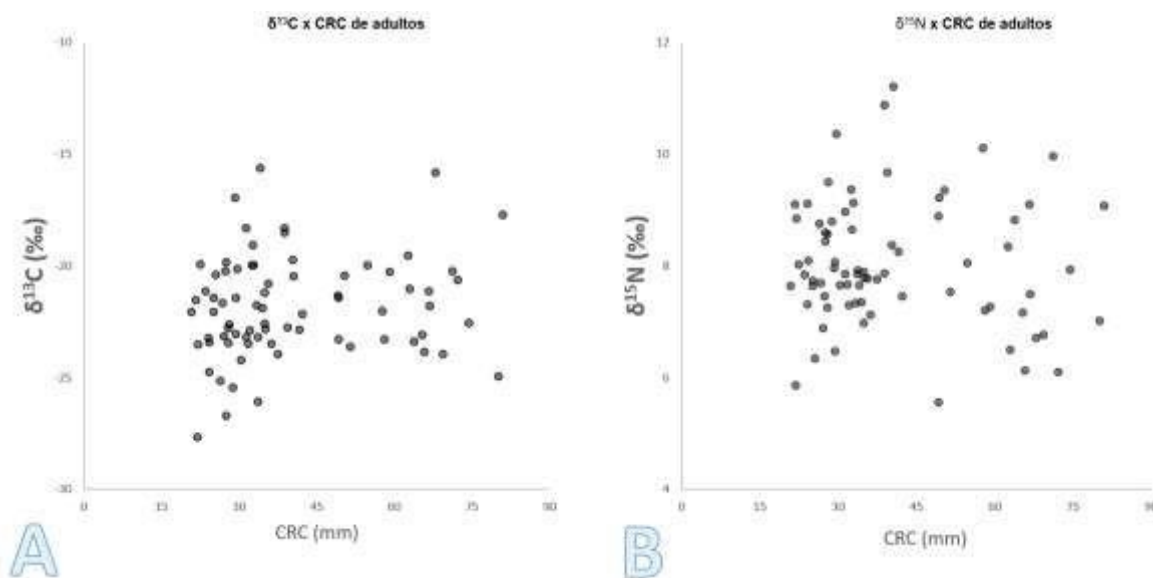


Figura 3.9: A. Correlação entre os valores de  $\delta^{13}\text{C}$  e de CRC (comprimento rostro-cloacal) dos anuros adultos amostrados nos três locais (Natural, Agrícola e Pastagem), Formoso do Araguaia, estado do Tocantins, Brasil. B. Correlação entre os valores de  $\delta^{15}\text{N}$  e de CRC (comprimento rostro-cloacal) dos anuros adultos amostrados nos três locais (Natural, Agrícola e Pastagem), Formoso do Araguaia, estado do Tocantins, Brasil.

Os registros realizados por nossos estudos aqui apresentados, localiza tanto espécie de anfíbios que são associadas a floresta, exemplificado pela *Osteocephalus* assim como espécies mais resistentes a ambientes abertos (Cerrado) e perturbados (agrícola) de *Leptodactylus*, podem impactar significativamente, nas variações isotópicas apresentadas, a partir de estudos que considerem maior escala temporal que este. A comunidade de anuros observada no local de Pastagem, por outro lado, representou um grande decréscimo tanto em riqueza como na abundância, com apenas dois indivíduos amostrados, e ambos pertencentes ao gênero *Leptodactylus*. As espécies desse gênero apresentam alta plasticidade ecológica, e ocupam os mais variados habitats, desde ambientes naturais até áreas completamente abertas (Heyer & Giaretta, 2009; Sá et al., 2014). Embora a Pastagem apresente disponibilidade de ambientes aquáticos em abundância e elevada incidência de luz solar e essas características citadas em conjunto a baixa profundidade nesse local tornam as condições físico-químicas extremas para anuros. Dessa maneira, apenas espécies com alto grau de plasticidade ecológica conseguem se adaptar a essa matriz de uso do solo.

As mudanças ambientais é um fator que influencia na composição da dieta dos anuros, tendo em vista que uma quantidade significativa no nicho trófico é devida aos recursos alimentares e que por fim, determinam a estrutura da comunidade. Para tanto, a fragmentação da paisagem e os diferentes usos do solo, associados a sazonalidade podem interferir na abundância de presas e conseqüentemente, na disponibilidade desses recursos para toda uma assembleia de consumidores (Campos et al., 2013; Silva et al., 2018; Silva, 2013).

As dietas das espécies *S. squalirostris* e *P. minuta* são influenciadas por múltiplos fatores tais como: restrições morfológicas, uso de habitat e variação sazonal em condições ambientais e disponibilidade de alimentos. De acordo com Huckembeck et al. (2018), a *P. minuta* apresentou maior tamanho (do corpo, largura da boca), uso mais amplo de microhabitats (principalmente, relacionadas a grandes corpos d'água), e dieta mais diversificada. Enquanto a *S. squalirostris* tinha menor tamanho (corporal e largura da boca), encontrada exclusivamente, dentro ou perto de plantas aquáticas e apresentando dieta mais restrita do que a *P. minuta*. As duas espécies apresentaram distintas relações de isótopos estáveis de carbono e

nitrogênio, indicando assimilação de diferentes recursos, exceto durante a estação mais fria e úmida, quando seus espaços de isótopos se sobrepuseram parcialmente. As duas espécies do grupo Hylideos não utilizaram os mesmos recursos alimentares por conta de suas diferenças na morfologia e no uso de micro-habitat. As densidades das presas durante o período mais quente e seco foram maiores, embora a sazonalidade ambiental não tenha influenciado nas suas estratégias alimentares, apenas *P. minuta* apresentou diferenças alimentares temporais.

Os valores médios de  $\delta^{13}\text{C}$  e de  $\delta^{15}\text{N}$  dos anuros adultos e dos girinos, observados apresentaram baixa relação entre as suas composições isotópicas. No entanto, este estudo não identificou espécies e estágio de desenvolvimento para os girinos analisados. As diferenças isotópicas apresentadas entre os adultos e girinos, mesmo que poucas, se devem principalmente a variação de hábitos alimentares existentes entre essas duas fases de desenvolvimento dos anfíbios (após o estágio larval 25G, a maioria das espécies são herbívoras ou detritívoras, com hábitos filtradores ou raspadores) os adultos são estritamente predadores (Cloyed & Eason, 2017; Trakimas et al., 2011; Altig et al., 2007; Alford & Richards, 1999; Parmelee, 1999).

Embora o Natural represente uma paisagem mais diversa, estável além de suportar mais espécies e indivíduos de anuros adultos, os girinos estão, física e biologicamente, limitados aos corpos de água. O local Agrícola, por se caracterizar com o cultivo de arroz irrigado/ soja, apresenta a maior disponibilidade hídrica. Assim, a maior diversidade de recursos alimentares para os girinos deve estar associada principalmente a extensão dos corpos da água, e por perdurarem mais cheios.

Tanto a maior riqueza de espécie, quanto a elevada abundância de anuros adultos observados no local Natural demonstram que esse ambiente é capaz de suportar um maior número de indivíduos e espécies com diferentes hábitos quando comparado aos demais locais. Isso se deve em grande parte a oferta de um ambiente mais estratificado, diversificado e estável do ponto de vista das condições físico-químicas, locais que a estrutura florestal apresenta. Relatos científicos de Silva et al. (2012), para ambientes com maiores índices de umidade, a exemplo dos

florestais, são capazes de suportar maior diversidade de modos reprodutivos de anuros, diretamente relacionada a riqueza de espécies e a diversidade funcional desse grupo.

A presença de cinco espécies do mesmo gênero (*Leptodactylus*), confirma, a capacidade desse ambiente, em suportar espécies ecologicamente relacionadas e taxonomicamente aparentadas, como é o caso, tendem a explorar e competir mais intimamente, pelos recursos semelhantes e conseqüentemente, implica em aumento de sua disponibilidade no local Natural.

Além disso, adultos se movimentam e forrageiam em ambiente terrestre, ainda que nas proximidades dos corpos de água, enquanto os girinos estão limitados aos ambientes aquáticos. Dessa forma, girinos e adultos obtêm seus recursos alimentares de diferentes origens e conseqüentemente, podem refletir diferentes composições isotópicas (Cloyed et al., 2015; Trakimas et al., 2011). Geralmente, para aqueles que apresentam mecanismos e para os quais existem maiores variações da especialização individual, há alguns determinantes do uso de recursos de um indivíduo ou ainda o papel das trocas na restrição de recursos individuais, de acordo com fenótipos diferentes não fazerem uso da mesma gama de recursos (Araújo et al., 2007; Bolnick et al., 2013).

A marcada discrepância, entre girinos e adultos, no local de Pastagem, sendo que os anuros apresentam valores de  $\delta^{13}\text{C}$  consideravelmente, mais negativos do que os artrópodes, muito provavelmente, justificam-se em função do baixo número de anuros amostrados nesse local (dois). Esse baixo número amostral também prejudica qualquer conclusão sobre o nicho isotópico dos adultos em Pastagem.

A grande variação de valores isotópicos na base das cadeias tróficas dos três usos do solo, se refletiu também nos adultos, que apresentaram poucas diferenças quanto ao uso de recursos entre os locais. Nos locais Natural e Agrícola os anuros apresentaram nichos isotópicos altamente, sobrepostos, que refletem uma mistura de recursos alimentares oriundos de diferentes recursos basais, ou seja, de organismos que se alimentaram de plantas de diferentes ciclos fotossintéticos. As diferenças entre os dois ambientes se concentram na maior influência de organismos oriundos de vegetação C3 sobre os anuros oriundos do

local Natural, e da maior influência de organismos oriundos da vegetação C4 no local Agrícola.

Embora em menor escala do que observado para os girinos, uma maior amplitude de nicho isotópico também foi observada em adultos do ambiente Agrícola em comparação ao local Natural. Esses dois resultados, reforçam que o ambiente Agrícola, apresenta uma base de recursos alimentares mais diversa do que os outros locais, em função de maior equilíbrio entre as abundâncias de recursos basais de ciclo fotossintético C3 e C4, visto que, enquanto girinos apresentam maior influência de plantas C3, anuros adultos apresentam maior influência de plantas C4.

A divisão de nicho ecológico de cinco espécies de anuros (*Anaxyrus americanus*, *A. fowleri*, *Lithobates catesbeianus*, *L. clamitans*, *L. sphenoccephalus*) nos Estados Unidos, houve considerável variação intraespecífica no nível trófico, com indivíduos maiores geralmente se alimentando em níveis tróficos mais elevados. Para espécies em níveis tróficos intermediários, indivíduos menores se sobrepuseram em nível trófico com indivíduos de espécies menores e indivíduos maiores sobrepostos com os menores indivíduos de espécies maiores. Espécies variaram em isótopos de carbono; espécies com proporções de isótopos de carbono enriquecidos forragearam mais longe das lagoas, enquanto espécies com valores de isótopos de carbono empobrecidos forragearam mais perto de lagoas. Essas espécies particionaram seus nichos alimentando-se em diferentes níveis tróficos e forrageando a diferentes distâncias das lagoas. A variação intraespecífica no nível trófico diminuiu o número de indivíduos de cada espécie que se sobrepunham em nível trófico com indivíduos de outras espécies, o que pode facilitar a coexistência das espécies (Cloyd et al., 2015).

Portanto, a partir de isótopos estáveis, devem considerar as diferenças individuais (morfologia e preferência por habitat e outras) que podem afetar as relações entre espécies ecologicamente semelhantes e simpátricas, evidenciando a necessidade de maior compreensão a respeito de diferenças intra-populacionais de nichos em invasores generalistas (ex. a individualidade) já que pode ter implicações ecológicas e evolutivas importantes.

A ausência de relação entre o tamanho dos indivíduos e os seus valores de  $\delta^{13}\text{C}$  é coerente com a grande diversidade de recursos basais encontrada nos diferentes ambientes amostrados. Na literatura científica, também há pouco relato para valores de CRC de anuros (Dittrich et al., 2017) informações que poderia auxiliar na determinação dos valores de  $\delta^{13}\text{C}$ , ainda mais em ambientes com recursos basais das cadeias tróficas altamente variados e mesclados no espaço.

Anuros adultos, como quase que estritamente predadores, limitam seus recursos alimentares apenas pelo tamanho de suas bocas (Toft, 1980), assim, o tamanho dos anuros poderia estar mais diretamente relacionado ao tamanho dos artrópodes que sejam consumidos (Silva et al., 2018). Entretanto, não há uma relação entre o tamanho dos artrópodes e seu nível trófico. Para Siemann et al. (1999), indiretamente poderia se determinar uma relação entre o tamanho dos anuros e seus valores de  $\delta^{15}\text{N}$ . Dessa forma, da mesma maneira que observado para os valores de  $\delta^{13}\text{C}$ , a variação nos valores de  $\delta^{15}\text{N}$  dos anuros adultos apenas reflete quão diversa isotopicamente é a sua base de recursos nos três locais deste estudo.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Embora os isótopos estáveis sejam uma ferramenta extremamente útil para entender como modificações interferem na ecologia dos organismos que ocorrem em ambientes antropizados, os resultados e as conclusões que essa metodologia possibilita são altamente determinados pela variação isotópica natural encontrada nos três locais.

Sem dúvida, este estudo aprimora consideravelmente, a nossa capacidade de comparar esses ambientes no que diz respeito, a aspectos ecológicos e propriedades ecossistêmicas. Para tanto, permitiu registros únicos quanto a variação isotópica de região natural observada no Cerrado e regiões ecotonais, caracterizados por um mosaico de diferentes fitofisionomias, de uma gama de plantas e recursos basais que determinam a cadeia trófica superior. A peculiaridade desse mosaico tropical, caracterizado nessa região de estudo em Formoso do Araguaia, ao mesmo tempo que detém um vasto campo científico desconhecido,

torna-o um fator complicador, do ponto de vista dos vários fatores, relacionando-se com o conjunto de fragmentações da paisagem, modificações antrópicas e, suas interferências na ecologia dos anfíbios que ocorrem nesses ambientes.

No que diz respeito, ao uso de recursos e ao nicho isotópico de anuros tanto em fase de girino quanto adultos, foi possível observar que esses organismos em princípio, se adequam às modificações existentes no uso e ocupação do solo considerados no presente estudo. Provavelmente, em função de diferentes fatores principais, tais como: a manutenção da disponibilidade de ambientes de reprodução que são utilizados por aqueles anfíbios; assim como a abundância de recursos alimentares disponíveis nos locais antropizados; e ainda devido a dominância de espécies generalistas mesmo no local Natural.

Os recursos alimentares correspondem a uma quantidade significativa do nicho trófico e que determinam a estrutura de comunidades e as mudanças ambientais se apresentam como fator de forte influência na composição da dieta dos anuros. Dessa forma, a sazonalidade pode afetar a abundância de presas e conseqüentemente, a disponibilidade desses recursos para todos os anfíbios.

Apesar do local Agrícola estar composto por plantações de arroz irrigado e de soja e promovam modificações na riqueza, abundância e o uso de recursos dos anfíbios anuros, o de Pastagem se mostrou muito menos adequado a esses organismos (porém, com baixo registro de organismos). As diferenças mais marcantes entre ambos os locais dizem respeito ao grau de heterogeneidade de habitats e a qualidade de condições físico-químicas apresentadas por cada um. Pastagem foi o local com baixa representatividade de anuros tanto larval quanto metamorfoseados.

Tendo em vista, as diferentes espécies de anuros reunidas nessa região tropical, é preciso envolver esforços para maior quantitativo amostral, de forma equiparada, por local, envolvendo uso do solo com pastagem, agricultura (com arroz/ soja) e natural (cerrado e ecótono), para verificações de influências em nichos isotópicos. Ressaltamos para a importância de identificação das espécies de anfíbios e estagiar as fases de desenvolvimento, em função de registrarmos diferenças isotópicas entre fases (larval e adulto) neste estudo.



Estudos futuros devem priorizar uma amostragem mais representativa das comunidades de anfíbios anuros de diferentes paisagens (naturais *versus* antrópicas), enfocando na compreensão sobre as diferentes espécies com seus diferentes requisitos biológicos e ecológicos respondem as modificações antrópicas do ambiente. Além disso, é necessário priorizar a escala local dos corpos de água, mas sem desconsiderar a escala regional, a fim de elucidar questões importantes, não respondidas no presente estudo.

Por fim, a integração com outras metodologias, como a ecotoxicologia, podem trazer uma nova perspectiva, mais completa e conclusiva sobre os impactos das atividades antrópicas sobre as comunidades e os ecossistemas.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGOSTINI, M. G.; AGOSTINI, M. G.; KACOLIRIS, F.; DEMETRIO, P.; NATALE, G. S. BONETTO, C.; RONCO, A. E.. Abnormalities in amphibian populations inhabiting agroecosystems in northeastern Buenos Aires Province, Argentina. **Diseases of Aquatic Organisms**, v. 104, n. 2, p. 163-171, 2013.
- AICHNER, B.; HERZSCHUH, U.; WILKES, H. Organic Geochemistry Influence of aquatic macrophytes on the stable carbon isotopic signatures of sedimentary organic matter in lakes on the Tibetan Plateau. **Organic Geochemistry**, v. 41, n.7, p. 706-718, 2010.
- ALFORD, R. A.; RICHARDS, S. J. Global amphibian declines: A problem in applied ecology. **Annual Review of Ecology and Systematics**, v. 30, p. 133-65, 1999.
- ALHO, C. J. R. Conservação. In: **Desafios para a conservação do Cerrado, em face das atuais tendências de uso e ocupação**. Cerrado: ecologia, biodiversidade e conservação. Brasília: Ministério do Meio Ambiente, p. 369-382, 2005.
- ALTIG, R.; WHILES, M. R.; TAYLOR, C. L. What do tadpoles really eat? Assessing the trophic status of an understudied and imperiled group of consumers in freshwater habitats. **Freshwater Biology**, v. 52, n. 2, p. 386-395, 2007.
- ALTWEGG, R.; REYER, H.-U. Patterns of natural selection on size at metamorphosis in water frogs. **Evolution**, v. 57, n. 4, p. 872-882, 2003.
- ARAÚJO, M. S.; REIS, S. F.; GIARETTA, A. A.; MACHADO, G.; I. BOLNICK, D. I. Intrapopulation diet variation in four frogs (Leptodactylidae) of the Brazilian Savannah. **Copeia**, v. 2007, n. 4, p. 855-865, 2007.
- ARAVENA, R.; WARNER, B. G.; HANF, K. I. Carbon Isotope Composition Productivity of Lake Sediments in Relation and Radiocarbon Dating to Lake. **Quaternary Research**, v. 345, p. 333-345, 1992.
- ASNER, G. P.; ANDERSON, C. B.; MARTIN, R. E.; TUPAYACHI, R.; KNAPP, D. E.; SINCA, F. Landscape biogeochemistry reflected in shifting distributions of chemical traits in the Amazon forest canopy. **Nature Geoscience**, v. 8, n. 7, p. 567-573, 2015.
- ATTADEMO, A. M.; PELTZER, P. M.; LAJMANOVICH, R. C.; CABAGNA-ZENKLUSEN, M. C.; JUNGES, C. M.; BASSO, A. Biological endpoints, enzyme activities, and blood cell parameters in two anuran tadpole species in rice agroecosystems of mid-eastern Argentina. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 186, n. 1, p. 635-649, 2014.
- ATTADEMO, A. M.; LAJMANOVICH, R. C.; PELTZER, P. M.; JUNGES, C. M. Acute toxicity of metaldehyde in the invasive rice snail *pomacea canaliculata* and sublethal effects on tadpoles of a non-target species (*Rhinella arenarum*). **Water, Air, and Soil Pollution**, v. 227, p. 12, 2016.

- HIGUCHI, M. I. G.; HIGUCHI, N. (ed.). **A Floresta Amazônica e suas múltiplas dimensões: uma proposta de educação ambiental**. 2ª. ed. rev. e ampl., Manaus: [s.n.], 2012.
- BERNABÒ, I. et al. Exposure and post-exposure effects of endosulfan on *Bufo bufo* tadpoles: Morpho-histological and ultrastructural study on epidermis and iNOS localization. **Aquatic Toxicology**, v. 142-143, p. 164-175, 2013.
- BERNARDE, P. S.; MACEDO, L. C. The impact of deforestation and pastures on the leaf-litter frog community in Rondônia, Brazil. **Iheringia, Sér. Zool.**, v. 98, n. 4, p. 454-459, 2008.
- BERTONI, J.; LOMBARDI NETO, F. L. **Conservação do solo**. 5. ed. São Paulo: Ícone, 2005. 355 p.
- BIOFISICA. **Estudo ambiental da área de plantio Cooperjava, Formoso do Araguaia - Tocantins**. Formoso do Araguaia - TO, Cooperjava, , 2010.
- BIONDA, C. D. L.; TADA, I. E.; LAJMANOVICH, R. C. Composition of amphibian assemblages in agroecosystems from the central region of Argentina. v. 18, n. 2, p. 93-98, 2011.
- BÖLL, S.; SCHMIDT, B. R.; VEITH, M.; WAGNER, N.; RÖDDER, D.; WEIMANN, C.; KIRSCHHEY, T.; LÖTTTERS, S. Amphibians as indicators of changes in aquatic and terrestrial ecosystems following GM crop cultivation: a monitoring guideline. **BioRisk**, 8:39-51, 2013.
- BOLNICK, D. I. et al. Bolnick2003. **Chicago Journals**, v. 161, n. 1, p. 1-28, 2013.
- BORZÉE, A.; KYONG, C. N.; KIL, H. K.; JANG, Y. Impact of water quality on the occurrence of two endangered Korean anurans: *Dryophytes suweonensis* and *Pelophylax chosonicus*. **Herpetologica**, v. 74, n. 1, p. 1-7, 2018a.
- BORZÉE, A.; HEO, K.; JANG, Y. Relationship between agro-environmental variables and breeding Hylids in rice paddies. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 1-13, 2018b.
- BRANDÃO, F. P.; MARQUES, S.; RODRIGUES, S.; SANTOS, B.; VENÂNCIO, C.; PEREIRA, R.; ORTIZ-SANTALIESTRAS, M.; SOARES, A. M. V. M.; GONÇALVES, F. Influência da temperatura na toxicidade de cobre em girinos de rã verde *Pelophylax perezi*. **Captar: Ciência e ambiente para todos**, v. 3, p. 66-77, 2011.
- BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. **Cerrado e Pantanal: Áreas e Ações Prioritárias para Conservação da Biodiversidade**. Brasília, 2007.
- CONAMA. Conselho Nacional do Meio Ambiente. **Resolução nº 396**, de 03 de abril de 2008. Dispõe sobre a classificação e diretrizes ambientais para o enquadramento das águas subterrâneas e dá outras providências. Diário Oficial, (66), p. 64-68, 2008.
- BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. **Plano de ação para prevenção e controle do desmatamento e das queimadas no Cerrado - PPCerrado**. Brasília, 2009. Disponível em: <<http://siscom.ibama.gov.br/monitorabiomas/>> Acesso em: 12 set. 2019.

- BRIDGES, C. M. Long-term effects of pesticide exposure at various life stages of the southern leopard frog (*Rana sphenoccephala*). **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 39, n. 1, p. 91-96, 2000.
- BURTON, E. C.; GRAY, M. J.; SCHMUTZER, A. C.; MILLER, D. L. Differential responses of postmetamorphic amphibians to cattle grazing in wetlands. **The Journal of Wildlife Management**, v. 73, n. 2, p. 269-277, 2008.
- CAMPOS, V. A.; ODA, F. H.; JUEN, L.; BARTH, A.; DARTORA, A. Composição e riqueza de espécies de anfíbios anuros em três diferentes habitats em um agrossistema no Cerrado do Brasil central. **Biota Neotropica**, v. 13, n. 1, p. 124-132, 2013.
- CLOYED, C. S.; NEWSOME, S. D.; EASON, P. K. Trophic discrimination factors and incorporation rates of carbon- and nitrogen-stable isotopes in adult green frogs, *Lithobates clamitans*. **Physiological and Biochemical Zoology**, v. 88, n. 5, p. 576-585, 2015.
- CLOYED, C. S.; EASON, P. K. Niche partitioning and the role of intraspecific niche variation in structuring a guild of generalist anurans. **Royal Society Open Science**, v. 4, n. 3, 2017.
- COLOMBO, B. M.; POLLET, N. Microbiota and mucosal immunity. **Frontiers in Immunology**, v. 6, n. March, p. 1-15, 2015.
- COSTA, R. N.; SOLÉ, M.; NOMURA, F. Agropastoral activities increase fluctuating asymmetry in tadpoles of two neotropical anuran species. **Austral Ecology**, v. 42, n. 7, p. 801-809, 2017.
- DITTRICH, C.; STRUCK, U.; RÖDEL, M. O. Stable isotope analyses: A method to distinguish intensively farmed from wild frogs. **Ecology and Evolution**, v. 7, n. 8, p. 2525-2534, 2017.
- DUELLEMAN, W. E.; TRUEB, L. **Biology of amphibians**. JHU press, 1994.
- DUTRA, L. S.; FERREIRA, A. P. Associação entre malformações congênitas e a utilização de agrotóxicos em monoculturas no Paraná, Brasil. **Saúde em Debate**, v. 41, n. spe2, p. 241-253, 2017.
- EGEA-SERRANO, A. et al. Understanding of the impact of chemicals on amphibians: A meta-analytic review. **Ecology and Evolution**, v. 2, n. 7, p. 1382-1397, 2012.
- FENOGLIO, C.; GROSSO, A.; BONCOMPAGNI, E.; GANDINI, C.; MILANESI, G.; BARNI, S. Exposure to heptachlor: Evaluation of the effects on the larval and adult epidermis of *Rana kl. esculenta*. **Aquatic Toxicology**, v. 91, p. 151-160, 2009.
- FICKEN, K. L. G.; BYRNE, P. G. Heavy metal pollution negatively correlates with anuran species richness and distribution in south-eastern Australia. **Austral Ecology**, p. 1-11, 2012.
- FISHER & FRACASSI. **Técnicas próprias do CENA/ USP** (não publicado), ref. de internet. <http://www.cena.usp.br/divisoaes-cientificas/dveco-funcionamento-de-ecossistemas-tropicais>. CENA (usp.br).
- GALANT, L. S. **Avaliação do Estresse Oxidativo em Leptodactylus latrans**

(Steffen, 1815) de Lavouras de Arroz Irrigado, no Sul de Santa Catarina, Brasil. 2013, 43F. Trabalho (Graduação) - Universidade do Extremo Sul Catarinense, UNESC, Criciúma, 2013.

GAMA, R. C.; SANTANA, T. T. C.; SILVA, T. G. N.; ANDRADE, V. C. L.; SOUZA, P. B. Fitossociologia e estrutura diamétrica de um fragmento de Cerrado sensu stricto, Formoso do Araguaia, Tocantins. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, n. 63, p. 501-507, 2018.

GASCON, C. Breeding-habitat use by five Amazonian frogs at forest edge. v. 444, p. 438-439, 1993.

GILL, J. P. K.; SETHI, N.; MOHAN, A.; DATTA, S.; GIRDHAR, M. Glyphosate toxicity for animals. **Environmental Chemistry Letters**, v. 16, n. 2, p. 401-426, 2018.

GOSNER, K. L. A Simplified table for staging anuran embryos and larvae with notes on identification. **Herpetologica**, v. Vol. 16, n. 3, p. 183-190, 1960. Retrieved from <https://www.jstor.org/stable/3890061>.

GRAY, M. J.; SMITH, L. M.; LEYVA, R. I. Influence of agricultural landscape structure on a Southern High Plains, USA, amphibian assemblage. **Landscape Ecology**, v. 19, p. 719-729, 2004.

GRAYSON, K. L. et al. Effects of prey type on specific dynamic action, growth, and mass conversion efficiencies in the horned frog, *Ceratophrys cranwelli*. **Comparative Biochemistry and Physiology - A Molecular and Integrative Physiology**, v. 141, n. 3, p. 298-304, 2005.

GREULICH, K.; PFLUGMACHER, S. Differences in susceptibility of various life stages of amphibians to pesticide exposure. **Aquatic Toxicology**, v. 65, p. 329-336, 2003.

HADDAD, C. F. B. Uma Análise da Lista Brasileira de Anfíbios Ameaçados de Extinção. In: PAGLIA, A. P.; DRUMMOND, G. M.; MACHADO, A. B. M. (Eds.). **Livro Vermelho da Fauna Brasileira**. Rio Claro - SP: Departamento de Zoologia, I.B., UNESP, p. 888. 2008.

HASLAM, I. S. et al. From frog integument to human skin: Dermatological perspectives from frog skin biology. **Biological Reviews**, v. 44, p. 618-655, 2014.

HAYES, T. B.; CASE, P.; CHUI, S.; CHUNG, D.; HAEFFELE, C.; HASTON, K.; LEE, M.; MAI, V. P.; MARJUOA, Y.; PARKER, J.; TSUI, M. Pesticide mixtures, endocrine disruption, and amphibian declines: are we underestimating the impact? **Environmental Health Perspective**, v. 114, Suppl 1, p. 40-50, 2006.

HAYES, T. B.; FALSO, P.; GALLIPEAU, S.; STICE, M. The cause of global amphibian declines: a developmental endocrinologist's perspective. **Journal of Experimental Biology**, v. 213, n. 6, p. 921-933, 2010.

HEYER, W. R.; GIARETTA, A. A. Advertisement calls, notes on natural history, and distribution of *Leptodactylus chaquensis* (Amphibia: Anura: Leptodactylidae) in Brasil. **Proceedings of the Biological Society of Washington**, v. 122, n. 3, p.292-305, 2009.

HUCKEMBECK, S. et al. Trophic ecology of two sympatric frogs with contrasting

morphology and habitat use in a subtropical wetland. *Herpetologica*, v. 74, n. 3, p. 207-216, 2018.

HUTCHINSON, G. E. Concluding Remarks. *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology*, v. 22, p. 415-427, 1957.

JACKSON, A. L.; INGER, R.; PARNELL, A. C.; BEARHOP, S. Comparing isotopic niche widths among and within communities: SIBER - Stable Isotope Bayesian Ellipses in R. *Journal of Animal Ecology*, v. 80, p. 595-602, 2011.

LAJMANOVICH, R. C.; ATTADEMO, A. M.; PELTZER, P. M.; JUNGES, C. M.; CABAGNA, M. C. Toxicity of four herbicide formulations with glyphosate on *Rhinella arenarum* (Anura: Bufonidae) Tadpoles: B-esterases and glutathione S-transferase inhibitors. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, v. 60, n. 4, p. 681-689, 2011.

LAYMAN, C. A.; ARAUJO, M. S.; BOUCEK, R.; HAMMERSCHLAG-PEYER, C. M.; HARRISON, E.; JUD, Z. R.; ROSENBLATT, A. E.; VAUDO, J. J.; YEAGER, L. A.; POST, D. M.; BEARHOP, S. Applying stable isotopes to examine food-web structure: an overview of analytical tools. *Biological Reviews*, 2011.

KUPFER, A.; LANGEL, R.; SCHEU, S.; HIMSTEDT, W.; MARK MARAUN, M. Trophic ecology of a tropical aquatic and terrestrial food web: insights from stable isotopes ( $^{15}\text{N}$ ). *Journal of Tropical Ecology*, p. 469-476, 2006.

MAFFEI, F. **Relações entre variáveis ambientais e anfíbios anuros em áreas de cerrado e floresta estacional semidecidual**. 2014. 104 f. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2014.

MARCO, A.; BLAUSTEIN, A. R. The effects of nitrite on behavior and metamorphosis in cascade frogs (*Rana cascadae*). *Environmental Toxicology and Chemistry*, v. 18, n. 5, p. 946-949, 1999.

MARCUZZO, F. F. N. et al. Mapeamento espacial, temporal e sazonal das chuvas no bioma Cerrado do estado do Tocantins. *Anais XV Simpósio Brasileiro de Sensoriamento Remoto*, n. 2005, p. 2796-2803, 2011.

MARGARIDO, T. C. S. **Biomarcadores Bioquímicos de Contaminação em Girinos de Anfíbios anuros expostos a Regent® 800WG ( Fipronil)**. [s.l.] Universidade Estadual Paulista, 2011.

MARTINELLI, A. M.; JOLY, C. A.; NOBRE, C. A.; SPAROVEK, G. A falsa dicotomia entre a preservação da vegetação natural e a produção agropecuária. *Biota Neotropica*, v. 10, n. 4, p. 324-330, 2010.

MCKECHNIE, A. E. Stable isotopes: powerful new tools for animal ecologists. *South African Journal of Science*, v. 100, n. April, p. 131-134, 2004.

MIRANDA, H. C. R. DE. **Estudo da ecologia trófica de *Leptodactylus latrans*, através de isótopos estáveis de carbono ( $\delta^{13}\text{C}$ ) e Nitrogênio ( $\delta^{15}\text{N}$ ), na planície do rio Araguaia, Estado do Tocantins**. 2016, 44f. Monografia (Graduação) - Universidade Federal do Tocantins, Palmas, 2016.

MOREIRA, R. A. **Efeitos dos agrotóxicos KRAFT® 36 EC (Abamectina) e Score® 250 EC (Difenoconazol), isolados e em misturas, sobre organismos zooplanctônicos**. 2017, 145f. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de São

Carlos, 2017.

MURADÁS, K. **Análise do impacto antrópico no sistema banhado do trecho inferior do Rio dos Sinos-RS através de indicadores isotópicos de C e N.** 2012, 112f. Monografia (Graduação) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2012.

NEGRI, D. D. B. **Desempenho de Larvas de Anfíbios e Libélulas em uma Paisagem Agroindustrial.** 2015, 89f. Dissertação (Mestrado) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2015.

NEWSOME, S. D.; DEL RIO, C. M.; BEARHOP, S.; PHILLIPS, D. L. A niche for isotopic ecology. **Frontiers in Ecology and the Environment**, v. 5, n. 8, p. 429-436, 2007.

ORTON, F.; ROUTLEDGE, E. Agricultural intensity in ovo affects growth, metamorphic development and sexual differentiation in the Common toad (*Bufo bufo*). **Ecotoxicology**, v. 20, n. 4, p. 901-911, 2011.

ORTON, F.; TYLER, C. R. Do hormone-modulating chemicals impact on reproduction and development of wild amphibians? **Biological Reviews**, v. 90, n.4, p. 1100-1117, 2015.

PARMELEE, J. R. Trophic Ecology of a Tropical Anuran Assemblage. **Natural History Museum The University of Kansas**, n. 11, p. 1-59, 1999.

PAULI, B. D.; COULSON, D. R.; BERRILL, M. Sensitivity of amphibian embryos and tadpoles to Mimic® 240 LV insecticide following single or double exposures. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 18, n. 11, p. 2538-2544, 1999.

PAZINATO, D. M. M.; TRINDADE, A. de O.; OLIVEIRA, S. V. de; CAPELLARRI, L. H. Dieta de *Leptodactylus latrans* (Steffen, 1815) na Serra do Sudeste, Rio Grande do Sul, Brasil. **Biotemas**, v. 24, n. 4, p. 147-151, 2011.

PELTZER, P. M.; LAJMANOVICH, R. C.; SÁNCHEZ-HERNANDEZ, J. C.; CABAGNA, M. C.; ATTADEMO, A. M.; BASSÓ, A. Effects of agricultural pond eutrophication on survival and health status of *Scinax nasicus* tadpoles. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 70, n. 1, p. 185-197, 2008.

PELTZER, P. M.; LAJMANOVICH, R. C.; ATTADEMO, A. M.; JUNGES, C. M.; CABAGNA-ZENKLUSEN, M. C.; REPETTI, M. R.; SIGRIST, M. E.; BELDOMÉNICO, H.; Effect of exposure to contaminated pond sediments on survival, development, and enzyme and blood biomarkers in veined treefrog (*Trachycephalus typhonius*) tadpoles. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 98, 2013

PELTZER, P. M. et al. Ecotoxicity of veterinary enrofloxacin and ciprofloxacin antibiotics on anuran amphibian larvae. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 51, p. 114-123, 2017.

POUGH, F. H.; JANIS, C. M.; HEISER, J. B. **A Vida dos Vertebrados.** 4ed. ed. São Paulo: Atheneu Editora São Paulo Ltda, 2008.

QUIRINO, R.; FERREIRA, de S.; CAMARGO, M. O.; TEIXEIRA, P. R.; SOUZA, P. B. de; SOUZA, D. J. de. Diversidade florística do estrato arbustivo - arbóreo de

três áreas de Cerrado *sensu stricto*, Tocantins. **Desafios-Revista Interdisciplinar da Universidade Federal do Tocantins**, v. 4, n. 2, p. 69-82, 2017.

RIBEIRO, J.; COLLI, G. R.; BATISTA, R.; SOARES, A. Landscape and local correlates with anuran taxonomic, functional and phylogenetic diversity in rice crops. **Landscape Ecology**, v. 32, n. 8, p. 1599-1612, 2017.

RIBEIRO, J.; COLLI, G. R.; SOARES, A. M. V. M. The anurofauna of a vanishing savanna: the case of the Brazilian Cerrado. **Biodiversity and Conservation**, v. 29, n. 6, p. 1993-2015, 2020.

ROCHA, C. A. M. da. The micronucleus test in erythrocytes of amphibian larvae as tool for xenobiotic exposure risk assessment: a brief review and an example using *Lithobates catesbeianus* exposed to copper sulphate. **Middle-East Journal of Scientific Research**, v. 8, n. 1, p. 23-29, 2011.

RODRIGUES, F.; ROSSA-FERES, D. DE C. SHORT COMMUNICATION: Influence of terrestrial habitat isolation on the diversity and temporal distribution of anurans in an agricultural landscape. **Journal of Tropical Ecology**, n. September 2004, p. 327-331, 2011.

ROSSA-FERES, D. de C.; SAWAYA, R. J.; FAIVOVICH, J.; GIOVANELLI, J. G. R.; BRASILEIRO, C. A.; SCHIESARI, L.; ALEXANDRINO, J.; HADDAD, C. F. B. Anfíbios do Estado de São Paulo, Brasil: conhecimento atual e perspectivas. **Biota Neotropica**, v. 11, p. 47-66, 2011.

ROUSE, J. D.; BISHOP, C. A.; STRUGER, J. **Nitrogen Pollution: an assessment of its threat to amphibian survival environmental health perspectives**, 1999. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1566592/>>

SÁ, D. S. F.; SCHULZ, A.; STREIT, F. E.; TURNER, J. D.; OITZL, M. S.; BLUMENTHAL, T. D.; SCHÄCHINGER, H. Cortisol, but not intranasal insulin, affects the central processing of visual food cues. **Psychoneuro endocrinology**, v. 50, p. 311-320, 2014.

SANCHEZ, L. C.; LAJMANOVICH, R. C.; PELTZER, P.; MANZANO, A. S.; JUNGES, C. M.; ATTADAMO, A. M. First evidence of the effects of agricultural activities on gonadal form and function in *Rhinella fernandezae* and *Dendropsophus sanborni* (Amphibia: Anura) from Entre Ríos Province, Argentina. **Acta Herpetologica**, v. 9, n. 1, p. 75-88, 2014.

SANTANA, H. M. de P.; SANO, E. E.; BEZERRA, H. DA S. Formações vegetacionais do Cerrado em unidades de conservação de proteção integral no estado do Tocantins. **Anais XV Simpósio Brasileiro de Sensoriamento**, p. 1820-1827, 2011.

SANTOS, E. R. dos. **Análise florística e estrutura fitossociológica da vegetação lenhosa de um trecho de Cerrado Stricto Sensu do Parque Estadual do Lajeado, Palmas - TO**. 200, 75f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Viçosa, 2000.

SCARIOT, A.; SOUSA-SILVA, J. C.; FELFILI, J. M. **Cerrado: Ecologia, Biodiversidade e Conservação**. MMA ed. Brasília - DF: Ministério do Meio



Ambiente, 2005.

SCHMUTZER, A. C.; GRAY, M. J.; BURTON, E. C.; MILLER, D. L. Impacts of cattle on amphibian larvae and the aquatic environment. **Freshwater Biology**, v.53, p. 2613-2625, 2008.

SEMLITSCH, R.D. Critical elements for biologically based recovery plans of aquatic-breeding amphibians. **Conservation biology**, v. 16, n. 3, p. 619-629, 2002.

SEMLITSCH, R. D. Differentiating migration and dispersal processes for pond-breeding amphibians. **Journal of Wildlife Management**, v. 72, n. 1, p. 260-267, 2008.

SIEMANN, E.; TILMAN, D.; HAARSTAD, J. Abundance, diversity and body size: patterns from a grassland arthropod community. **Journal of Animal Ecology**, v.68, n. 4, p. 824-835, 1999.

SILVA, C. de S.; SOUSA, J. G. G.; LIMA, Y. F.; ÁVILA, R. W.; MORAIS, D. H. Diet and morphological aspects of a population of *Pseudopaludicola pocoto* (Anura: Leptodactylidae) from northeast Brazil. **Neotropical Biology and Conservation**, v. 13, n. 4, p. 313-320, 2018.

SILVA, A. R. P. da; ALMEIDA, M. G. de. O agronegócio e o estado do Tocantins: O atual estágio de consolidação. **Caminhos da Geografia**, v. 8, n. 21, p. 28-45, 2007.

SILVA, F. R. da.; PRADO, V. H. M. do. HADDAD, C. F. B.; ROSSA-FERES, D. C. de. Humidity levels drive reproductive modes and phylogenetic diversity of amphibians in the Brazilian Atlantic Forest. **Journal of Biogeography**, 2012.

SILVA, N. R. da. **Relações tróficas entre anfíbios anuros e formicidae no chaco brasileiro**. 2013, 63f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal da Grande Dourados, Faculdade Ciências Biológicas e Ambientais, 2013.

SILVANO, D. L.; SEGALLA, M. V. Conservation of Brazilian amphibians. **Conservation Biology**, v. 19, n. 3, p. 653-658, 2005.

SOUZA, G. M. de; MATRICARDI, E. A. T. Mapeamento do uso e ocupação do solo nos anos 2000, 2005 e 2010 no município de Arraias, bacia do rio Paranã, Tocantins, Brasil, com dados de sensoriamento remoto. **Anais: XV Simpósio Brasileiro de Sensoriamento Remoto**. p. 6450, 2011.

SPARLING, D.; W. BICKHAM, J.; COWMAN, D.; FELLERS, G. M.; LACHER, T.; MATSON, C. V.; MCCONNELL, L. *In situ* effects of pesticides on amphibians in the Sierra Nevada. **Ecotoxicology**, v. 24, n. 2, p. 262-278, 2014. <<http://dx.doi.org/10.1007/s10646-014-1375-7>.

STEFFANI, R. R.; RUTKOSKI, C. F.; BIENIEK, G. B.; ZAGO, J. O.; HARTMANN, M. T. Agrotóxicos e sua relação com a biota aquática: utilizando ecotoxicologia e anfíbios anuros como bioindicadores. **Anais: 3º SEPE e 3ª Jornada de Iniciação Científica**, V. 3, P. 7489, 2013.

TEAM, R. C. R. **A Language and Environment for Statistical Computing** (R. D. C. Team, Ed.). **Foundation for Statistical Computing**: R Foundation for

Statistical Computing.R Foundation for Statistical Computing, , 2012. Disponível em: <<http://www.r-project.org>>.

TOCANTINS. Secretaria do Planejamento e Meio Ambiente - SEPLAN. **Estudo de Flora e Fauna - Norte do Estado do Tocantins**. Palmas, 2004.

\_\_\_\_\_. Secretaria do Planejamento e Meio Ambiente - SEPLAN. **Mapeamento das regiões fitoecológicas e inventário florestal do estado do Tocantins**. Palmas, 2012.

TOFT, C. A. Feeding ecology of thirteen syntopic species of anurans in a seasonal tropical environment. **Oecologia**, v. 45, n. 1, p. 131-141, 1980.

TOLEDO, L. F.; CARVALHO-E-SILVA, S. P. de; SÁNCHEZ, C.; ALMEIDA, M. A. de; HADDAD, C. F. B. The review of the Brazilian forest act: harmful effects on amphibian conservation. **Biota Neotropica**, V. 10, N. 4, P. 35-38, 2010.

TRAKIMAS, G.; JARDINE, T. D.; BARISEVIČIŪTĖ, R.; GARBARAS, A.; SKIPITYTĖ, R.; REMEIKIS, V. Ontogenetic dietary shifts in European common frog (*Rana temporaria*) revealed by stable isotopes. **Hydrobiologia**, v. 675, n. 1, p. 87-95, 2011.

UNRINE, J. M.; HOPKINS, W. A.; ROMANEKA, C. S.; JACKSON, B. P. Bioaccumulation of trace elements in omnivorous amphibian larvae: Implications for amphibian health and contaminant transport. **Environmental Pollution**, v. 149, n. 2, p. 182-192, 2007.

VALDUJO, P. H.; SILVANO, D. L.; COLLI, G.; MARTINS, M. Anuran species composition and distribution patterns in Brazilian Cerrado, a Neotropical Hotspot. **South American Journal of Herpetology**, v. 7, n. 2, p. 63-78, 2012.

VAZ-SILVA, W.; MACIEL, N. M.; NOMURA, F.; MORAIS, A. R. de; BATISTA, V. G.; SANTOS, D. L.; ANDRADE, S. P.; OLIVEIRA, A. Â. B. de; BRANDÃO, R. A.; BASTOS, R. P. **Guia de identificação das espécies de anfíbios (Anura e Gymnophiona) do estado de Goiás e do Distrito Federal, Brasil Central**. Curitiba: Sociedade Brasileira de Zoologia, 2020.

WAGNER, N.; RÖDDER, D.; BRÜHL, C. A.; VEITH, M.; LENHARDT, P. P.; LÖTTERS, S. Evaluating the risk of pesticide exposure for amphibian species listed in Annex II of the European Union Habitats Directive. **Biological Conservation**, v. 176, p. 64-70, 2014.

WELTJE, L.; UFER, A.; HAMER, M.; SOWIG, P.; DEMMIG, S.; DECHET, F. Risk assessment considerations for plant protection products and terrestrial life-stages of amphibians. **Science of the Total Environment**, v. 636, p. 500-511, 2018.

YEAKE, J. D.; BHAT, U.; SMITH, E. A. E.; NEWSOME, S. D. Exploring the isotopic niche: Isotopic variance, physiological incorporation, and the temporal dynamics of foraging. **Frontiers in Ecology and Evolution**, v. 4, p. 1, 2016.

ZOCHE, J. J.; DAMIANI, A. P.; HAINZENREDER, G.; MENDONÇA, R. A.; PERES, P. B.; SANTOS, C. E. I. dos.; DEBASTIANI, R.; DIAS, J. F.; ANDRADE, V. M. de. Assessment of heavy metal content and DNA damage in *Hypsiboas faber* (anuran amphibian) in coal open-casting mine. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 36, n. 1, p. 194-201, 2013.

## **CAPÍTULO IV**

### **COMPARAÇÃO DA SENSIBILIDADE DE GIRINOS DE ANUROS TROPICAIS A PESTICIDAS AGRÍCOLAS**

## 1. INTRODUÇÃO

O uso de pesticidas na agricultura representa uma grande ameaça para os ecossistemas em geral (Attademo et al., 2016). A manutenção da expansão do agronegócio no Brasil é uma causa de preocupação ambiental. Em função de ter relevante produção agrícola, o país é um dos maiores consumidores de agroquímicos no mundo, sendo o consumo de pesticidas no Brasil 20% do total consumido a nível mundial (Pelaez et al., 2013). No modelo de desenvolvimento utilizado, os insumos agrícolas são considerados extremamente importantes. O crescimento desse mercado brasileiro, nas últimas décadas foi de 190%, enquanto o mundial, registrou 93% (Soares et al., 2017; Faria, 2013), uma diferença de 97% a frente dos demais países. Especificamente, as plantações de ecossistema de arroz irrigado são responsáveis por 60% da produção nacional, com cerca de 1.368.422 hectares, majoritariamente, situada nas regiões tropicais do país. Estima-se que essa produção deverá ser incrementada nos próximos 25 anos, para atender a demanda de alimento mundial e estratégias comerciais foram traçadas, em função do acelerado crescimento mundial (Barrigossi et al., 2004). Deste modo, prevê-se que os ecossistemas naturais tropicais estejam mais expostos a risco de contaminação por agrotóxicos devido ao seu intenso uso na agricultura. Outro problema ambiental associado ao aumento do agronegócio é a perda de extensas áreas de vegetação natural, com suas diferentes fitofisionomias. Um dos biomas mais afetados pela expansão agrícola é o Cerrado, cujas áreas abertas estão mais desprotegidas e mais propícias para o desenvolvimento da agricultura (Paglia et al., 2019).

O uso extensivo de agrotóxicos na agricultura pode comprometer a qualidade dos ecossistemas terrestres, de águas superficiais e subterrâneas (Carneiro et al., 2015; IBGE, 2012). Durante o processo de aplicação de pesticidas às diversas culturas agrícolas, uma parte destes químicos pode atingir cursos de água (transporte aéreo, por vento, por exemplo,), assim como solos de campos agrícolas e de zonas que lhes estão adjacentes. Os pesticidas que atingem o solo podem ser transportados para os ecossistemas aquáticos por escorrências superficiais ou lixiviação (Ippolito & Fait, 2019; Marques et al., 2019), onde podem causar diversos efeitos adversos à biota. O perigo ecológico resultante da aplicação

de agrotóxicos é sobremaneira conhecido, havendo uma extensa literatura científica a reportar, quer efeitos letais, quer subletais, de uma grande diversidade destes compostos, em organismos terrestres e aquáticos (Almeida, 2014; Alves, 2006; Faria, 2015; Ghisi, 2010; Groff, 2008; Hasue, 2011; Krüger, 2009; Lima, 2015; Margarido, 2011; Moutinho, 2013; Rissoli, 2012; Rossi, 2008; Simioni et al., 2013; Vasconcelos, 2014; Vilches, 2009; Attademo et al., 2010; Attademo et al., 2016; Lajmanovich et al., 1998; Peltzer et al., 2003a, 2003b, 2003c; Lajmanovich et al., 2013; Peltzer et al., 2011; Peltzer et al., 2008; Peltzer et al., 2013, 2017; Sanchez et al., 2014).

Ainda no contexto do Brasil, a ocupação do bioma Cerrado pela agricultura (Toledo et al., 2010), aumenta a ameaça à biodiversidade (Klink & Machado, 2005). A atividade agrícola é uma das causas relacionadas ao declínio das populações de anfíbios (Gascon et al., 2007). Inquestionável e preocupante, é o desconhecimento ainda sobre a anurofauna de áreas agrícolas e pastagens brasileira, neste bioma. Como o uso de pesticidas é intensivo, a modificação da paisagem, pode também promover a alteração na distribuição dos anuros, e ocasionar, inclusive a extinção de espécies que até então, se quer tenham sido descobertas e ainda, favorecer a expansão da faixa geográfica de espécies típicas de habitats abertos, como a *P. azurea* (Moreira et al., 2012; Lucas et al., 2010).

Os anfíbios constituem um grupo de vertebrados altamente vulnerável a exposição por este tipo de contaminação química pois, populações destes organismos estão comumente associadas a corpos de água, usados para irrigação dos campos agrícolas (Almeida et al., 2019; Resende, 2015; Santos, 2014; Campos et al., 2013; Steffani et al., 2013; Moreira et al., 2012; Silva et al., 2012; Margarido, 2011; Rodrigues et al., 2011; Berti et al., 2009; Tonetto, 2008; Pough et al., 2008; Rossa-Feres & Nomura, 2006). No entanto, apesar de: (i) constituírem a classe de vertebrados com a maior proporção de espécies ameaçadas, sendo a contaminação química uma das principais causas a contribuir para o seu declínio, e (ii) ser esperado que apresentem uma elevada sensibilidade a compostos químicos, nomeadamente pesticidas, por possuírem pele altamente irrigada e permeável e, embriões sem casca exterior; os estudos que existem sobre efeitos de agrotóxicos neste táxon são poucos, principalmente, quando se tem em consideração a diversa

panóplia de pesticidas atualmente comercializados (Relyea et al., 2017; Oliveira, 2014; Rocha, 2014; Galant, 2013; Bombardi, 2012; Carneiro et al., 2015; Haddad, 2008; Silvano et al., 2003; Almeida et al., 1985). A maioria dos estudos existentes sobre a toxicidade de pesticidas em anfíbios foca principalmente, espécies modelo (ex. *Xenopus laevis*) e de regiões temperadas; havendo, comparativamente, um número limitado de estudos realizados com espécies tropicais (Ghose et al., 2014; Araújo et al., 2014; Yu et al., 2013; Smalling et al., 2012; Hedberg & Wallin, 2010; Mann & Bidwell, 2000). Mais ainda, os trabalhos existentes sobre a toxicidade de pesticidas em anfíbios abrangem apenas um número muito reduzido dos pesticidas atualmente comercializados (Boone, 2018; Costa et al., 2008; Kopp et al., 2007; Sanches et al., 2003). Como um raro exemplo, Smalling et al. (2015), reportou a ocorrência de anormalidades reprodutivas em anfíbios da espécie *Lithobates pipiens* que habitavam campos agrícolas onde foi detectada uma concentração média de atrazina de 0,2 µg/l.

Tendo em consideração que, é nos trópicos onde se encontra a maior biodiversidade de anfíbios e, que espécies tropicais e temperadas apresentam ciclos de vida e características ecológicas diferentes, torna-se importante estudar a toxicidade de pesticidas para espécies de anfíbios tropicais.

Nesse sentido, objetivou-se com este estudo, avaliar a toxicidade letal e subletal de quatro formulações comerciais: Cruiser®, Score®, Larvin® e Roundup Original®, comumente empregadas na agricultura de arroz irrigado por inundação, em girinos de espécies autóctones de anuros de regiões tropicais, especificamente no bioma de Cerrado que constitui o foco desta Tese, de modo a estimar o seu risco para este grupo de organismos.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1. Formulações comerciais dos pesticidas estudados**

As quatro formulações comerciais estudadas no presente trabalho, foram selecionadas a partir dos pesticidas mais utilizados em cultivo de arroz irrigado por inundação, confirmados em campo e em relatórios técnicos (informações

fornechas pela Adapec de Formoso não publicadas (Campo, 2002), na área agrícola de Formoso do Araguaia – TO, onde foi realizado o trabalho descrito no Capítulo 2 desta Tese, e são as seguintes (entre parêntesis é indicado o ingrediente ativo-i.a.): Cruiser® (tiametoxam), Score® (difenoconazol), Larvin® (tiodicarbe) e Roundup Original® (glifosato). Em seguida descrevem-se as principais características físico-químicas das formulações comerciais usadas no presente estudo.

### 2.1.1. Cruiser®

Cruiser® é um fungicida, vendido sob a forma de suspensão concentrada para tratamento de sementes pela empresa Syngenta, sendo constituído por 350 g/ l (35% m/v) de 1,3-thiazol-5-ylmethyl)-5-methyl-1,3,5-oxadiazinan-4-ylidene(nitro)amine (TIAMETOXAM) e por outros compostos químicos, não descritos pelo produtor, numa concentração de 820 g/ l (82% m/v). Faz parte do grupo químico de neonicotinóides, sendo a sua periculosidade ambiental classificada como do tipo perigoso e o risco de intoxicação (ANVISA), como medianamente tóxico (III). Algumas das propriedades físico-químicas do Cruiser®, assim como a sua autorização de uso no Brasil e Europa estão indicadas na Tabela 4.1.

**Tabela 4.1:** Características físico-químicas do pesticida Cruiser®, de acordo com o rótulo do produto adquirido para realização dos ensaios e informação sobre autorização de uso no Brasil e Europa (EU).

Meia-vida (dias)		Solubilidade em água (mg l <sup>-1</sup> )	K <sub>oc</sub> (mg l <sup>-1</sup> )	K <sub>H</sub> (Pa m <sup>3</sup> mol <sup>-1</sup> )	Possui autorização de uso?	
Solo/ Sedimento	Água				BR	EU
50	200 a 300	4,1x10 <sup>3</sup>	7,0 x 10 <sup>1</sup>	4,70 x 10 <sup>-10</sup>	Sim	Não

### 2.1.2. Score®

Score® é também um fungicida, vendido sob forma de concentrado emulsionável pela empresa Syngenta, constituído por 250 g/ l de cis-trans-3-chloro-4-[4-methyl-2-(1H-1,2,4-triazol-1-ylmethyl)-1,3-dioxolan-2-yl]phenyl4chlorophenylether (DIFENOCONAZOL) (25% m/v) e por outros compostos químicos, não descritos pelo produtor, numa concentração de 760 g/ l (76% m/v). Faz parte do grupo químico dos triazois, sendo a sua periculosidade ambiental classificada do

tipo muito perigoso e o risco de intoxicação (ANVISA), como extremamente tóxico (I). Algumas das características físico-químicas do Score®, assim como a sua autorização de uso no Brasil e Europa estão indicadas na Tabela 4.2

**Tabela 4.2: Características físico-químicas do pesticida Score®, de acordo com o rótulo do produto adquirido para realização dos ensaios e informação sobre autorização de uso no Brasil e Europa (EU).**

Meia-vida (dias)		Solubilidade em água (mg l <sup>-1</sup> )	KOC (mg l <sup>-1</sup> )	KH (Pa m <sup>3</sup> mol <sup>-1</sup> )	Possui autorização de uso?	
Solo/ Sedimento	Água				BR	EU
120	estável e muito persistente	15	3,76 x 10 <sup>3</sup>	1,5x10 <sup>-6</sup>	sim	sim

### 2.1.3. Larvin®

Larvin® é um inseticida, vendido sob forma de grânulos dispersíveis em água, para o controle de insetos pela empresa Bayer, constituído por 800 g/ Kg 3,7,9,13-tetrametil-5,11-dioxa-2,8,14-trithia-4,7,9,12,-diene-6,10-dione (TIODICARBE) (80% m/m), e por outros compostos químicos, não descritos pelo produtor, numa concentração de 200 g/ Kg (20% m/m). Faz parte do grupo químico dos carbamatos, sendo a sua periculosidade ambiental classificada do tipo muito perigoso e o risco de intoxicação (ANVISA), como extremamente tóxico (I). Algumas das características físico-químicas do Larvin®, assim como a sua autorização de uso no Brasil e Europa estão indicadas na Tabela 4.3.

**Tabela 4.3: Características físico-químicas do pesticida Larvin®, de acordo com o rótulo do produto adquirido para realização dos ensaios e informação sobre autorização de uso no Brasil e Europa (EU).**

Meia-vida (dias)		Solubilidade em água (mg L <sup>-1</sup> )	Koc (mg L <sup>-1</sup> )	KH (Pa m <sup>3</sup> mol <sup>-1</sup> )	Possui autorização de uso?	
Solo/ Sedimento	Água				BR	EU
90 a 180	200 a 300	4,1x10 <sup>3</sup>	7,0 x 10 <sup>1</sup>	4,70 x 10 <sup>-10</sup>	Sim	Não



#### 2.1.4. Roundup Original®

Roundup Original® é um herbicida, vendido sob forma de concentrado solúvel, para o controle de plantas indesejáveis pela empresa Monsanto, constituído por 445 g/l sal de amônio de N-(phosphonomethyl)glycine (GLIFOSATO) (44,5% m/v); 370 g/l de equivalente ácido de N-(phosphonomethyl) glycine (GLIFOSATO); (37,0% m/v) e por outros compostos químicos, não descritos pelo produtor numa concentração de 751 g/l (75,1% m/v). Faz parte do grupo químicos dos fosfometil glicinas, sendo a sua periculosidade ambiental classificada do tipo perigoso e com risco de intoxicação (ANVISA) como altamente tóxico (II). Algumas das características físico-químicas do Roundup Original®, assim como a sua autorização de uso no Brasil e Europa estão indicadas na Tabela 4.4.

**Tabela 4.4:** Características físico-químicas do pesticida Roundup Original®, de acordo como rótulo do produto adquirido para realização dos ensaios e informação sobre autorização de uso no Brasil e Europa (EU).

Meia-vida (dias)		Solubilidade em água (mg l <sup>-1</sup> )	K <sub>OC</sub> (mg L <sup>-1</sup> )	K <sub>H</sub> (Pa m <sup>3</sup> mol <sup>-1</sup> )	Possui autorização de uso?	
Solo/ Sedimento	Água				BR	EU
60	24	1,0 x 10 <sup>4</sup>	2,2 x 10 <sup>4</sup>	2,1 x 10 <sup>-7</sup>	Sim	Sim

#### 2.2. Espécies de anfíbios modelo

Para realizar o presente trabalho foram selecionadas três espécies de anfíbios, pertencentes a três das maiores famílias da ordem Anura: *Phyllomedusa azurea* (Hylidae), *Physalaemus cuvieri* (Leiuperidae) e *Leptodactylus labyrinthicus* (Leptodactylidae). As espécies apresentam ampla distribuição geográfica no Brasil (Segalla et al., 2014), o que facilita a recolha em campo de estágios de desenvolvimento iniciais para a realização de ensaios ecotoxicológicos, e, de acordo com a IUCN, apresentam um estado de conservação estável e pouco preocupante (Mijares et al., 2010; Lucas et al., 2010; Carvalho et al., 2013).

Mais ainda, essas espécies podem encontrar-se em terrenos agrícolas (Daam et al., 2019; Gonçalves et al., 2017; Borges & Juliano, 2007; Rodrigues et al., 2007), constituindo espécies que poderão estar expostas a contaminação por

pesticidas no campo, sendo portanto relevante a avaliação da sua sensibilidade para este tipo de compostos químicos. As três espécies propostas para este estudo habitam o Projeto Formoso (Biofísica, 2010), onde as quatro formulações comerciais de pesticidas também são utilizadas. Portanto, constituem espécies modelo relevantes para avaliar os impactos destas formulações comerciais nas populações de anfíbios da região do projeto Formoso. Na sequência, são descritas algumas características específicas da biologia de cada espécie de anfíbio:

#### 2.2.1. *Phyllomedusa azurea* Cope (1862)

Essa espécie é considerada de médio porte (CRC 31,2 - 44,4 mm), comumente, registrada em biomas de Cerrado e de transição Cerrado-Amazônia, porém já foi observada em lagoa artificial sob influência antrópica (pastagem). Típica de habitat arborícola, nidifica em dossel herbáceo que margeiam corpos d'água lânticos e durante a atividade de forrageamento apresenta baixa locomoção. Ainda pode ser encontrada em locais brejosos (pantanosos), durante a reprodução, dita do tipo prolongada, marcada durante os meses de maior temperatura e umidade (setembro a fevereiro). Os ovos são depositados em folhas de arbustos ao redor de poças (e lagoas) e a desova é envolta com cápsula gelatinosa que protege o embrião. Posteriormente, os girinos caem nos corpos d'água onde determinam o desenvolvimento. A dieta constituiu-se de 11 (onze) itens, sendo que os itens mais importantes para as fêmeas pertencem às ordens Orthoptera e Araneae (Silva, 2013; Santos et al., 2018; Lucas et al., 2010; Freitas et al., 2008; McDiarmid & Altig, 1999; Duellman & Trueb, 1994).

O corpo do girino de *P. azurea* tem de comprimento total - CT 40,43 mm, no estágio 34G (Gosner, 1960), apresenta formato elíptico e alongado (dorsal), com focinho truncado lateralmente, olhos de tamanho médio, posicionados lateralmente, narinas pequenas, ovóide, posicionada anterolateralmente. O disco oral é anteroventral, com fórmula dentária 2 (2)/ 3(1), bainha da mandíbula superior (em forma de M) e a inferior (em forma de V).

Uma das principais características que diferenciam esta espécie é a posição do espiráculo ventralmente localizado, associada ao tipo de barbatana dorsal baixa

e paralela à musculatura caudal e a ventral é larga e arqueada, com a ponta da caudal aguda e a musculatura caudal robusta e gradualmente cônica, assim como possui linha lateral evidente. Localizados em poças e remansos de pequenos riachos temporários de serras e topos de montanhas, superior a 800 metros de altitude (Santos et al., 2018; Álvares, 2009).

### 2.2.2. *Physalaemus cuvieri* Fitzinger (1826)

Esta espécie é de pequeno a médio porte (20 a 35 mm de CRC), noturna, típica de região com áreas abertas, abundante no bioma cerrado, mas, pode ser encontrada em florestas da região norte, sul e centro-oeste do Brasil, além de invadir ambientes alterados antropicamente incluindo, pastagens (tanto em lagoas artificiais, naturais, temporárias ou permanentes). Como em regiões tropicais a sazonalidade é bem marcada, a reprodução de grande parte dessa espécie se restringe à época chuvosa (outubro a março). As desovas são depositadas em ninho de espuma flutuantes, ancoradas na vegetação, com cerca de 600 ovos por desova, que após 3 dias se encontram em estágio larval (com maior abundância de girinos de novembro a janeiro), que em torno de 45 dias completam a metamorfose. Com dieta insetívora, quando os ambientes alterados propiciam, a estas espécies colonizadoras, alimento abundante, abrigos e locais adequados para a reprodução, podem favorecer a permanência de suas populações e atingir altos valores de abundância (Moraes et al., 2007; Moutinho, 2013; Mijares et al., 2010; Gonçalves, 2009; Vasconcelos & Rossa-Feres, 2005; Pombal Jr. & Haddad, 2005; Ribeiro et al., 2005).

O corpo do girino de *P. cuvieri* é pequeno, os ovos eclodem no estágio 25 Gosner (1960), quando o comprimento total varia de 16,5 à 24,2 mm (Costa & Carvalho, 2008), deprimido e ovóide (dorsal), focinho truncado lateralmente, olhos pequeno dorsolateral, narinas presentes, elípticas, dorsais, o espiráculo como para a maioria dos girinos lateral, sinistro, posterodorsalmente direcionado, estreito, abrindo-se no terço posterior do corpo, raramente terço médio do corpo, linha lateral não evidente, tubo oral anteroventral posicionado, emarginado lateralmente, com fórmula dentária 2(2)/3(1), bainha da mandíbula superior (em forma de M) e a inferior (em forma de V). A cauda de média altura, nadadeira dorsal mais alta que a ventral. Com hábitos bentônicos, em cardumes, ocorrem em poças temporárias

e permanentes de ambiente aberto (Rossa-Feres & Nomura, 2006; Dias, 2008; Pezzuti, 2011).

### 2.2.3. *Leptodactylus labyrinthicus* Spix (1824)

Os anuros da espécie *L. labyrinthicus* apresentam grande porte (~137 mm de CRC), é uma espécie generalista quanto à utilização de habitats, encontra-se amplamente distribuída em áreas abertas da América do Sul e adapta-se rapidamente aos ambientes antropizados, é comum no Cerrado tocantinense. Assim, como todas as espécies do mesmo gênero, a reprodução é em ninho de espuma e pode ocorrer a partir de agosto até meados de janeiro (com início antecedente à época chuvosa). Apresenta elevada variação na quantidade de ovos por desova (150 a 2.100 unidades), depositados às margens de pequenos corpos d'água, na superfície ou no solo (e ainda em tocas), ao longo da periferia de pequenas e rasas poças. As larvas podem entrar em contato com a água imediatamente, após a eclosão ou completar a metamorfose, no próprio ninho de espuma (cerca de 25 dias), completamente sem água (Pezzuti, 2011; Silva, 2005; Shepard & Caldwell, 2005). Percebemos maior resistência desta espécie à ambientes antropizados, a partir do comportamento reprodutivo, mediante a formação de crosta sob os ovos e larvas que habitavam a espuma densa e úmida, associada às condições ambientais (expostas a incidência de vento e sol), assim como já constatado por Shepard & Caldwell (2005). A dieta alimentar relatada é composta principalmente, por Arthropoda, especialmente insetos e vertebrados (Rodrigues & Ferreira, 2004).

O corpo do girino de *L. labyrinthicus* varia de 48,10 à 65 mm CT, no estágio 37-38G, com formato deprimido e ovóide (vista dorsal), narinas pequenas e ovóides, olhos dorsolateralmente, o espiráculo é sinistral, lateroventral, curto e largo, posterodorsalmente direcionado, abrindo no terço médio do corpo. O tubo oral é anteroventral, com fórmula dentária 1/2(1), as bainhas das mandíbulas sendo a superior em "arco" e a inferior em forma de "V"; ambas estreitas.

Tanto a barbatana dorsal quanto a ventral são baixas, com margem paralela ao eixolongitudinal do músculo da cauda. Uma característica compartilhada pela maior parte das larvas já descritas pertencente ao gênero *Leptodactylus*, a

presença de glote descoberta é provavelmente devido ao tipo de alimentação (larvas generalistas de hábitos bentônicos), são carnívoras - predadores de ovos e larvas de outros anuros, como por exemplo de *Physalaemus sp.* (Miranda & Ferreira, 2008; Rossa-Feres & Nomura, 2006; Prado, 2006; Shepard & Caldwell, 2005; Silva, 2005).

### 2.3. Coleta e cultura de girinos

Para cada espécie, foram recolhidas desovas e girinos em folhiços de poças temporárias e/ou permanentes de fragmentos de floresta de Cerrado, situados em Paraíso do Tocantins – TO (Brasil), APA - Área de Preservação Permanente (Serra do Estrondo, em Paraíso do Tocantins, Centro-Norte do Brasil (10° 11' 05,6"S, 48 ° 52' 16,2" W), em Bacia Hidrográfica não poluída (Tocantins, 2012).

Os organismos foram transportados em sacos plásticos selados, contendo água do local de coleta, até ao Laboratório de Ecologia e Zoologia/ LABECZ da Universidade Federal do Tocantins – UFT. As larvas eclodidas e os girinos foram mantidos, à temperatura de  $26 \pm 2^{\circ}\text{C}$  e fotoperíodo 12h:12h claro/escuro, em tanques de vidro de 15 l, contendo meio artificial Fetax (Dawson & Bantle, 1987), com pH 8,0 (7,9-8,4) e condutividade  $237 \pm 10 \mu\text{S}/\text{cm}^3$ , e constante aeração por um período de cerca de 7 dias, de forma a promover a sua aclimação às condições de laboratório antes de serem usadas na realização dos ensaios ecotoxicológicos. O meio dos aquários foi renovado a cada 48 horas. Os girinos foram alimentados diariamente com ração de peixes "*Ichthio-vit Pokanrm Wieloskeadnikowy, Flakes (Tropical®)*", em quantidade equivalente à 10% da massa corpórea dos girinos. Estas condições (temperatura, luz e regime alimentar) foram estabelecidas com base em trabalhos anteriores, adaptados aos organismos que foram encontrados em campo para manter condições ótimas no laboratório (Sturza, 2017; Trindade, 2017; Vargas, 2017; Almeida, 2014; Costa, 2014; Vasconcelos & Nascimento, 2014; Vasconcelos, 2014; Vasconcelos & Rossa-Feres, 2005).

### 2.4. Condições experimentais dos ensaios ecotoxicológicos

Os testes ecotoxicológicos foram realizados de acordo com o protocolo da

ASTM 729 (2002) (ASTM, 2002), para ensaios de curta duração, com estágios larvais de anfíbios, com pequenas modificações. Os ensaios realizaram-se com girinos no estágio de desenvolvimento 24G a 26G (Gosner, 1960), por ser esperado apresentarem maior sensibilidade aos compostos químicos. A partir do estágio 25G os organismos já apresentam a boca aberta passando a apresentar duas vias de exposição aos químicos: dérmica e por ingestão (Almeida, 2014; Rossa-Feres et al., 2004; McDiarmid & Altig, 1999). Os girinos foram expostos a um controle (que consistiu em meio artificial Fetax) e a várias concentrações das quatro formulações comerciais de pesticidas (Tabela 4.5). As concentrações testadas foram selecionadas com base nos resultados de ensaios preliminares e preparadas a partir de soluções *stock* preparadas, em meio Fetax do tipo *hardwater* e *softwater* (Tabela 4.5). A composição do Fetax *hardwater* foi: 1250 g de NaCl; 1920 g de NaHCO<sub>3</sub>; 600 g de KCl; 468 g de CaCl<sub>2</sub>; 1200 g de CaSO<sub>4</sub> e 2901 g de MgSO<sub>4</sub> em 20 litros de água destilada. A solução de Fetax *softwater* é equivalente a 50% dos mesmos compostos para 20 litros de água destilada. Para cada controle e concentração realizaram-se entre duas e quatro réplicas, sendo que cada uma, consistiu num frasco de vidro contendo 200-400 ml da solução teste e 5 (cinco) girinos no estágio 24G a 26G. As condições de exposição foram semelhantes às descritas acima para a manutenção dos girinos em laboratório até o seu uso nos ensaios ecotoxicológicos (incluindo o tipo e quantidade de alimento). Durante os ensaios foram medidos os seguintes parâmetros físico-químicos nas soluções dos testes: oxigênio dissolvido (mg/l), pH, condutividade elétrica ( $\mu\text{S/cm}$ ) e temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ ), usando uma sonda AK87 Medidor Multiparâmetro. Os níveis de amônia (mg/l) também foram medidos por meio do *kit* – amônia (*Alcon Labcon*, Teste Amônia Tóxica para Água Doce) (Conama, 2005).

No início de cada teste ecotoxicológico, foram selecionados aleatoriamente, 15 a 20 girinos (Pezzuti, 2011), de modo a se proceder às seguintes medições: massa (gramas), comprimento do corpo - CCO (milímetros - mm), comprimento da cauda - CC (mm) e comprimento total - CT (mm).

As avaliações de mortalidade durante os ensaios foram realizadas a cada 24 horas e os organismos mortos retirados dos recipientes de teste, para evitar a proliferação de micro-organismos e comprometer a sobrevivência dos demais. No

final das 96 h de exposição, foram realizadas novamente as medições corporais descritas acima em todos os girinos vivos. As medições corpóreas dos girinos, foram realizadas a partir da obtenção de registros fotográficos dos girinos sobreviventes, utilizando-se o *Software ScopelImage 9.0 (Professional imaging, calibre digital* de 0,01 mm), observados sob microscópio estereoscópico binocular (*Zeiss StemiV11*) e fotografados com um *Olympus C-4000* câmera digital, além de pesados em Balança digital Marte Modelo AW220, Fabricação: 2011 (Máx.: 220g – Mín.: 0,01g; e = 0,001g - d = 0,0001g) (Rossa-Feres & Nomura, 2006).

**Tabela 4.5:** Condições experimentais utilizadas nos ensaios ecotoxicológicos em que se expuseram girinos das espécies *Phyllomedusa azurea*, *Physalaemus cuvieri* e *Leptodactylus labyrinthicus*, às formulações comerciais dos pesticidas Cruiser®, Score®, Larvin® e Roundup Original®. As concentrações testadas estão apresentadas para o ingrediente ativo (i.a.) no caso das primeiras três formulações comerciais e para equivalente ácido (e.a.) no caso de Roundup®. A quantidade de réplicas é representada por R. A composição do Fetax empregado em cada teste (Hardwater ou Softwater), conforme descrito no item 2.4 (Material e Métodos).

Espécie	Pesticida (nome comercial/ ingrediente ativo)	Estágio	Stock de i.a. ou e.a. (g/l)	Concentrações testadas - i.a. ou e.a. (mg/l)	Volume teste (ml)/ réplica (R) e Fetax (dureza)
<i>P. cuvieri</i>	Cruiser®/ tiametoxam	26	1	180;190;200;210	200 (4R)/ Hardwater
<i>P. cuvieri</i>	Score®/ difenoconazol	24	5	0,94;1,13;1,36;1,63;1,95;2,34;3,37;4,05;4,86;5,83;7,00	400 (4R)/ Softwater
<i>L. labyrinthicus</i>	Score®/ difenoconazol	25	5	0,012;0,017;0,024;0,048;0,034;0,067;0,094;0,131;0,183	250 (4R) / Softwater
<i>P. cuvieri</i>	Larvin®/ tiodicarbe	24	6,25	1,4;1,7;2,1;2,5;3,0;3,6;4,4;5,27	200 (3R)/ / Hardwater
<i>P. cuvieri</i>	Larvin®/ tiodicarbe	25	6,25	1,4;1,7;2,5;3,0;3,6;4,4	250 (4R)/ Softwater
<i>P. azurea</i>	Roundup®/ glifosato	24	5	14,10;15,52;17,06;18,77;20,65;22,72;24,99;27,48;30,21;33,26	200 (5R)/ Hardwater
<i>P. cuvieri</i>	Roundup®/ glifosato	24	1	0,08;0,25;0,42;0,58;0,83;2,49;4,16;5,82;7,48;9,15	200 (2R)/ Hardwater
<i>P. cuvieri</i>	Roundup®/ glifosato	25	5	2,49;2,99;3,59;5,16;6,20;7,44;8,93;10,72;12,86	200 (3R)/ Softwater
<i>P. cuvieri</i>	Roundup®/ glifosato	25	5	14,10;15,52;17,06;18,77;20,65;22,72;24,99;27,48;30,21;33,26	200 (5R)/ Hardwater
<i>L. labyrinthicus</i>	Roundup®/ glifosato	26	5	0,67;0,83;1,00;1,16;1,41;1,75;2,08;2,49	200 (4R)/ Hardwater

## 2.5. Análises estatísticas

Para cada formulação comercial, as concentrações que provocam 50% de mortalidade ( $CL_{50}$ ), e respectivos limites de confiança a 95%, foram calculadas através da regressão Probit analysis (Finney, 1971).

De forma a identificar diferenças estatisticamente significativas entre o peso e comprimento de girinos expostos às concentrações de cada formulação comercial e o respectivo controle foram realizadas análises de variância (ANOVA) de uma via. Os pressupostos para realizar esta análise paramétrica, isto é, distribuição normal dos dados e variâncias homogêneas, foram analisados através dos testes Shapiro-Wilk e Bartlett's test. Sempre que a ANOVA identificou diferenças significativas procedeu-se à realização do teste de comparação múltipla Dunnett's, de forma a identificar diferenças significativas entre cada concentração e o respectivo controle e determinar as concentrações de efeito não observável (CENO) e concentrações de efeito observável (CEO) (Arango, 2005).

Para cada formulação comercial foi realizada uma pesquisa bibliográfica de forma a recolher dados de  $LC_{50}$  para espécies de anfíbios e se construírem curvas de distribuição de sensibilidade de espécies (SSD's). Tal só foi possível para Roundup<sup>®</sup>, uma vez que não foi encontrada informação de toxicidade em anfíbios para as restantes formulações comerciais. A SSD para o Roundup<sup>®</sup> foi gerada no programa da Agência de proteção Ambiental Americana (SSD Generator V1; disponível em [http://www.epa.gov/caddis/da\\_software\\_ssdmacro.html](http://www.epa.gov/caddis/da_software_ssdmacro.html)) utilizando valores de  $CL_{50,96h}$  para Roundup<sup>®</sup> encontrados na literatura científica e obtidos no presente estudo. Este software também permitiu calcular as concentrações de perigo para 5, 20 e 50% ( $HC_{5,20}$  e  $50$ ) das espécies, e respectivos limites de confiança, através do ajuste de um modelo de regressão não linear.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os parâmetros físico-químicos de qualidade da água monitorados nos testes ecotoxicológicos não apresentaram diferenças significantes, ou seja, para todos os parâmetros a variação foi inferior a 5% (Tabela 4.6).



Quanto aos resultados de quantificação dos pesticidas testados não foi possível realizar a detecção em amostras dos testes realizados, em função de falhas no processo técnico de análises químicas, para os compostos empregados neste estudo.

**Tabela 4.6:** Parâmetros físico-químicos monitorados nas soluções dos ensaios de toxicidade realizados, Tocantins (2016/ 17).

LOCAL	pH	Temperatura (°C)	O.D (mg/ l)	Condutividade (µS)
Campo*	7,77	28,4	7,5	14,7
Fetax - <i>hardwater</i>	8,13	27,0	NM	658
Fetax - <i>softwater</i>	8,06	27,4	4,2	340
Teste Roundup®**	8,04	28,2	4,9	311
Padrão ASTM	6,5-8,5	22±1	> 3,5	N

NM = não medido; N = não localizado; Campo\* referem-se aos locais de estudo - foram verificados em meio a plantação de arroz subirrigado (com presença de desova de *P. cuvieri*); Teste com Roundup®\*\* = com Fetax *softwater*; pH = Potencial Hidrogeniônico; °C = graus Célsius; O.D = Oxigênio Dissolvido em miligrama por litro (mg/ l); µS = micro Siemens.

As características físico-químicas do meio Fetax e das soluções de teste do Roundup® foram medidas antes, durante e no final do ensaio (Tabela 4.6), e as condições do meio Fetax apresentou variação em termos de condutividade no Fetax *hardwater* o valor foi praticamente o dobro das outras duas situações existentes 658; 340 no Fetax *softwater* e 311 no teste com o Roundup Original®.

### 3.1. Efeitos letais das formulações Cruiser®, Score®, Larvin® e Roundup Original®

Devido a constrangimentos associados à amostragem de indivíduos (desovas e girinos) das três espécies selecionadas, assim como a dificuldades experimentadas em laboratório, não foi possível realizar ensaios definitivos para todas as espécies e formulações comerciais dos pesticidas (exemplo ciproconazol). Não obstante, nesses casos, apresentam-se os resultados dos ensaios preliminares como indicativos da possível magnitude da toxicidade dos pesticidas.

Todos os ensaios agudos realizados e apresentados nesta Tese, cumpriram o critério de validade uma vez que, a percentagem de sobrevivência dos girinos expostos ao meio Fetax (controles) foi sempre de 100%. Na Tabela 4.7. encontram-se sumarizados os valores de concentrações de glifosato (e.a.) e difenoconazol

(i.a.) que provocam 50% de mortalidade nos girinos das espécies de anfíbios estudadas.

**Tabela 4.7:** Valores de concentrações letais medianas (CL<sub>50</sub>), com os respectivos Intervalo de Confiança a 95% (I.C.), obtidos após uma exposição de 96 h de girinos de *Physalaemus cuvieri*, *Phyllomedusa azurea* e *Leptodactylus labyrinthicus*, às formulações comerciais Score® e Roundup Original®. Todos os valores estão em mg/ l, sendo (e.a.) de glifosato e (i.a.) de difenoconazol.

Pesticida	Espécies					
	<i>P. cuvieri</i>		<i>P. azurea</i>		<i>L. labyrinthicus</i>	
	CL <sub>50</sub> (95% IC)	Estágio Gosner	CL <sub>50</sub> (95% IC)	Estágio Gosner	CL <sub>50</sub> (95% IC)	Estágio Gosner
<b>SCORE®</b> (i.a. difenoconazol)	1,79 (1,67-1,92)	24G	N	N	N	NP
	0,702 (0,15 - 1,71)	24G	16,54 (15,63- 17,32)	24G	NP	26G
<b>ROUNDUP ORIGINAL®</b> (e.a. glifosato)	9,34 (8,16 -11,20)					
	16,79 (15,88 -17,59)	<b>25G</b>				

NP = identificação para aqueles testes onde não foi possível o cálculo da CL<sub>50</sub>, com intervalo de 95% de confiança; N = Não foi realizado teste com esta espécie; e.a. = equivalente ácido; i.a. = ingrediente ativo.

Os girinos das espécies de anfíbios utilizados no presente estudo apresentaram diferentes sensibilidades letais às formulações comerciais Cruiser® (tiametoxam), Score® (difenoconazol), Larvin® (tiodicarbe) e Roundup Original® (glifosato). Como as concentrações testadas dos compostos são apresentadas em i.a. ou e.a., e passaremos a referir-nos aos nomes dos ingredientes ativos ao longo do texto, em vez de o nome da sua formulação comercial.

No caso dos girinos de *P. cuvieri* (espécie para a qual foram testadas as quatro formulações comerciais), dentre as quais, duas delas, referem-se a inseticidas, apresentaram baixa sensibilidade letal para as concentrações testadas de tiametoxam e tiodicarbe, quer o estágio de desenvolvimento 24G (para tiametoxam), quer o 25G (para tiametoxam e tiodicarbe). A mortalidade observada após 96 h de exposição a esses dois compostos para girinos no estágio 24G foi inferior a 7% para todas as concentrações testadas (Figura 4.1A); sendo que as mais elevadas foram: 210 mg i.a./ l para tiametoxam e 5,27 mg i.a./ l. No entanto, é de realçar que os girinos no estágio 25G apresentaram maior sensibilidade que

os girinos no estágio 24G expostos a tiodicarbe, tendo-se registrado uma mortalidade de 35% (Figura 4.1A; 4.1B), respectivamente, na concentração de 4,4 mg i.a./ l.

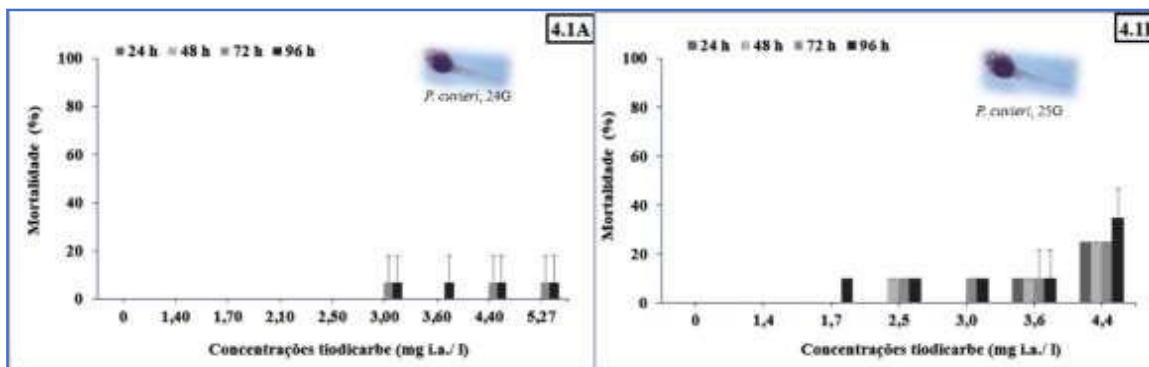


Figura 4.1: Média da mortalidade (%) ocorrida em girinos de *P. cuvieri* expostos, por um período de 96 h, a várias concentrações de Larvin® (expressas nos gráficos em mg/ l de tiodicarbe). A. *P. cuvieri*, estágio 24G; B. *P. cuvieri*, estágio 25G. As barras de erro representam desvio padrão.

Até ao momento e, do nosso conhecimento, não foram ainda reportados dados de toxicidade letal destes dois pesticidas para estágios larvais de anfíbios. No entanto, a sua toxicidade letal para outros grupos de organismos dulcícolas já foi determinada. No caso de Cruiser®, os valores reportados na literatura científica de CL<sub>50</sub> do seu ingrediente ativo tiametoxam, variam entre 0,0055 mg/ l (para a espécie de efêmera *Neocloeon triangulifer*) e superiores a 125 mg/ l (para a espécie de peixe *Oncorhynchus mykiss*) (ex.: Van den Brink et al., 2016; Finnegan et al., 2017; Bartlett et al., 2018; Raby et al., 2018). Deste modo, os resultados obtidos no presente estudo sugerem que os girinos de *P. cuvieri* apresentam uma tolerância letal (CL<sub>50,96h</sub> > 210 mg/ l) a tiametoxam superior à de outros organismos dulcícolas já estudados, realçando que os valores máximos admissíveis no ambiente para este composto, derivados com base nos dados de toxicidade já existentes para outras espécies, contemplam a proteção dos estágios larvais desta espécie de anfíbio.

De fato, as concentrações de perigo que afetam 5% (HC<sub>5</sub>) de invertebrados dulcícolas, disponíveis da literatura científica e calculadas com base em valores de CL<sub>50</sub> para o i.a. (tiametoxam), encontram-se na gama de µg/ l, muito abaixo do valor de CL<sub>50,96h</sub> previsto para girinos de *P. cuvieri*. Finnegan et al. (2017), reportaram

valores de HC5 de 22,9 µg/ l e 12,3 µg/ l para invertebrados aquáticos. Mais ainda, considerando os níveis de tiametoxam que têm sido detectados em águas superficiais a nível mundial, como por exemplo 0,001 a 0,016 mg/ l no Canadá e Texas (Struger et al., 2017; Morrissey et al., 2015; Schaafsma et al., 2015), não é esperado que estes constituam um elevado risco para a espécie de anfíbio aqui estudada. No entanto, no Brasil este ingrediente ativo raramente, é detectado em águas superficiais (Possavatz, 2013; Rocha, 2011), apesar de apresentar baixa volatilidade (410 mg/ l) e alta capacidade de se lixiviar, características que contribuem para que permaneça por mais tempo no ambiente aquático (com uma meia-vida correspondente à 30,6 dias; (Marques et al., 2019; Hladik & Calhoun, 2012; Milhome et al., 2009). Carbo et al. (2007) demonstraram que, em função dos coeficientes de sorção do tiametoxam no solo serem baixos em região tropical (Mato Grosso - Brasil), na região Sul do país, representa um alto risco de contaminação das águas superficiais, variando de 0,02 à 3,17 µg/ l considerando duas safras consecutivas, com análises ao longo de trinta dias após a aplicação em área de arroz irrigado (Wandscheer, 2016).

Considerando, Morrissey et al. (2015), estes valores encontram-se também muito abaixo dos valores reportados no presente estudo que poderiam provocar efeitos adversos em estágios larvares de *P. cuvieri*, sendo expectável que não constituam um risco para esta espécie.

Relativamente, o tiodicarbe, após se realizar uma pesquisa bibliográfica, também não foi possível encontrar dados de toxicidade letal deste pesticida, para estágios de desenvolvimento aquáticos de anfíbios. Deste modo, uma vez que, os dados de toxicidade gerados para formas juvenis de peixes são comumente usados na extrapolação do risco de compostos químicos para anfíbios, recolheram-se dados de toxicidade de tiodicarbe para peixes. Canadá (2016), reportou um valor de concentração perigosa protegendo 95% das espécies de peixes (baseado em valores de CL<sub>50</sub>) do principal metabólito de tiodicarbe (metomil) de 347 µg/ l. Este valor de HC<sub>5</sub> foi obtido com base em valores de CL<sub>50,48h</sub> de tiodicarbe que variaram entre 0,12 mg/ l (para *Oreochromis niloticus*) (Abdullah et al., 1997) a 3,3 mg/ l (para *Oncorhynchus mykiss*). Para o peixe-lua azul (*Lepomis macrochirus*) a

concentrações de 1,4 mg/ l do ingrediente ativo já é letalmente tóxico (Yi et al., 2006). A variação da toxicidade letal do tiodicarbe foi registrada também em outros organismos dulcícolas, tais como as espécies de peixes *Lepomis macrochirus* e *Oncorhynchus mykiss*, com  $CL_{50,96h}$  variando de 1,4 à 3,3 mg i.a./ l (Yi et al., 2006), e para *Daphnia spp.* e *Baetis sp.* quando utilizado nas concentrações de 55 à 220 mg/ l (Ali & Stanley, 1982). Relativamente, aos nossos testes ecotoxicológicos realizados com anuros da espécie *P. cuvieri*, o tiodicarbe apresentou efeitos letais somente em concentrações acima de 4,4 mg i.a./ l (tiodicarbe).

Com base nos dados bibliográficos citados, percebe-se que as concentrações de tiodicarbe que causaram letalidade *Daphnias e Baetis* foram mais elevadas (acima de 55 mg/ l) do que as que provocaram toxicidade em peixes. Apesar disso, verificou-se também que as concentrações letais para peixes são mais baixas (1,4 e 3,3 mg/l), do que para *P. cuvieri* (4,4 mg/ l), ou seja, os dados de toxicidade existentes para peixes podem ser protetores para *P. cuvieri*. Dados de resíduos de tiodicarbe para águas superficiais são escassos, quer a nível mundial, quer seja no Brasil. Este fato ocorre pela existência de poucos estudos que realizem estas análises e, pela dificuldade da detecção, em água superficial de tiodicarbe, tal como indicado por Zandoná (2019).

De qualquer maneira, é reconhecido o risco que o tiodicarbe acarreta aos recursos hídricos, devido ao poder de lixiviação que apresenta em diferentes matrizes ambientais (biota e água) (Santos, 2014; Rebelo & Caldas, 2014; Carneiro et al., 2015; Scorza-Júnior, 2010; Pinheiro & Rosa, 2008).

No que se diz respeito, à toxicidade letal de Score® e Roundup® para girinos de *P. cuvieri*, os valores de  $CL_{50,96h}$  encontram-se apresentados na Tabela 4.7. Para Score® o valor de  $CL_{50,96h}$  para girinos de *P. cuvieri* no estágio de desenvolvimento 24G foi de 1,791 mg/ l i.a. difenoconazol (Figura 4.2C). Tal como para os dois pesticidas anteriores, ainda existe uma grande lacuna relativa à toxicidade de difenoconazol em anfíbios, nomeadamente em espécies nativas de regiões tropicais. Lee et al. (2011) reportou um valor de  $CL_{50}$  de 0,0272 mg i.a./ l de difenoconazol para embriões/ girinos (nos estágios 9 a 25 conforme Nieuwkoop & Faber, (1956), a espécie *Xenopus laevis*. Não tendo sido encontrados mais valores

de toxicidade para anfíbios, são reportados em seguida alguns valores de toxicidade para peixes, uma vez que, tal como já referido acima, os dados gerados para este táxon são comumente usados na avaliação de risco de compostos químicos para fazes aquáticas de anfíbios.

A nível mundial têm sido reportados efeitos na mortalidade de peixes expostos a concentrações de difenoconazol que variam entre 1,17 a 3,58 mg/ l (Sanches et al., 2018; Sanches et al., 2017; Mu et al., 2013). Comparativamente, os resultados obtidos no presente trabalho revelam uma menor sensibilidade de girinos de *P. cuvieri* relativamente à espécie modelo de anfíbio *X. laevis* (espécie de regiões subtropicais), mas apresenta uma sensibilidade semelhante à reportada para peixes. Dando indicação que os dados de toxicidade existentes para *X. laevis* podem ser protetores para *P. cuvieri*.

Em água superficial, em escala mundial, resíduos de difenoconazol foram detectados em concentrações que variam de 0,0068 à 8,78 mg i.a./ l (Latiff et al., 2010). No Brasil, são poucos os dados registrados de difenoconazol para água superficial. Milhome et al., (2009) e Albuquerque et al. (2016), reportaram valores entre  $1,7 \times 10^5$  e  $5 \times 10^5$  mg/ l (São Paulo). Com base nessas informações, afirma-se que o composto pode consituir risco de contaminação à anuros de *P. cuvieri*, tendo em vista que a presença de resíduos de difenoconazol foram registrados em águas superficiais em valores acima da  $CL_{50,96h}$  de 1,791 mg/ l.

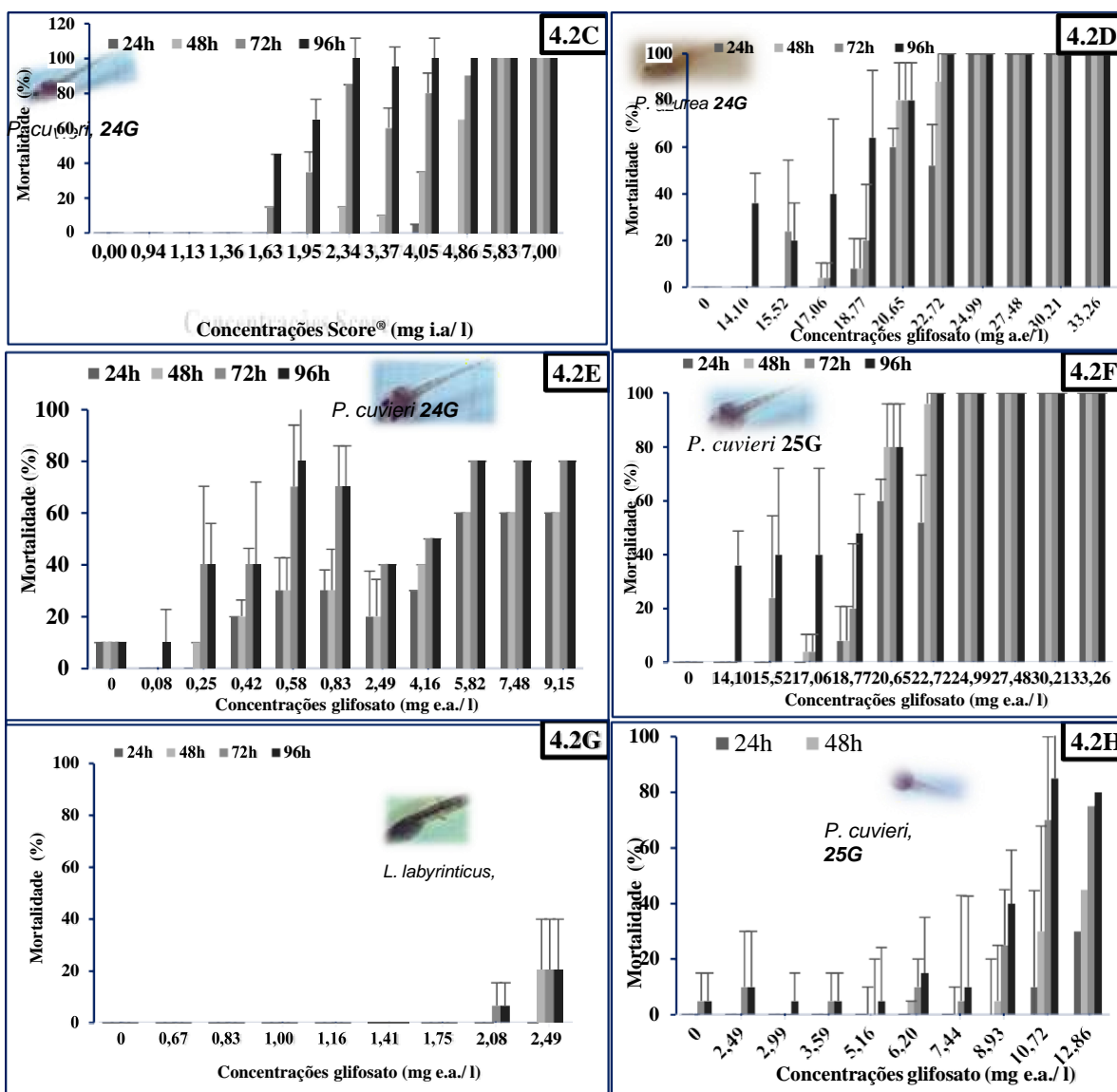


Figura 4.2: Média da mortalidade (%) ocorrida em girinos de *P. cuvieri* expostos, por um período de 96 h, a várias concentrações de Roundup Original® (expressas nos gráficos em mg e.a./l de glifosato). D. *P. azurea*, estágio 24G; E. *P. cuvieri*, estágio 24G; F. *P. cuvieri*, estágio 25G; G. *L. labyrinthicus*, estágio 26G; H. *P. cuvieri*, estágio 25G. As barras de erro representam o desvio padrão.

Os valores de CL<sub>50,96h</sub> variaram de acordo com o estágio de desenvolvimento dos girinos (Figura 4.3D à H), sendo que em 24G apresentaram maior sensibilidade ao herbicida do que os girinos do estágio 25G, os valores de CL<sub>50,96h</sub> foram os seguintes: 0,702 mg a.e./l para o estágio 24G e 9,34 e 16,79 mg a.e./l para o estágio 25G. Esta diferença de sensibilidade (9 a 16 vezes maior) pode ser explicada por diferenças morfológicas nestes estágios de desenvolvimento. Especificamente, no caso de Roundup Original® a sua toxicidade letal foi estudada

para duas outras espécies, *P. azurea* e *L. labyrinthicus* (Tabela 4.7), sendo que o valor de CL<sub>50</sub> determinado para *P. azurea* foi de 16,54 mg e.a./ l de glifosato e para *L. labyrinthicus* não foi possível calcular um valor de CL<sub>50</sub>. No entanto, com base nos valores de mortalidade cumulativa observados que após exposição de 96h previmos que estaria situado acima de 2,60 mg e.a./ l de glifosato (Figura 4.2G). Face à larga utilização e glifosato a nível mundial, a quantidade de formulações comercializadas é elevada. A mais comumente utilizada, é feita a base do sal de isopropilamina associado ao surfactante polioxietileno amina (POEA) e água (Amarante-Junior et al., 2002).

Uma gama de dados sobre a toxicidade de formulações comerciais a base de glifosato já foi investigada em diferentes espécies de anfíbios, principalmente durante as fases de embrião e larval, desde os anos 90 e alguns cientistas consideraram o surfactante POEA isolado mais tóxico para *Rana clamitans* (CL<sub>50,96h</sub> de 0,11 mg/ l) do que as formulações de glifosato (Howe et al., 2004). Entretanto, ao comparar as concentrações relatadas na literatura científica, em termos de equivalente ácido dos formulados comerciais a base de glifosato, foi possível registrar uma série de dados variando de 0,412 à 795 x 10<sup>7</sup> mg e.a./ l (glifosato), testados em anfíbios em estágios diferentes de desenvolvimento Gosner (1960). Essa variação foi notada para mais de 20 espécies de anuros, entre os estágios de desenvolvimento 17 a 30 Gosner (1960) de quatro continentes.

Em nove espécies norte americanas, o efeito do composto nos estágios 20 a 25G apresentaram toxicidade letal nas seguintes concentrações (mg e.a./ l): *Rana pipiens* - 20G apresentou CL<sub>50,96h</sub> = 6,5 (6,1-6,8); *R. clamitans* - CL<sub>50,96h</sub> foi de 7,1 (6,6 - 7,6) para girinos no estágio 20G; e já no estágio 25G a CL<sub>50,96h</sub> variou de 2,0 (1,9-2,2) à 17,9; mas, quando exposta por 16 dias apresentou CL<sub>50,16d</sub> de 1,63. *R. sylvatica* em 20G a CL<sub>50,96h</sub> foi acima de 8,0 e em 25G a CL<sub>50,16d</sub> variou de 0,41 à 0,99; *R. sphenoccephala* em 25G a CL<sub>50,96h</sub> variou de 1,33 (1,22-1,45) à 2,05 (1,90-2,20); *R. catesbeiana* em 25G a CL<sub>50,96h</sub> variou de 1,97 (1,89-2,06) à 2,77 (2,66-2,89) e a CL<sub>50,16d</sub> foi de 1,55; *Bufo fowleri* em 25G a CL<sub>50,96h</sub> variou de 1,96 (1,89-2,04) à 4,21 (4,08-4,33); *Bufo americanus* em 20G a CL<sub>50,96h</sub> foi de 8,0 e em 25G foi menor que 4,0 mas, a CL<sub>50,16d</sub> foi de 1,89; *Hyla chrysoscelis* em 25G a CL<sub>50,96h</sub> variou



de 2,50 (2,38-2,63) à 3,26 (3,14-3,38); *Hyla versicolor* a  $CL_{50,16d}$  foi de 1,01 (Moore et al. 2012; Fuentes et al., 2011; Howe et al., 2004; Relyea, 2005a, 2005b; 2005c).

Para o sudoeste australiano foram identificadas apenas três espécies, já testadas com o glifosato, porém todas no estágio 25G, resultando nas seguintes concentrações (mg e.a./ l de glifosato): *Litoria moreia*  $CL_{50,48h}$  variou de 0,83 à 683; *Heliopurus eyrei* a  $CL_{50,48h}$  variou de 0,89 à 411; e *Crinia insignifera* a  $CL_{50,48h}$  variou de 1,03 à 513 (Mann & Bidwell, 1999, 2001; Relyea & Jones, 2009). Para a América do Sul identificou-se oito espécies nos estágios 17 ao 30G, que já tiveram seus efeitos registrados após exposição ao glifosato, resultando nas seguintes concentrações (mg e.a./ l): *Scinax nasicus* (18 à 24G) a  $CL_{50,48h} = 0,98$  e a  $CL_{50,96h} = 1,98$  (1,64-2,13), no entanto a espécie nos estágios (26-27G) apresentou  $CL_{50,96h} = 3,95$ . *Physalaemus gracilis* (17-18G) a  $CL_{50,96h} = 795 \times 10^7$ ; *P. albonotatus* (25G) a  $CL_{50,96h} = 4,03$ ; *P. cuvieri* (25G) a  $CL_{50,96h}$  variou de 0,53 (0,47-0,61) à 1,60; *P. centralis* (25G) a  $CL_{50,96h} = 14,77$ ; *Rhinella marina* (25G) a  $CL_{50,96h} = 24$ ; *R. ictérica* (25G) a  $CL_{50,96h} = 0,83$  (0,75-0,95); *R. arenarum* (29-30G) a  $CL_{50,48h}$  foi de 0,99 (0,868 – 1,129); mg e.a./ l de glifosato (Almeida et al., 2019; Trindade, 2017; Costa & Nomura, 2016; Figueiredo & Rodrigues, 2014; Lajmanovich et al., 2013; Simioni et al., 2013; Lajmanovich et al., 2003a, 2003b).

A espécie asiática *Euflyctis cyanophlyctis* (Índia) (26 a 30G), apresentou toxicidade letal variando de  $CL_{50,10d}$  de 2,12 à  $CL_{50,96h} = 3,76$  mg e.a./ l de glifosato (Yadav et al., 2013). É provável que, os girinos tornam-se mais resistentes à medida que se aumenta o tempo de exposição ao glifosato (Yadav et al., 2013), para as espécies (*E. cyanophlyctis*, *R. clamitans*, *R. sylvatica*, *B. americanus*), conforme verificado a variação de valores (e.a.) após aumentado o tempo de exposição de quatro para dez ou dezesseis dias citados anteriormente.

Das vinte e uma espécies identificadas na bibliografia, destaca-se a mais sensível ao glifosato (*R. sylvatica* à 0,41 mg e.a./ l) e a mais resistente (*P. gracilis*  $CL_{50,96h}$  de  $795 \times 10^7$  mg e.a./ l). No entanto, observa-se também que *P. cuvieri* no mesmo estágio de desenvolvimento (25G), apresenta variação nas concentrações letais ao glifosato no Brasil (0,53 a 1,60 mg e.a./ l), assim como também registrado em nossos resultados para *P. cuvieri*, além disso, no estágio 24G, foi mais sensível Roundup Original® ( $CL_{50,96h}$  de 0,702 mg e.a./ l).

Outro fator que acreditamos estar relacionado às alterações das concentrações de e.a. para uma mesma espécie e estágio é o contato histórico e tolerâncias específicas. Percentuais diferentes contidos no formulado comercial do glifosato empregado nos testes ecotoxicológicos, apresenta variabilidade em termos de e.a. contido em cada produto comercial e isso pode influenciar nas diferenças de toxicidade letal de girinos. Para tanto, essas diferenças de sensibilidades registradas para espécies diversas (*S. nasicus*, *P. gracilis*), incluindo as estudadas no presente trabalho (*P. cuvieri*), podem se reportarem a indivíduos, em diferentes estágios de desenvolvimento ou terem sido usadas formulações comerciais com composições diferentes. Com base nisso e, conferindo a composição do rótulo do produto comercial, registramos a composição de 37% de glifosato, enquanto Costa & Nomura (2016), utilizaram um formulado com 48% de glifosato.

Cabe ressaltar que, as informações apresentadas aqui contabilizam mais de dez formulações comerciais do glifosato empregadas pelos diversos cientistas, identificando-se composições que variaram de 25,2 até 48% de glifosato (conforme registrado pelo autor do trabalho). Mann & Bidwell (1999), acreditam que os girinos no estágio 20G podem ser mais tolerantes, já que ainda não apresentam alimentação por ingestão oral (nutrição exclusivamente via saco vitelino), não ingerem fontes de alimentos potencialmente contaminados, tendo a sensibilidade aumentada com a organogênese, metabolismo e desenvolvimento imunológico.

Para Almeida et al. (2019), a diferença de sensibilidade entre as espécies pode estar relacionada a discrepância no tamanho corpóreo, sendo que animais maiores são mais resistentes às perturbações. É passível que, as amostras biológicas de anuros utilizadas tenham tido contato com pastagens, induzindo a maior sensibilidade a girinos (*P. cuvieri* dos testes em 24G, 0,702 mg e.a./ l), justificando dessa forma, os resultados extremos (*P. cuvieri* em 25G, 16,79 mg e.a./ l), apresentando maior resistência ao glifosato do que aqueles que não tiveram contato com resíduos provenientes de ambiente antropizados.

No presente trabalho, observou-se que o meio de diluição influenciou a sensibilidade de girinos de *P. cuvieri*, no estágio 25G, o glifosato, sendo a toxicidade deste composto ligeiramente superior em Fetax *softwater* do que em Fetax

*hardwater*. A toxicidade do Roundup® à espécie *P. azurea* (24G)  $CL_{50,96h}$  de 16,96 mg e.a./ l, também em solução artificial de Fetax *Hardwater*. Apesar de se tratar de famílias distintas (Hylidae x Leiupedidae), o estágio de desenvolvimento (25G), o meio empregado (*Hardwater*) resultaram em toxicidades muito semelhantes (*P. cuvieri*  $CL_{50,96h}$  16,79 mg e.a./ l).

Alguns estudos, desenvolvimento (24G de *P. azurea*), experimentaram mortalidade significativa, em todos os níveis químicos entre 14,10 a 33,26 mg e.a./ l. Para a concentração mais baixa testada (14,10 mg e.a./ l)<sub>96h</sub>, a mortalidade atingiu 36% dos organismos testados e a partir da 24,99 mg e.a./ l, a mortalidade foi de 100% logo nas primeiras 24 horas (Figura 4.2D), independentemente, de terem sido expostos em qualquer outro estágio, o tempo de exposição, de curta duração foi igual a todos os grupos experimentais (96 h). A eficiência de alguns herbicidas (nomeadamente glifosato) pode ser reduzida em águas mais duras (Devkota & Johnson, 2020), dando indicação de uma menor atividade biológica. Este fato pode estar relacionado com a maior concentração dos íons cálcio no meio Fetax *hardwater*. O composto glifosato apresenta carga negativa, pelo que facilmente, se pode ligar a cátions como o cálcio, presentes no meio. Ao se ligar a estes íons, a sua estrutura química, altera-se podendo torná-lo menos biodisponível para os organismos (Andrighetti et al., 2014; Moraes & Rossi, 2010; Silva, 2009; Araújo et al., 2003; Amarante-Junior et al., 2002).

Os resultados do presente estudo, corroboram com Howe et al. (2004), que o estágio larval dos girinos de *P. cuvieri* parece ser um fator responsável pela variação da sensibilidade à toxicidade aguda. Foi efetuada uma pesquisa sobre concentrações de glifosato em água superficial, no entanto encontraram-se poucos valores. Este fato deve-se à metodologias para a sua análise ainda ser complexa, devido ser rapidamente hidrolisado em água, adsorvidos em sedimentos ou prontamente degradados no solo (Younes & Galal-Gorchev, 2000), sendo mais comum a quantificação do seu principal metabólito AMPA (Neskovic et al., 1996), o qual não foi alvo desta pesquisa. Tsui & Chu (2008) reportaram valores de glifosato entre 1761 e 2191 µg/ l de glifosato em águas superficiais na região de Hong Kong.

Conforme Conama 357/2005 o valor máximo permitido de resíduos de glifosato em águas superficiais de Classe 3 (Brasil), é 0,21 e.a./ l. Portanto, os

valores relatados pela bibliografia configuram que os girinos de *P. cuvieri*, *L. Labyrinthicus* e *P. azurea* estão expostos a contaminação por glifosato em áreas onde ocorra o uso do composto.

### 3.2. Efeitos subletais das formulações Score®, Larvin® e Roundup Original®

Na Tabela 4.8 estão indicadas as concentrações máximas de efeitos não observável (CENO) e concentrações de efeito observável (CEO) relativas aos comprimentos (total, do corpo e da cauda) e do peso de girinos de *P. cuvieri*, expostos às formulações comerciais de estudo: Score®, Larvin® e Roundup Original®.

Em relação a exposição de girinos de *P. cuvieri* 24G, à formulação comercial Score® (Tabela 4.8) não observamos efeitos significativos ( $p > 0,05$ ), no comprimento corporal (Figura 4.3I) ou no comprimento total (Figura 4.3K). No entanto, registou-se aumento significativo do comprimento da cauda dos girinos (média  $\pm$  desvio padrão: 12,60  $\pm$  1,44 mm) quando expostos à concentração mais baixa testada (0,94 mg i.a./ l), comparativamente à cauda dos girinos (12,10  $\pm$  1,45 mm) expostos sob condições controle ( $p < 0,005$ ; Figura 4.3J).

**Tabela 4.8:** Valores de concentrações subletais medianas de efeito não observável - CENO e de efeito observável - CEO, obtidos após uma exposição de 96 h de girinos de *Physalaemus cuvieri*, às formulações comerciais, Score®, Larvin® e Roundup Original®. Todos os valores estão em mg/ l, sendo (e.a.) de glifosato e (i.a.) de difenoconazol, sendo que os dois primeiros compostos estão em (i.a.) e o Roundup Original® em (e.a.) de glifosato.

QUÍMICO (Estágio Gosner)	Girinos de <i>P. cuvieri</i> (96h)/ CENO e CEO (mg i.a. ou e.a./ l)			
	Parâmetros	CENO	CEO	Concentrações testadas
Score® (24G)	CCO	3,37	>3,37	0,94 à 7 mg i.a./ l de difenoconazol
	CC	3,37	>3,37	
	CT	3,37	>3,37	
	M	3,37	>3,37	
Larvin® (25G)	CCO	1,7	2,5	1,4 à 4,4 mg i.a./ l de tiodicarbe
	CC	4,4	4,4	
	CT	1,7	2,5	
	M	2,5	3,0	

**Tabela 4.8: Valores de concentrações subletais medianas de efeito não observável - CENO e de efeito observável - CEO, obtidos após uma exposição de 96 h de girinos de *Physalaemus cuvieri*, às formulações comerciais, Score®, Larvin® e Roundup Original®. Todos os valores estão em mg/l, sendo (e.a.) de glifosato e (i.a.) de difenoconazol, sendo que os dois primeiros compostos estão em (i.a.) e o Roundup Original® em (e.a.) de glifosato (Continuação).**

<b>Roundup Original® (25G)</b>	CCO	5,21	6,20	
	CC	10,72	12,86	
	C	12,86	> 12,86	2,49 à 12,86 mg e.a./l de glifosato
	T	12,86	> 12,86	
	M			

Legenda: CENO = dose máxima que não apresenta efeitos adversos observáveis no girino expostos ao Roundup®; CEO = dose mais baixa que não apresenta efeitos adversos observáveis no girino expostos ao Roundup®; S = Sem registro de medidas às 96 horas de exposição; Biometria: todos os girinos foram medidos e pesados antes e após o final do teste; CCO = comprimento do corpo do girino (mm); CC = comprimento da cauda do girino (mm); CT = comprimento total do girino (mm); M = biomassa (g); G = estágio de desenvolvimento dos girinos conforme Gosner (1960).

Em termos de biomassa houve diminuição significativa na biomassa dos girinos ( $0,0034 \pm 0,0012$  g), expostos a 1,63 mg i.a./l de Score® comparativamente, aos girinos ( $0,0046 \pm 0,0012$  g) do grupo controle ( $p < 0,05$ ; Figura 4.3L), com valores determinados de CENO de 1,36 mg i.a./l e de CEO de 1,65 mg i.a./l. Para duas das mais altas concentrações testadas (1,95 e 3,37 mg i.a./l), os resultados dos dados morfológicos não foram considerados na análise de variância realizada, em razão de restar apenas um girino sobrevivente em cada uma delas, ao final do ensaio. Apesar de se apresentarem aqui estes resultados, deve-se realçar que as concentrações onde foram observados efeitos no comprimento e no peso são superiores ao valor da CL<sub>50</sub> (1,79 mg i.a./l de difenoconazol), o que sugere que os organismos que estariam nestas concentrações (uma vez que a mortalidade se apresente elevada), são valores muito próximo ou acima da CL<sub>50</sub>, sendo portanto, os efeitos observados (no comprimento e peso) já estão relacionados com mecanismos de total desregulação nos organismos.

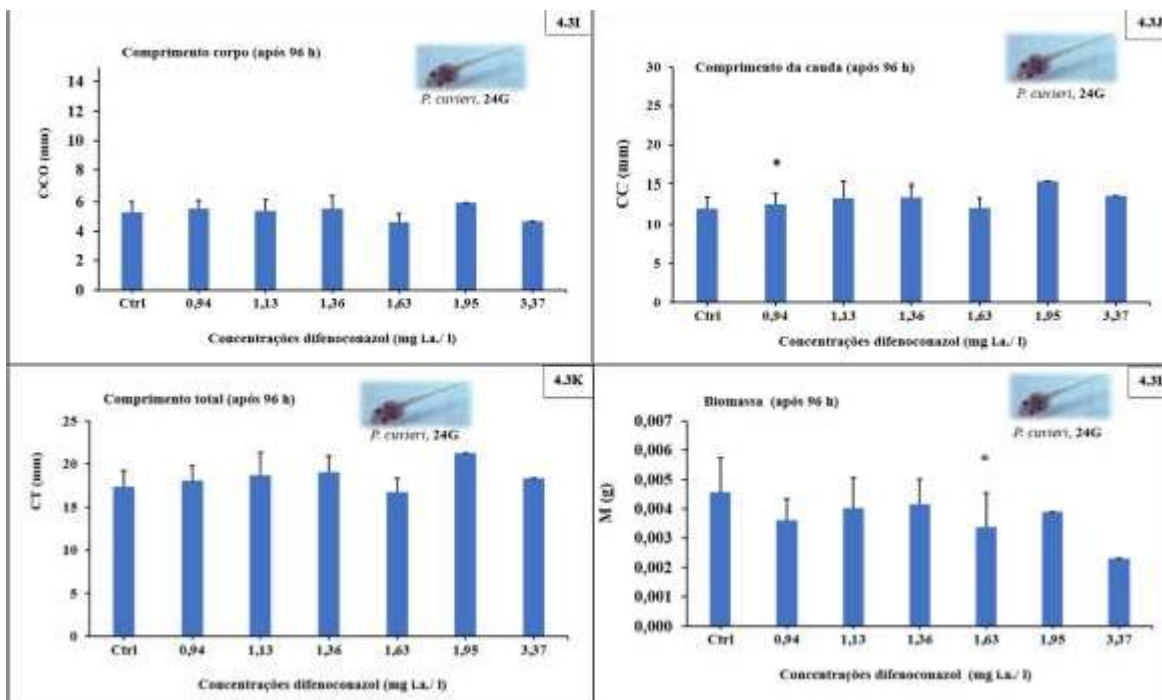


Figura 4.3: Valores das medidas medianas corpóreas (mm) e de biomassa (g) ocorrida em girinos de *P. cuvieri* expostos, por um período de 96 h, a várias concentrações de Score® (expressas nos gráficos em mg/l de difenoconazol). I. CCO = comprimento do corpo; J. CC = comprimento da cauda; K. CT = comprimento total do girino; L. M = biomassa. Ctrl (Controle) = réplicas controles em meio artificial Fetax *softwater*. As barras de erro representam o desvio padrão.

Considerando que, quanto menor é a dose necessária para produzir efeito nocivo, mais tóxica é a substância (Sisino & Oliveira-Filho, 2013), apesar dos comprimentos corporal e total não terem sofrido efeitos significativos, nos ensaios de laboratório realizados, o Score® mostra ser de alto risco ao desenvolvimento de girinos de *P. cuvieri* (24G), em diferentes fases de desenvolvimento dos anfíbios, principalmente embrionário. O difenoconazol além de provocar mortalidade de 100% dos girinos de *P. cuvieri* à 7 mg/l, quanto uma série de efeitos subletais à saúde de *P. cuvieri* é impactada ainda que em dosagem baixa, e não letal. Tais efeitos subletais poderão acontecer também aos girinos, já que concentrações semelhantes às aqui testadas em girinos de *P. cuvieri* (0,95 à 3,37 mg i.a./ l), que apresentam semelhantes mecanismos de detoxificação dos compostos. Registramos aqui em nossos estudos que o difenoconazol foi capaz de provocar efeitos subletais em valores de CENO a 1,63 mg i.a/ l, em *P. cuvieri* quanto ao aumento do comprimento da cauda e perda de peso dos girinos no estágio 24G.

O composto é utilizado em áreas agrícolas Tocantins (Campo, 2002; Embrapa, 2008), onde é comum a presença da espécie *P. cuvieri*, que se reproduz de outubro a março (Moutinho, 2013; Leite et al., 2006; Negri, 2015; Lopes, 2013), coincidindo a época de reprodução com aplicação do Score® na agricultura, conseqüentemente, aumentando o risco de exposição durante o desenvolvimento dos girinos que habitam o local. É fato que, fontes agrícolas originam contaminação que coloca os anfíbios em risco e de acordo com Smalling et al. (2015), a perda de habitat e a exposição a pesticidas contribuem para o declínio de anfíbios nessas áreas, exemplificado pela detecção de oito fungicidas em tecidos das espécies *Pseudacris maculata* e *Lithobates pipiens*, capturadas em área sob a influência de escoamento superficial e subterrâneo de agricultura (Smalling et al., 2012; Smalling et al., 2013), possibilitando o acúmulo nos girinos tornando-os mais vulneráveis a outros fatores (Smalling et al., 2015).

As espécies dulcícolas tropicais mostraram ser mais sensíveis ao difenoconazol do que as de regiões temperadas (Moreira et al., 2017), sendo os girinos de *P. cuvieri* tão mais sensíveis, tornando aceitáveis hipóteses como: espécies nativas nas avaliações de efeitos tropicais por razões, que incluem: i) avaliação ecológica relevante real sensibilidade e do potencial risco às espécies tropicais dulcícolas; ii) disponibilidade direta e, portanto, menos restrições logísticas; e iii) evitar a introdução de espécies anuros de regiões temperadas em ecossistemas tropicais. Comprovadamente de fácil obtenção em campo e manutenção em laboratório a espécie *P. cuvieri*, por apresentar toxicidade a outros compostos químicos (Almeida, 2014; Sturza, 2017; Vargas, 2017; Wagner et al., 2017), seria um organismo importante para integrar o grupo de indicadores biológicos de poluição em testes nas avaliações de risco aquático tropical onde ocorra naturalmente, como o Brasil.

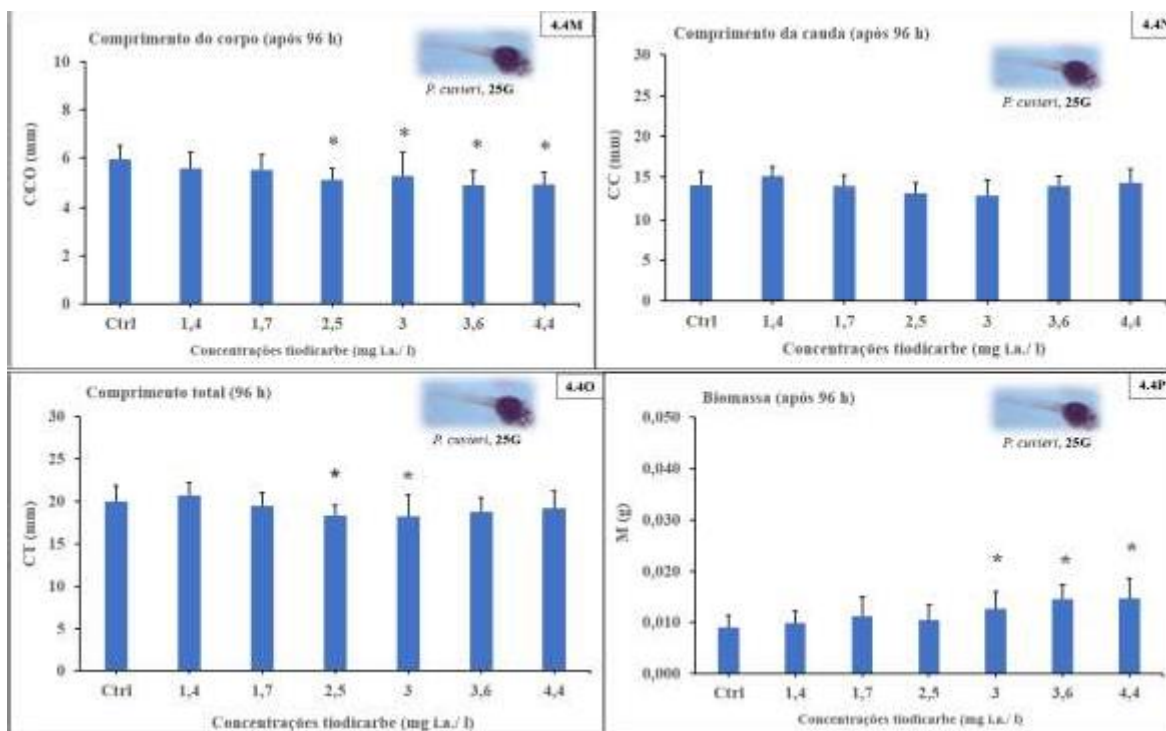


Figura 4.4: Média das medidas (mm) e de biomassa (g) ocorrida em girinos de *P. cuvieri* expostos, por um período de 96 h, a várias concentrações de Larvin® (expressas nos gráficos em mg/L de dieldrin). M. CCO = comprimento do corpo; N. CC = comprimento da cauda; O. CT = comprimento total do girino; P. M = biomassa. Ctrl (Controle) = réplicas controles em meio artificial Fetax (*softwater*). As barras de erro representam o desvio padrão.

Os ensaios laboratoriais realizados para girinos com o Score®, não empregaram repetição da aplicação da dose, e, por curto período foi desenvolvido, mostrando que concentrações subletais, na água induziram mudanças morfológicas, em termos de comprimentos e biomassa. Além do Score® ser classificado como tóxico para organismos diversos, possui capacidade de bioacumulação em animais, ecossistema, potencial de ser mutagênico, carcinogênico ou teratogênico (Brasil, 2013), os girinos se mostraram suscetíveis ao Score®, em exposição aguda capaz de provocar impactos subletais, desenvolvendo alterações em *P. cuvieri* na fase de desenvolvimento larval 24G, momento em que estão em formação estruturas corpóreas e influenciam na sua sobrevivência (Gonçalves et al., 2017; Sparling, 2003), promovendo estresse químico e diminuindo sua resposta imune. Esses efeitos acarretam redução da alimentação e da mobilidade (natação) de girinos, resultando em severa perda de peso e alta mortalidade dos indivíduos (Rouse et al., 1999; Rowe et al., 1998), conforme constatamos, no presente estudo que a severidade dos efeitos está



proporcionalmente relacionada com o aumento das concentrações de Score®.

Os girinos de *P. cuvieri* 25G, expostos à formulação comercial Larvin® (Tabela 4.8), não apresentaram efeitos significativos no comprimento da cauda ( $p > 0,05$ ; Figura 4.4N), pelo que registamos o CENO equivalente a maior concentração testada (de 4,4 mg i.a./ l) e o CEO sendo valor maior que 4,4 mg i.a./ l. No entanto, registrou-se redução significativa do comprimento corpóreo (Figura 4.4M) dos girinos (que variou em média  $\pm$  desvio padrão:  $5,10 \pm 0,47$ ), quando expostos a concentrações acima de 2,5 mg i.a./ l, comparativamente ao corpo dos girinos ( $5,95 \pm 0,55$  mm) expostos sob condições controle ( $p < 0,005$ ; Figura 4.4M), com determinação de valores CENO de 1,7 mg i.a./ l e CEO de 2,5 mg i.a./ l. Os girinos apresentaram redução no comprimento total, quando expostos em concentrações intermediárias de 2,5 mg i.a./ l resultado em (média  $\pm$  desvio padrão:  $18,36 \pm 1,16$  mm), a 3,0 mg i.a./ l ( $18,23 \pm 2,55$  mm), comparativamente ao comprimento total dos girinos ( $19,96 \pm 1,88$  mm), expostos sob condições controle ( $p < 0,005$ ; Figura 4.4O), sendo o CENO de 1,7 mg i.a./ l e CEO de 2,5 mg i.a./ l. Também, registrou-se aumento significativo na biomassa dos girinos de *P. cuvieri*, (variando de  $0,013 - 0,015 \pm 0,003 - 0,004$  g), comparativamente à biomassa dos girinos ( $0,0090 \pm 0,0024$ ), expostos sob condições controle ( $p < 0,005$ ; Figura 4.4P), quando expostos a concentrações acima de 3,0 mg i.a./ l, tendo sido determinado o valor de CENO de 2,5 mg i.a./ l e CEO de 3,0 mg i.a./ l. Em nossas pesquisas bibliográficas não identificamos dados de toxicidade relacionados ao tiodicarbe em invertebrados aquáticos e anfíbios.

Observamos em nossos resultados morfométricos que modificações corpóreas quando expostos ao tiodicarbe quando comparado ao controle do teste os organismos não estariam se desenvolvendo normalmente e diferenças foram registradas tais como: a redução do corpo e da biomassa dos girinos de *P. cuvieri*, após o estágio 25G a CENO de 1,7 mg i.a./ l e CEO de 2,5 mg i.a./ l, sendo que os girinos voltaram a ter ganho de peso a partir do estágio 25G, coincidindo com a estagnação de absorção da cauda, cuja função é a de nutrição e mecanismo de defesa dos girinos (McDiarmid & Altig, 1999b)

Para Denver (2013), os girinos podem modificar o formato do seu corpo em resposta ao estresse químico ou ainda mediante risco de pedração. Mas ainda

poucos são os estudos a respeito dos mecanismos fisiológicos básicos que medeiam a resposta. “plasticidade fenotípica’ modificações de animais em resposta à um ambiente que se modifica. Mudanças principalmente na cauda dos girinos podem ocorrer em decorrência de modificações em fatores bióticos, como presença/ausência de predadores ou abióticos, como temperatura, quantidade do volume de água, como variação da morfologia dos girinos de *Dendropsophus elegans* nas populações estudadas foram registradas na altura da musculatura caudal, altura máxima da cauda, largura da musculatura caudal, comprimento do corpo e da cauda (Araújo & Junca, 1960).

Os girinos apresentam diversos mecanismos de defesa morfológicos, comportamentais e fisiológicos, a impalatabilidade, produzida pelo acúmulo de substâncias tóxicas na pele, é um mecanismo comum em muitas linhagens de anfíbios (Costa & Nomura, 2014).

Para a exposição de girinos de *P. cuvieri* 25G, à formulação comercial Roundup Original® (Tabela 4.8), não observamos efeitos significativos no comprimento total e na biomassa ( $p > 0,05$ ; Figura 4.5 S e T, respectivamente), pelo que registramos a CENO igual à 12,86 mg e.a./ l e a CEO maior que 12,86 mge.a./ l.

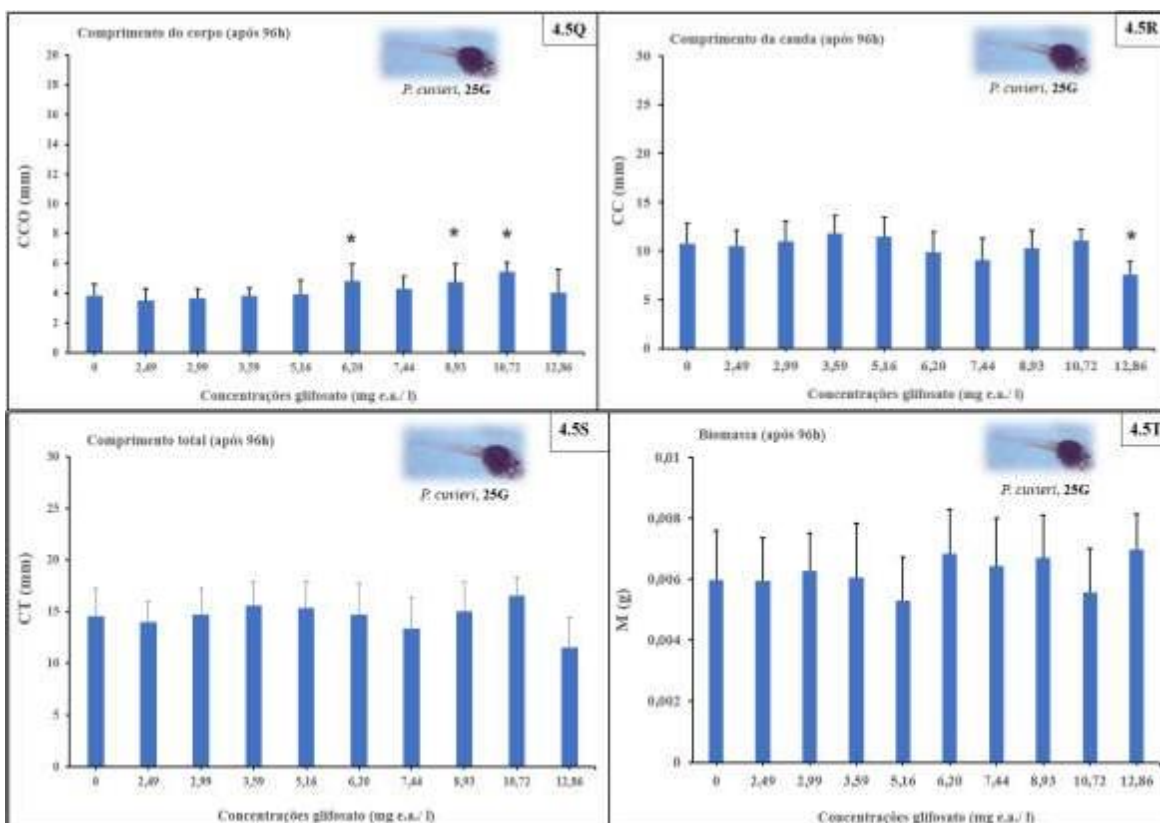


Figura 4.5: Média das medidas (mm) e de biomassa (g) ocorrida em girinos de *P. curvieri* expostos, por um período de 96 h, a várias concentrações de Roundup Original® (expressas nos gráficos em mg e.a./ l de glifosato). M. CCO = comprimento do corpo; N. CC = comprimento da cauda; O. CT = comprimento total do girino; P. M = biomassa. Ctrl (Controle) = réplicas controles em meio artificial Fetax (*softwater*). As barras de erro representam o desvio padrão.

Quanto ao comprimento da cauda (Figura 4.5R) dos girinos sobreviventes a CENO foi de 10,72 mg e.a./ l e a CEO de 12,86 mg e.a./ l. No entanto, neste caso precisamente, o comprimento do corpo dos girinos, tiveram efeitos em concentrações intermediárias (7,46 – 10,74 mg e.a./ l), pouco comum, (média  $\pm$  desvio padrão que variaram: 9,90 - 10,27  $\pm$  2,02 - 1,79 mm), e registrou-se redução significativa no comprimento do corpo dos girinos (7,52  $\pm$  1,38 mm) quando exposto a concentração de 12,86 mg e.a./ l, todos comparativamente, ao corpo dos girinos (10,73  $\pm$  2,06 mm), expostos sob condições controle ( $p < 0,005$ ; Figura 4.5Q), sendo a CENO de 5,21 mg e.a./ l e a CEO de 6,20 mg e.a./ l. Até então, e de nosso conhecimento, os efeitos subletais do glifosato registrados pela literatura científica abordam valores para espécies variadas de girinos de anfíbios, em escala mundial conforme Fuentes et al., (2014); Fuentes et al., (2011); Fuentes, (2008), verificaram a influência do sedimento em testes de toxicidade de formulados a base de

glifosato, em girinos de seis espécies de anfíbios (estágio 25G), registrando os seguintes valores de CEO e CENO, respectivamente (mg e.a./l): **Sem sedimento (mg e.a./l de glifosato):** *H. chrysoscelis* CEO (variou de 2,10 à 2,87) CENO (1,74 à 2,48); *R. pipiens* CEO (1,32 à 1,68) CENO (1,29 à 1,65); *R. catesbeiana* CEO (1,37 à 2,52) CENO (1,33 à 2,02); *R. shenocephala* CEO (0,98 à 1,81) CENO (0,68 à 1,52); *R. clamitans* CEO (2,37 à 3,68) CENO (1,91 à 3,27); *B. fowleri* CEO (1,56 à 3,95) CENO (1,54 à 3,40). **Com sedimento (mg e.a./l de glifosato):** *H. chrysoscelis* CEO (variou de 2,80 à 2,85) CENO (2,26 à 2,76); *R. pipiens* CEO (2,60 à 3,86) CENO (2,20 à 2,95); *R. catesbeiana* CEO (3,0 à 4,90) CENO (2,75 à 4,48); *R. shenocephala* CEO (3,95 à 4,55) CENO (2,26 a 3,53); *R. clamitans* CEO (3,98 a 7,03) CENO (2,37 a 5,34); *B. fowleri* CEO (2,78 à 5,20) CENO (2,73 à 4,41). Registros também foram feitos por Moore et al. (2012), em cinco espécies de anfíbios (25G), resultando nas concentrações (mg e.a./l de glifosato): *R. pipiens* CEO ( $CL_{50,96h} = 1,80$ ) e CENO de 1,29; *H. chrysoscelis* CEO ( $CL_{50,96h} = 2,50$ ) e CENO = 1,74; *R. catesbeiana* CEO ( $CL_{50,96h} = 2,77$ ) e CENO = 2,02; *R. clamitans* CEO ( $CL_{50,96h} = 4,22$ ) CENO = 3,27; *B. fowleri* CEO ( $CL_{50,96h} = 4,21$ ) CENO = 3,40. No Brasil, os efeitos de toxicidade também já foram apresentados para a espécie *P. cuvieri* (25G) por Skovronski (2019), CEO de 1000 µg/l e CENO de 500 µg/l de glifosato em mistura com 2,4-D (ácido diclorofenoxiacético).

Evidenciamos que as concentrações mais baixas foram registradas em *R. shenocephala* (CEO de 0,98) e o registro mais elevado foi em espécie brasileira (*P. cuvieri* à CEO de 1000 µg/l) e na sequência a *R. clamitans* à CEO = 7,03 mg e.a./l de glifosato. Diante dos registros apresentados, observamos que a *R. shenocephala* é a mais sensível e a mais resistente é a *P. cuvieri*. No entanto, cabe ressaltar que a *P. cuvieri* apresentou elevada tolerância ao glifosato (CEO de 1000 µg/l de glifosato), utilizando-se Roundup Original® quando testado em mistura com o 2,4-D (ácido diclorofenoxiacético).

O equivalente ácido de glifosato contido nas formulações demonstra provocar diferentes sensibilidades entre espécies de anfíbios durante o seu desenvolvimento (Skovronski, 2019; Fuentes et al., 2014; Fuentes et al. 2011; Fuentes, 2008) a partir do momento que é adicionado, quer seja sedimento, quer seja 2,4-D ao glifosato. Sedimentos e matéria vegetal presentes em sistemas

aquáticos e piscinas efêmeras fornecem locais significativamente mais vinculativos para o glifosato e o surfactante em comparação com uma massa relativamente pequena de ligantes de anuros em um estágio sensível de desenvolvimento. Mesmo se usados de acordo com as instruções de rótulo, as formulações do Roundup (Original® e WeatherMAX®) devem representar risco mínimo para anfíbios anuros em aplicações reais de campo.

Com base nos dados bibliográficos e nos nossos resultados apresentados nesta Tese, a *P. cuvieri* (25G) a CEO (variou de 6,20 à 12,86 mg e.a./ l de glifosato), verificamos que concentrações menores que essas foram registradas nos estudos provocando alterações morfológicas (intestino e boca dos girinos), dano ao DNA de girinos de espécie tropical, como por exemplo *Dendropsophus minutus* (Carvalho; et al., 2018). Todos os herbicidas a base de glifosato (glifosato 1 mg/ l), Roundup Original® (1 mg e.a./ l) e do Roundup Transorb R® (1 mg e.a./ l), testados por Rissoli (2012), provocaram um nível de atividade dos girinos de *Lithobates catesbeianus* significativamente elevado apenas pela exposição ao glifosato, sugerindo resposta de fuga ao estímulo estressor que poderia desviar energia dos processos morfogenéticos, além de alterações morfológicas no tecido cutâneo, incluindo inchaço celular e conseqüente espessamento da parede epitelial, ruptura de cromátides nos girinos. Nossos resultados, reforçam que os dados registrados (por serem valores de concentrações situadas próximas ou acima da CL<sub>50</sub>), indicam que os organismos de *P. cuvieri* estão expostos além da mortalidade, à severas alterações de seu estado fisiológico.

Com relação aos nossos resultados cabe ressaltar que, à luz dessas observações, é possível perceber menor toxicidade para o Roundup Original®, em girinos da espécie *P. cuvieri*, 25G, em Fetax *softwater*, evidenciados pelos registros de efeitos significativos em concentrações intermediárias de 7,46 – 10,74 mg e.a./ l, com reduções no comprimento do corpo (média ± desvio padrão que variaram: 9,90 - 10,27 ± 2,02 - 1,79 mm). Conforme observado por Wrublewski (2016), para a mesma espécie, alguns organismos podem adquirir resistência a pesticidas após as primeiras 24 horas de exposição (que são decisivas). Essa situação pode ter ocorrido com os girinos sobreviventes às diferentes concentrações de Roundup Original®, evidenciada pela variação dos efeitos observados para o comprimento

do corpo de girinos de *P. cuvieri*, em concentrações intermediárias (7,46 – 10,74 mg/ l) e com corpo pouco desenvolvido na concentração mais alta, imediatamente na concentração subsequente, a assimetria no tamanho apresentado pelos girinos. Os valores de CENO derivados desses dados contribuíram com dados na tentativa de ajudar a prever o risco de efeitos adversos de exposições a herbicidas.

### 3.3. Curva de distribuição de sensibilidade de espécies de anfíbios anuros à Roundup®

Tal como referido na secção de Material e Métodos deste capítulo, a pesquisa bibliográfica efetuada para recolha de valores de CL<sub>50,96h</sub> para formas larvais de anfíbios, apenas permitiu identificar valores para o pesticida Roundup Original®.

A maior parte dos valores de CL<sub>50,96h</sub> disponíveis na literatura científica referem-se a espécies de anfíbios de regiões temperada; de todas as espécies representadas na curva de distribuição de sensibilidades, apenas quatro são nativas de regiões subtropicais/tropicais (*E. cyanophlyctis*, *P. cuvieri*, *P. azurea* e *X. laevis*), esta última sendo uma espécie modelo mantida em laboratório por vários anos (Figura 4.6). Estes resultados confirmam a necessidade de se gerar conhecimento relativo à toxicidade de pesticidas para espécies de anfíbios de regiões tropicais, pois para além do uso elevado de pesticidas nessas regiões, elas são reconhecidas como albergando a maior diversidade deste grupo de vertebrados, o que pode indicar a existência de espécies muito sensíveis a pesticidas, cuja sensibilidade a estes compostos ainda não foi estudada (Carvalho; et al., 2018; Collins & Fahrig, 2017; Yadav et al., 2013; Andrade et al., 2007; Mouchet et al., 2007; Pilliod et al., 2003).

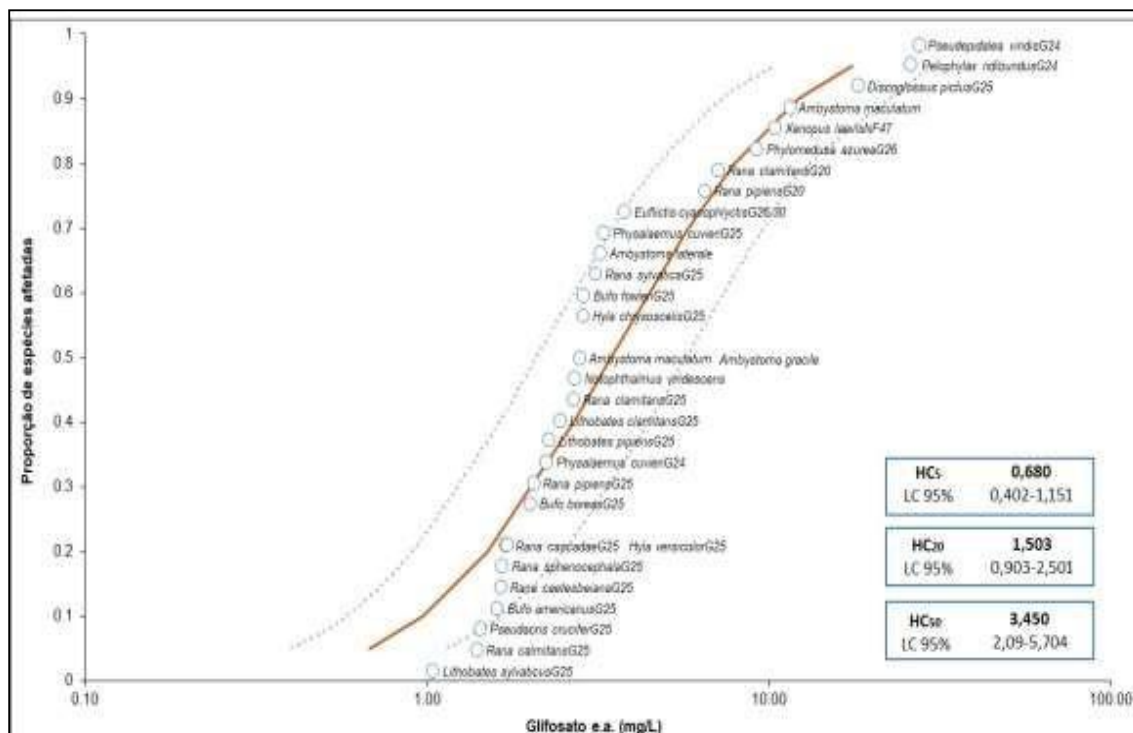


Figura 4.6: Curva de distribuição de sensibilidade (linha laranja) de girinos de para níveis letais de Roundup®, com o respectivo intervalo de confiança a 95% (linhas cinzentas). Os valores apresentados correspondem a valores de concentração letal mediana de Roundup®, expressas em equivalente ácido de glifosato, após 96 horas de exposição. HC<sub>x</sub> = concentrações de perigo que afetam cinco, vinte e cinquenta por cento dos girinos de anfíbios. A unidade de medida utilizada para a HC foi miligramas por litro (mg/ l).

A curva de distribuição de sensibilidades construída com os valores de CL<sub>50,96h</sub> de Roundup® (expresso como equivalente ácido -e.a.- de glifosato) para girinos de diversas espécies de anfíbios está representada na Figura 4.6. O valor estimado de concentração de perigo para 5%, 20% e 50% de espécies de anfíbios foi de 0,680; 1,151 e 3,450 mg/ l e.a. de glifosato, respectivamente. Comparando estes valores com dados reportados na bibliografia relativos a concentrações de glifosato em águas superficiais (ex. 0.10 a 0.56 mg/ l), (Peruzzo et al., 2008), preveem-se que este herbicida possa constituir risco a estágios de vida aquáticos de anfíbios. Não se identificou uma associação entre sensibilidade a Roundup® e espécies de diferentes regiões geográficas, sendo que as espécies identificadas, quer como as mais sensíveis, quer como as mais tolerantes ao pesticida são autóctones de regiões temperadas (*L. sylvaticus*, *P. viridis* e *P. ridibundus*) (Figura 4.6). As quatro espécies tropicais apresentam uma sensibilidade intermédia a tolerante na curva de distribuição de sensibilidades (Figura 4.6). No entanto, estas

conclusões devem ser consideradas com cuidado, pois tal como já referido o número de espécies tropicais para as quais existem dados de toxicidade de glifosato (e outros pesticidas) é muito pequeno, podendo haver espécies muito sensíveis que ainda não foram estudadas.

Este é um ponto importante a ter em consideração, principalmente porque a grande diversidade específica de anfíbios que ocorre nas regiões tropicais, está associada a uma grande diversidade de modos de vida (ex. arborícola, parcialmente aquática, totalmente aquática, terrestre), de reprodução (ex. fertilização interna ou externa, posturas diretamente em sistemas aquáticos ou em ambiente terrestre úmido, presença de espuma a envolver os embriões) e de desenvolvimento (ex. desenvolvimento direto, ocorrência de metamorfose) (Campos, 2015; Oliveira, 2014; Rossa-Feres et al., 2011; Provete et al., 2011; Koppet al., 2010; Oda et al., 2009; Pombal Jr. & Haddad, 2005; Ribeiro et al., 2005; McDiarmid & Altig, 1999), entre outros, que pode influenciar as vias de exposição e sensibilidade destes organismos aos pesticidas.

Comparando a sensibilidade das espécies de anfíbios estudadas no presente trabalho com as restantes indicadas da curva de sensibilidades, observa-se que *P. azurea* apresenta uma sensibilidade a Roundup® inferior à maioria das outras espécies, enquanto *P. cuvieri*, dependendo do estágio de desenvolvimento 24G ou 25G, se aproxima mais do grupo de espécies mais sensíveis ou mais tolerantes ao pesticida, respectivamente (Figura 4.6).

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Aqui avaliou-se, na medida do possível, o risco da exposição de quatro pesticidas (Cruiser®, Score®, Larvin® e Roundup Original®), aos anfíbios de região tropical, que podem atingir corpos d'água, habitat de reprodução provenientes da agricultura, por meio do escoamento e processos de lixiviação.

O pesticida que se apresentou ser mais tóxico a girinos de anuros tropicais testados foi o herbicida Roundup Original®.

Dentre as três espécies de anuros testadas, foi a *P. cuvieri* que revelou maior sensibilidade ao Roundup Original® e a *P. azurea* foi a mais resistente ao composto, quer seja no estágio 24, quer seja no 25 Gosner (1960). No entanto, a espécie *L.*



*labyrinthicus* apresenta sensibilidade ao Roundup® em concentrações a partir de 2,60 mg e.a./ l.

A *P. cuvieri* apresentou sensibilidade ao Larvin® em concentração acima de 2,5 mg i.a./ l de tiodicarbe variando até 35% de mortalidade dos girinos.

Porém, os dados de toxicidade letal às 96 horas de exposição apontaram para sensibilidade diferencial entre estágios de desenvolvimento larval, sendo que os resultados da Distribuição de Sensibilidade das espécies - SSD revelam baixo risco de Roundup® para anfíbios.

No entanto, os efeitos subletais das quatro formulações comerciais utilizadas neste trabalho, já são registrados por trabalhos científicos aqui reunidos, e alertam para o risco de contaminação e caracterizam alterações diversas em girinos de anfíbios.

A maior quantidade de efeitos dos pesticidas já relatados pela literatura científica está direcionada para espécies tropicais para o glifosato, ficando uma lacuna para os demais compostos (tiametoxam, tiodicarbe e difenoconazol). Apesar disso, efeitos a outras espécies dulcícolas permitiu observações sobre o risco de exposição de girinos em áreas agrícolas a que essas espécies estão sujeitas.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDULLAH, A. R.; BAJET, C. M.; MATIN, M. A.; NHAN, D. D.; SULAIMAN, A. H. Ecotoxicology of pesticides in the tropical paddy field ecosystem. **Environmental Toxicology and Chemistry**, V. 16, N. 1, P. 59-70, 1997.
- ALBUQUERQUE, A. F.; RIBEIRO, J. S.; KUMMROW, F.; NOGUEIRA, A. J. A.; MONTAGNER, C. C.; UMBUZEIRO, G. A. Pesticides in brazilian freshwaters: a critical review. **Environmental Science: Processes & Impacts**, V. 00, P. 1-9, 2016.
- ALI, A.; STANLEY, B. H. Effects of a new carbamate insecticide, Larvin (Uc-51762), on some nontarget aquatic invertebrates. **The Florida Entomologist**, V.65, N. 4, P. 477-483, 1982.
- ALMEIDA, P. R. **Toxicidade aguda (LC<sub>50</sub>) e efeitos comportamentais e morfológicos do formulado comercial Roundup Original® em girinos de *Physalaemus cuvieri* (Anura, Leptodactylidae) e *Rhinella icterica* (Anura, Bufonidae)**. 2014, 96f. Dissertação (Pós-graduação) - Universidade Federal de Alfenas, Poços de Caldas/MG, 2014.
- ALMEIDA, P. R.; RODRIGUES, M. V.; IMPERADOR, A. M. Toxicidade aguda (Lc50) e efeitos comportamentais e morfológicos de formulado comercial com princípio ativo glifosato em girinos de *Physalaemus cuvieri* (Anura, Leptodactylidae) e *Rhinella icterica* (Anura, Bufonidae). **Engenharia Sanitária e Ambiental**, V. 24, P. 1115-1125, 2019.
- ALMEIDA, W. F. Agrotóxicos. **Cadernos de Saúde Pública**, V. 1, N. 2, P. 220-249, 1985.
- ÁLVARES, G. F. R. **Distribuição geográfica potencial e conservação das espécies de *Phyllomedusa***. 2009, 109f. Dissertação (Mestrado) - Universidade de Brasília, Brasília, 2009.
- ALVES, J. M. **Medida da convergência entre distintos olhares na sub-bacia hidrográfica do Ribeirão São João: indicador de sustentabilidade em planejamento participativo**. 2006, 89f. Dissertação (Pós-graduação) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis 2006.
- AMARANTE-JUNIOR, O. P. de; SANTOS, T. C. R. dos; BRITO, N. M.; RIBEIRO, M. L. Glifosato: propriedades, toxicidade, uso e legislação. **Química Nova**, V. 25, N. 4, P. 589-593, 2002.
- ANDRADE, G.; ETEROVICK, P. C.; ROSSA-FERES, D. De C.; SCHIESARI, L. Estudos sobre girinos no Brasil: histórico, conhecimento atual e perspectivas. **Herpetologia No Brasil** li, P. 127-145, 2007.
- ANDRIGHETTI, M. S.; NACHTIGALL, G. R.; QUEIROZ, S. C. N. de.; FERRACINI, V. L.; AYUB, M. A. Z. Biodegradação de glifosato pela microbiota de solos cultivados com macieira. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 38, n. 5, p. 1643-1653, 2014.
- ARANGO, H. G. **Bioestatística teórica e computacional: com banco de dados**

reais em disco. Rio De Janeiro - RJ: Guanabara Koogan, 2005. ARAÚJO,

J. O.; JUNCA, F. A. **Plasticidade fenotípica em girinos de *Dendropsophus Fitzinger*, 1843 em dois ambientes de mata Atlântica, Reserva Ecológica Michelin, Igrapiúna, Bahia e em uma área de Caatinga, Serra São José, Bahia.** Universidade Estadual de Feira de Santana, N. Cc, P.103-106, 1960.

ARAÚJO, A. S. F. de. MONTEIRO, R. T. R.; ABAKERLI, R. B.; SOUZA, L. S. de. Biodegradação de glifosato em dois solos brasileiros. **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, v. 13, 2003.

ARAÚJO, C. V. M.; SHINN, C.; MOREIRA-SANTOS, M.; LOPES, I.; ESPÍNDOLA, E. L. G.; Ribeiro, R. copper-driven avoidance and mortality in temperate and tropical tadpoles. **Aquatic Toxicology**, V. 146, P. 70-75, 2014.

ASTM. Standard Guide for Conducting the frog embryo teratogenesis assay - Fetax. Report e 1439-98. American Society for Testing and Materials, 1991.

ASTM. **Conducting acute toxicity tests on test materials with fishes, macroinvertebrates, and amphibians.** American Society for Testing And Materials. West Conshohocken, PA, US. ASTM International, 2002.

ATTADEMO, A. M.; LAJMANOVICH, R. C.; BASSÓ, A.; PELTZER, P. M.; SANCHEZ, L. C.; JUNGES, C. Activity levels of b-esterases in the tadpoles of 11 species of frogs in the middle paraná river floodplain: implication for ecological risk assessment of soybean crops. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, V. 73,P. 1517-1524, 2010.

ATTADEMO, A. M.; LAJMANOVICH, R. C.; PELTZER, P. M.; JUNGES, C. M. Acute toxicity of metaldehyde in the invasive rice snail pomacea canaliculata and sublethal effects on dadpoles of a non-target species (*Rhinella arenarum*). **Water, Air, And Soil Pollution**, V. 227, P. 12, 2016.

BARRIGOSI, J. A. F.; LANNA, A. C.; FERREIRA, E. Agrotóxicos no cultivo do arroz no Brasil: análise do consumo e medidas para reduzir o impacto ambiental negativo. **Embrapa**, P. 1-8, 2004.

BARTLETT, A. J.; HEDGES, A. M.; INTINI, K. D.; BROWN, L. R.; MAISONNEUVE, F. J.; ROBINSON, S. A.; GILLIS, P. L.; SOLLA, S. R.de. Lethal and sublethal toxicity of neonicotinoid and butenolide insecticides to the mayfly, *Hexagenia* spp. **Environmental Pollution**, v. 238, p. 63-75, 2018.

BERTI, A. P.; DÜSMAN, E.; SOARES, L. C. Efeitos da contaminação do ambiente aquático por óleos e agrotóxicos. **Sabios Revista de Saúde e Biologia**, V. 4, N. 1, P. 45-51, 2009.

BIOFISICA. Consultoria e Assessoria em Meio Ambiente Ltda. **Estudo ambiental da área de plantio Cooperjava, Formoso do Araguaia - Tocantins.** Cooperjava, 2010.

BOMBARDI, L. M. **Agrotóxicos e agronegócio: arcaico e moderno se fundemno campo brasileiro.** P. 1-13, 2012.

BOONE, M. D. An Amphibian with a contracting range is not more vulnerable to pesticides in outdoor experimental communities than common species.

**Environmental Toxicology and Chemistry**, V. 37, N. 10, P. 2699-2704, 2018.

BORGES, F. J. A.; JULIANO, R. de F. Distribuição espacial e temporal de uma comunidade de anuros do município de Morrinhos, Goiás, Brasil ("Amphibia Anura"). **Neotropical Biology and Conservation**, V. 2, N. 1, P. 21-27, 2007.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Anvisa. **Relatório de análise de resíduos de agrotóxicos em alimentos** (Para). Brasília - DF: 2013.

CAMPO. **Diagnóstico do uso de agroquímicos nas sub-bacias hidrográficas a montante do Parque Estadual do Cantão e seu entorno**. Brasília - DF: 2002. Disponível em:

<[http://gesto.to.gov.br/site\\_media/upload/gestao/documentos/relatorio\\_cantao\\_-\\_estudos\\_agrotoxicos.pdf](http://gesto.to.gov.br/site_media/upload/gestao/documentos/relatorio_cantao_-_estudos_agrotoxicos.pdf)>. Acesso em 12 out. 2019.

CAMPOS, V. A.; ODA, F. H.; JUEN, L.; BARTH, A.; DARTORA, A. Composição e riqueza de espécies de anfíbios anuros em três diferentes habitat em um agrossistema no Cerrado do Brasil Central. **Biota Neotropica**, V. 13, N. 1, 2013.

CAMPOS, C. E. C. **Ecologia de comunidades e comportamento reprodutivode anfíbios anuros em savana amazônica**. 2015, 149f. Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2015.

CANADÁ. Pest Management Regulatory Agency Health Canada. **Methomyl: Proposed Reevaluation Decision**, 2016.

CARBO, L.; MARTINS, E. L.; DORES, E. F. G. C.; SPADOTTO, C. A.; WEBER, O. L. S.; DE-LAMONICA-FREIRE, E. M. Acetamiprid, carbendazim, diuron and thiamethoxam sorption in two brazilian tropical soils. **Environmental Science**, V. 42:5, N. November 2014, P. 37-41, 2007.

CARNEIRO, F. F., AUGUSTO, L. G. da S.; RIGOTTO, R. M.; FRIEDRICH, K.; BÚRIGO, A. C (org.). **Dossiê ABRASCO: um alerta sobre os impactos dos agrotóxicos na saúde**. EPSJV/Expressão Popular, 2015.

CARVALHO, V. T. de; FRAGA, R.; SILVA, A. L. F. da.; VOGT, R. C. Introduction of *Leptodactylus labyrinthicus* (Spix, 1824) (Anura: Leptodactylidae) In Central Amazonia, Brazil. **Check List**, V. 9, N. 4, P. 849-850, 2013.

CARVALHO, W. F.; FRANCO, F. C.; GODOY, F. R.; FOLADOR, D.; AVELAR, J. B.; NOMURA, F.; CRUZ, A. P. DA.; SABÓIA-MORAIS, S. M. T. DE.; BASTOS, R. P.; SILVA, D. M. Evaluation of genotoxic and mutagenic effects of glyphosate roundup original® in *Dendropsophus minutus* Peters, 1872 Tadpoles. **South American Journal of Herpetology**, v. 13, n. 3, p. 220-229, 2018.

COLLINS, S. J.; FAHRIG, L. Responses of anurans to composition and configuration of agricultural landscapes. **Agriculture, Ecosystems And Environment**, V. 239, P. 399-409, 2017.

CONAMA. Conselho Nacional do Meio Ambiente. **Resolução nº 357**, 18 de março de 2005. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. Diário Oficial, (53), p. 58-63, 2005. <https://doi.org/10.12927/CONAMA.2005.000053>, de 18/03/2005.

COSTA, C. R.; OLIVI, P.; BOTTA, C. M. R.; ESPINDOLA, E. L. G. A Toxicidade em ambientes aquáticos: discussão e métodos de avaliação. **Química Nova**, V.31, N. 7, P. 1820-1830, 2008.

- COSTA, P. N. da.; SILVA, A. M. P. T. C. Ontogeny and behavioral aspects of the larva of *Phasmahyla guttata* (Lutz, 1924) (Amphibia, Anura, Hylidae). **Biota Neotropica**, v. 8, n. 4, p. 0-0, 2008.
- COSTA, R. N. **Medindo os impactos do glifosato e do estresse ambiental com uma régua: assimetria flutuante e mortalidade em girinos (Amphibia:Anura) de *Physalaemus cuvieri* (Leptodactylidae) e *Scinlax fuscomarginatus* (Hylidae)**. 2014, 83f. Dissertação (Especialização) - Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2014.
- COSTA, R. N.; NOMURA, F. Avaliação de risco e plasticidade comportamental limitada em girinos de *Rhinella ornata* (Anura, Bufonidae). **Iheringia, Série Zoologia**, V. 104, N. 2, P. 162-167, 2014.
- COSTA, R. N.; NOMURA, F. Measuring the impacts of Roundup Original® on fluctuating asymmetry and mortality in a neotropical tadpole. **Hydrobiologia**, V.765, N. 1, P. 85-96, 2016.
- COSTA, R. N.; SOLÉ, M.; NOMURA, F. Agropastoral activities increase fluctuating asymmetry in tadpoles of two neotropical anuran species. **Austral Ecology**, V. 42, N. 7, P. 801-809, 2017.
- CRUZ, A. D. da; SABÓIA-MORAIS, S. M. T. de; BASTOS, R. P.; SILVA, D. de M. E. Evaluation of genotoxic and mutagenic effects of glyphosate Roundup Original® In *Dendropsophus minutus* Peters, 1872. **South American Journal of Herpetology**, V. 13, N. 3, P. 220-229, 2018.
- DAAM, M. A.; MOUTINHO, M. F.; ESPÍNDOLA, E. L. G.; SCHIESARI, L. Lethal toxicity of the herbicides acetochlor, ametryn, glyphosate and metribuzin to tropical frog larvae. **Ecotoxicology**, v. 28, n. 6, p. 707-715, 2019.
- DAWSON, D. A.; BANTLE, J. A. Development of a reconstituted water medium and preliminary validation of the frog embryo teratogenesis assay—*Xenopus* (Fetax). **Journal Of Applied Toxicology**, V. 7, N. 4, P. 237-244, 1987.
- DENVER, R. **As caudas dos girinos estressados crescem mais para escaparem dos predadores** \_ University Of Michigan News. 2013.
- DEVKOTA, P.; JOHNSON, W. G. Efficacy of dicamba and glyphosate as influenced by carrier water pH and hardness. **Weed Technology**, V. 34, N. 1, P. 101-106, 2020.
- DIAS, N. Y. N. **Estrutura de taxocenoses de girinos de Mata Atlântica**. 2008, 138f. Dissertação (Mestrado - Uiniversidade Estadual Paulisa, São José do Rio Preto, 2008.
- DUELLMAN, W. E.; TRUEB, L. **Biology of amphibians**. JHU press, 1994.
- EMBRAPA. **Informações técnicas para a cultura do arroz irrigado no Estado de Tocantins**: Santo Antônio de Goiás - GO: 2008.
- FARIA, V. H. F. de. **Glifosato: Desenvolvimento de metodologia para determinação em soja e milho e avaliação de trabalhadores expostos a agrotóxicos**. 2013, 130f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2013.

FARIA, D. C. do C. **Uma Nova espécie de *Leptodactylus Fitzinger* (Anura: Leptodactylidae: Leptodactylinae) do Cerrado, Brasil Central.** 2015, 121f. Dissertação (Mestrado) - Universidade de Brasília - UNB, Brasília, 2015.

FIGUEIREDO, J.; RODRIGUES, D. J. de. Effects of four types of pesticides on survival, time and size to metamorphosis of two species of tadpoles (*Rhinella* and *Physalaemus centralis*) from the southern Amazon, Brazil. **The Herpetological Journal**, v. 24, n. 1, p. 7-15, 2014.

FINNEGAN, M. C.; BAXTER, L. R.; MAUL, J. D.; HANSON, M. L.; HOEKSTRA, P. F. Comprehensive characterization of the acute and chronic toxicity of the neonicotinoid insecticide thiamethoxam to a suite of aquatic primary producers, invertebrates, and fish. **Environmental Toxicology and Chemistry**, V. 36, N. 10, P. 2838-2848, 2017.

FINNEY, D. J. Probit analysis. **Buchbesprechungen**, V. Xv, 1971.

FREITAS, E. B. de.; DE-CARVALHO, C. B.; FARIA, R. G.; BATISTA, R. De C.; BATISTA, C. De C.; COELHO, W. A.; BOCCHIGLIERI, A. Nicho Ecológico e aspectos da história natural de *Phyllomedusa azurea* (Anura: Hylidae, Phyllomedusinae). **Phyllomedusa**, V. 8, N. 4, P. 2-11, 2008.

FUENTES, L. **Laboratory study of responses of anuran amphibians to Roundup® exposures: experimental design and role of sediment.** [S.L.] School of Clemson University, 2008.

FUENTES, L.; MOORE, L. J.; RODGERS, J. H.; BOWERMAN, W. W.; YARROW, K.; CHAO, W. Y. Comparative toxicity of two glyphosate formulations (original formulation of Roundup® and Roundup Weathermax®) to six North American larval anurans. **Environmental Toxicology and Chemistry**, V. 30, N. 12, P. 2756-2761, 2011.

FUENTES, L.; MOORE, L. J.; RODGERS, J. H.; Jr.; BOWERMAN, W. W.; YARROW, G. K.; CHAO, W. Y. Role of sediments in modifying the toxicity of two roundup formulations to six species of larval anurans. **Environmental Toxicology and Chemistry**, V. 33, N. 11, P. 2616-2620, 2014.

GALANT, L. S. **Avaliação do estresse oxidativo em *Leptodactylus latrans* (Steffen, 1815) de lavouras de arroz irrigado, no sul de Santa Catarina, Brasil.** 2013, 43f. Trabalho (Graduação) Universidade do Extremo Sul Catarinense, UNESC, Criciúma, 2013.

GASCON, C.; COLLINS, J. P.; MOORE, R. D.; CHURCH, D. R.; MCKAY, J. E.; MENDELSON-III, J. R (eds). 2007. **Amphibian Conservation Action Plan.** IUCN/SSC Amphibian Specialist Group. Gland, Switzerland and Cambridge, UK. 64pp.

GHISI, N. de C. **Avaliação genotóxica em *Rhamdia quelen* após contaminação sub-crônica com fipronil.** 2010, 89f. Dissertação (Mestrado) -Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2010.

GHOSE, S. L.; DONNELLY, M. A.; KERBY, J.; WHITFIELD, S. M. Acute toxicity tests and meta-analysis identify gaps in tropical ecotoxicology for amphibians. **Environmental Toxicology and Chemistry**, V. 33, N. 9, P. 2114-2119, 2014.

GONÇALVES, M. W.; GAMBALE, P. G.; GODOY, F. R.; ALVES, A. A.; REZENDE, P. H. de A.; CRUZ, A. D. da; MACIEL, N. M.; NOMURA, F.; BASTOS, R.; MARCO-JÚNIOR, P. de; SILVA, D. de M. The agricultural impact of pesticides on physalaemus cuvieri tadpoles (amphibia: anura) ascertained by comet assay. *Zoologia*, V. 34, N. Waissmann 2007, P. 1-8, 2017.

GONÇALVES, T. M. **Anfíbios anuros na Área de Proteção Ambiental do Banhado de São José Campos, SP.** 2009, 70f. Dissertação (Mestrado) - Universidade de Taubaté, Taubaté, 2009.

GOSNER, K. L. A Simplified table for staging anuran embryos and larvae with notes on identification. *Herpetologica*, v. Vol. 16, n. 3, p. 183-190, 1960. Retrieved from <https://www.jstor.org/stable/3890061>.

GROFF, A. A. **O tambaqui (*Colossoma macropomum*) e o pirarucu (*Arapaima gigas*) como organismos bioindicadores do efeito genotóxico da radiação ultravioleta (UVA e UVB).** 2008, 77f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul Centro, Porto Alegre, 2008.

HADDAD, C. F. B. **Uma análise da lista brasileira de anfíbios ameaçados de extinção.** In: Paglia, A. P.; Drummond, G. M.; Machado, A. B. M. (Eds.). Livro Vermelho da Fauna Brasileira. Rio Claro - SP: Departamento De Zoologia, I.B., Unesp, 2008. P. 888.

HADDAD, C. F. B.; TOLEDO, L. F.; PRADO, C. P. A.; LOEBMANN, D.; GASPARINI, J. L. & SAZIMA, I. **Guia dos Anfíbios da Mata Atlântica: diversidade e Biologia.** 1. ed. São Paulo: Anolis Books, 2013.

HASUE, F. M. **Avaliação da fototoxicidade do antraceno sobre a mortalidade e o dano ao dna de juvenis de pampas, *Trachinotus carolinus* (Linnaeus, 1766).** 2011, 87f. Dissertação (Mestrado) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011.

HEDBERG, D.; WALLIN, M. Effects of roundup and glyphosate formulations on intracellular transport, microtubules and actin filaments in *Xenopus laevis* melanophores. *Toxicology In Vitro*, V. 24, N. 3, P. 795-802, 2010.

HLADIK, M. L.; CALHOUN, D. Analysis of the herbicide diuron, three diuron degradates, and six neonicotinoid insecticides in water-method details and application to two Georgia streams. **Scientific Investigations Report 2012**, v.5206, 2012.

HOWE, C. M.; BERRILL, M.; PAULI, B. D.; HELBING, C. C.; WERRY, K.; VELDHORN, N. Toxicity of glyphosate-based pesticides to four north american frog species. *Environmental Toxicology and Chemistry*, V. 23, N. 8, P. 1928-1938, 2004.

IPPOLITO, A.; FAIT, G. Pesticides in surface waters: from edge-of-field to global modelling. *Current Opinion in Environmental Sustainability*, V. 36, P. 78-84, 2019.

KLINK, C. A.; MACHADO, R. B. A Conservação do Cerrado Brasileiro. *Megadiversidade*, V. 1, N. 1, P. 147-155, 2005.

KOPP, K.; FILHO-ANTONIOSI, N. R.; ALVES, M. I. R.; BASTOS, R. P. Publicações sobre efeitos de Pesticidas em Anfíbios no Período Dde 1980 A 2007. *Revista Multiciência*, N. 8, P. 173-186, 2007.

KOPP, K.; SIGNORELLI, L.; BASTOS, R. P. Distribuição temporal e diversidade de modos reprodutivos de anfíbios anuros no Parque Nacional das Emas e Entorno, Estado de Goiás, Brasil. *Iheringia - Serie Zoologia*, V. 100, N. 3, P. 192-200, 2010.

KRÜGER, R. A. **Análise da toxicidade e da genotoxicidade de agrotóxicos utilizados na agricultura utilizando bioensaios com *Allium Cepa***. 2009, 58f. Dissertação (Mestrado) - Centro Universitário Feevale, Novo Hamburgo, 2009.

LAJMANOVICH, R. C.; IZAGUIRRE, M. F.; CASCO, V. H. Paraquat tolerance and alteration of internal gill structure of *Scinax nasica* Tadpoles (Anura: Hylidae). *Archives Of Environmental Contamination and Toxicology*, V. 34, P. 364- 369, 1998.

LAJMANOVICH, R.; LORENZATTI, E.; MAITRE, M. I.; ENRIQUE, S.; PELTZER, P. Comparative acute toxicity of the commercial herbicides glyphosate to neotropical tadpoles *Scinax nasicus* (Anura: Hylidae). *Fresenius Environmental Bulletin*, V. 12, N. 4, P. 364-367, 2003a.

LAJMANOVICH, R. C.; SANDOVAL, M. T.; PELTZER, P. M. Induction of mortality and malformation in *scinax nasicus* tadpoles exposed to glyphosate formulations. *Fresenius Environmental Bulletin*, V. 70, P. 612-618, 2003b.

LAJMANOVICH, R. C.; JUNGES, C. M.; ATTADEMO, A. M.; PELTZER, P. M.; CABAGNA-ZENKLUSEN, M. C.; BASSO, A. Individual and mixture toxicity of commercial formulations containing glyphosate, metsulfuron-methyl, bispyribac-sodium, and picloram on *Rhinella arenarum* Tadpoles. *Water Air and Soil Pollution*, V. 224, N. 3, 2013.

LATIFF, K. A.; BAKAR, N. K. A.; ISA, N. M. Preliminary study of difenoconazole residues in rice paddy watersheds. *Malaysian Journal Of Science*, V. 29 (1), P. 73-79, 2010.

LEE, Y-H.; YOON, C. S.; LEE, M-J.; HWANG, Y-G.; CHEONG, S. W. Toxic Effects of Triazole Fungicide Difenoconazole on the Early Development of African Clawed Frog, *Xenopus laevis*. *Journal of Environmental Science International*, v. 20, n.10, p. 1221-1232, 2011.

LEITE, J. R. de S. de A.; BARBOSA, E. A.; NORONHA, S. E. Levantamento de anuros (Amphibia) na região do Projeto Formoso-Araguaia e Arredores, Formoso do Araguaia, Tocantins, Brasil. *Sitientibus Série Ciências Biológicas*, V. 6, N. 1, P. 56-63, 2006.

LIMA, L. B. D. De. **Avaliação do risco ecológico por xenobióticos associados às atividades agrícolas**. 2015, 113f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Tocantins, Palmas (TO), 2015.

LOPES, M. B. S. **Adubação nitrogenada na cultura do arroz em solos arenosos de várzea tropical**. 2013, 68f. Dissertação (Mestrado) - Fundação Universidade Federal do Tocantins, Gurupi, 2013.

LUCAS, E. M.; FORTES, V. B.; GARCIA, P. C. A. Amphibia, Anura, Hylidae, *Phyllomedusa azurea* Cope, 1862: Distribution extension to southern Brazil. *Check List*, v. 6, n. 1, p. 164-166, 2010.



MANN, R. M.; BIDWELL, J. R. The toxicity of glyphosate and several glyphosate formulations to four species of southwestern australian frogs. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, V. 36, P. 193-199, 1999.

MANN, R. M.; BIDWELL, J. R. Application of the fetax protocol to assess the developmental toxicity of nonylphenol ethoxylate to *Xenopus laevis* and two australian frogs. **Aquatic Toxicology**, V. 51, N. 1, P. 19-29, 2000.

MANN, R. M.; BIDWELL, J. R. The acute toxicity of agricultural surfactants to the tadpoles of four australian and two exotic frogs. **Environmental Pollution**, V. 114, N. 2, P. 195-205, 2001.

MARGARIDO, T. C. S. **Biomarcadores bioquímicos de contaminação em girinos de anfíbios anuros expostos a Regent® 800wg (Fipronil)**. 2011, 66f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista, São José do Rio Preto, 2011.

MARQUES, J. G. de C.; LYRA, M. R. C.; CARVALHO, R. M. C. M. de O.; NASCIMENTO, R. M. do.; SILVA, J. A. A.; MONTENEGRO, S. M. G. L. Comparação entre índices de potencial de lixiviação para agrotóxicos utilizados na sub-bacia do Natuba, Vitória de Santo Antão - Pernambuco. **Revista Águas Subterrâneas**, V. 33, N. 1, P. 58-67, 2019.

MCDIARMID, R. W.; ALTIG, R. **Tadpoles: the biology of anuran larvae**. The Univer Ed. London: The University of Chicago Press, 1999.

MIJARES, A.; RODRIGUES, M. T.; BALDO, D. *Physalaemus cuvieri*. The IUCN Red List, V. 8235, P. 1-8, 2010.

MILHOME, M. A. L.; SOUSA, D. de O. B.; LIMA, F. de A. F.; NASCIMENTO, R. F. do. Assessment of surface and groundwater potential contamination by agricultural pesticides applied in the region of baixo Jaguaribe, CE, Brazil. **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, V. 14, N. 3, P. 363-372, 2009.

MIRANDA, N.; FERREIRA, A. Morfologia bucal interna dos girinos de *Leptodactylus labyrinthicus* Spix, 1824 (Amphibia: Anura: Leptodactylidae). **Biota Neotropica**, V. 8, N. 1, P. 225-230, 2008.

MOORE, L. J.; FUENTES, L.; RODGERS, J. H.; BOWERMAN, W. W.; YARROW, G. K.; CHAO, W. Y.; BRIDGES, W. C. Relative toxicity of the components of the original formulation of roundup® to five north american anurans. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, V. 78, P. 128-133, 2012.

MORAES, R. A. de; SAWAYA, R. J.; BARRELLA, W. Composição e diversidade de anfíbios anuros em dois ambientes de mata atlântica no Parque Estadual Carlos Botelho, São Paulo, sudeste do Brasil. **Biota Neotropica**, V. 7, N. 2, P. 0-0, 2007.

MORAES, P. V. D.; ROSSI, P. Comportamento ambiental do glifosato. **Scientia Agraria Paranaensis**, V. 9, P. 22-35, 2010.

MOREIRA, J. C.; PERES, F.; SIMÕES, A. C.; PIGNATI, W. A.; DORES, E. de C.; VIEIRA, S. N.; Strüssmann, C.; MOTT, T. Groundwater and rainwater contamination by pesticides in an agricultural region of Mato Grosso State in Central Brazil. **Ciência & Saúde Coletiva**, V. 17, N. 6, P. 1557-1568, 2012a.

- MOREIRA, J. C.; PERES, F.; SIMÕES, A. C.; PIGNATI, W. A.; DORES, E. de C.; VIEIRA, S. N.; Strüssmann, C.; MOTT, T. Contaminação de águas superficiais e de chuva por agrotóxicos em uma região do Estado do Mato Grosso. **Ciência & Saúde Coletiva**, V. 17, N. 6, P. 1557-1568, 2012b.
- MOREIRA, R. A.; DAAM, M. A.; VIEIRA, B. H.; SANCHES, A. L. M.; REGHINI, M. V.; MANSANO, A. DA. S.; FREITAS, E. C. DE.; ESPINDOLA, E. L. G.; ROCHA, O. Toxicity of abamectin and difenoconazole mixtures to a Neotropical cladoceran after simulated run-off and spray drift exposure. **Aquatic Toxicology**, v. 185, p. 58-66, 2017.
- MORRISSEY, C. A.; MINEAU, P.; DEVRIES, J. H.; SANCHEZ-BAYO, F.; LIESS, M.; CAVALLARO, M. C.; LIBER, K. neonicotinoid contamination of global surface waters and associated risk to aquatic invertebrates: a review. **Environment International**, V. 74, P. 291-303, 2015.
- MOUCHET, F.; LANDOIS, P.; FLAHAUT, E.; PINELLI, E.; GAUTHIER, L. assessment of lead ecotoxicity in water using the amphibian larvae (*Xenopus laevis*) and preliminary study of its immobilization in meat and bone meal combustion residues. **Biometals**, V. 20, N. 2, P. 113-127, 2007.
- MOUTINHO, Mariana Fekete. **Ecotoxicidade comparativa dos herbicidas da cana-de-açúcar para larvas de anfíbios**. 2013. Tese (Doutorado) - Universidade de São Paulo, 2013.
- MU, X.; PANG, S.; SUN, X.; GAO, J.; CHEN, J.; CHEN, X.; Li, X.; WANG, C. evaluation of acute and developmental effects of difenoconazole via multiple stage zebrafish assays. **Environmental Pollution**, V. 175, P. 147-157, 2013.
- NEGRI, D. D. B. **Desempenho de larvas de anfíbios e libélulas em uma paisagem agroindustrial**. 2015, 89f. Tese (Doutorado) - Universidade de São Paulo, 2015.
- NESKOVIC, N. K.; POLEKSIC, V.; ELEZOVIC, I.; KARAN, V.; BUDIMIR, M. Biochemical and histopathological effects of glyphosate on carp, *Cyprinus carpio* L. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 56, n. 2, p.295-302, 1996.
- NIEUWKOOP, P. D.; FABER, J. **Normal table of *Xenopus laevis* (daudin): A systematical and chronologica survey of the development from the fertilized egg till the end of metamorphosis**. Routledge, 1956.
- ODA, F. H.; BASTOS, R. P.; LIMA, M. A. de C. S. Taxocenose de anfíbios anuros no cerrado do alto tocantins, niquelândia, estado de goiás: diversidade, distribuição local e sazonalidade. **Biota Neotropica**, V. 9, N. 4, P. 219-232, 2009.
- OLIVEIRA, W. V. dos S. **Biodiversidade, declínio populacional e conservação de anfíbios anuros no Brasil**. 2014, 18f. Projeto de Pesquisa. Universidade Metodista de Piracicaba, 2014.
- PAGLIA, A. P.; BÉRNILS, R. S.; DEVELEY, P. F. A luta pela proteção dos vertebrados terrestres. **Scientific American**, P. 48-53, 2019.

- PELAEZ, V.; SILVA, L. R. da.; ARAÚJO, E. B. Regulation of pesticides: a comparative analysis. **Science and Public Policy**, v. 40, n. 5, p. 644-656, 2013.
- PELTZER, P. M. The effects of habitat fragmentation on amphibian species richness in the floodplain of the Middle Parana River, Argentina. **Herpetological Journal**, v. 13, p. 95-98, 2003.
- PELTZER, P. M.; LAJMANOVICH, R. C.; SÁNCHEZ-HERNANDEZ, J. C.; CABAGNA, M. C.; ATTADEMO, A. M.; BASSÓ, A. Effects of agricultural pond eutrophication on survival and health status of *Scinax nasicus* tadpoles. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 70, n. 1, p. 185-197, 2008.
- PELTZER, P. M.; LAJMANOVICH, R. C.; SÁNCHEZ-HERNANDEZ, J. C.; CABAGNA, M. C.; ATTADEMO, A. M.; BASSÓ, A. Effect of exposure to contaminated pond sediments on survival, development, and enzyme and blood biomarkers in veined treefrog (*Trachycephalus typhonius*) tadpoles. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, V. 98, P. 142-151, 2013.
- PELTZER, P. M.; LAJMANOVICH, R. C.; SANCHEZ, L. C.; ATTADEMO, A. M.; JUNGES, C. M.; BIONDA, C. L.; MARTINO, A. L.; BASSÓ, A. A. Morphological abnormalities in amphibian populations. **Herpetological Conservation and Biology**, v. 6, n. 3, p. 432-442, 2011.
- PELTZER, P. M.; LAJMANOVICH, R. C.; ATTADEMO, A. M.; JUNGES, C. M.; TEGLIA, C. M.; MARTINUZZI, C.; CURI, L.; CULZONI, M. J.; GOICOECHEA, HC. Ecotoxicity of veterinary enrofloxacin and ciprofloxacin antibiotics on anuran amphibian larvae. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, V. 51, P. 114-123, 2017
- PERUZZO, P. J.; PORTA, A. A.; RONCO, A. E. Levels of glyphosate in surface waters, sediments and soils associated with direct sowing soybean cultivation in North Pampasic Region of Argentina. **Environmental Pollution**, V. 156, P. 61-66, 2008.
- PEZZUTI, T. L. **Girinos do quadrilátero ferrífero, sudeste do Brasil: ecomorfologia e chave de identificação interativa**. 2011, 212f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2011.
- PILLIOD, D. S.; BURY, R. B.; HYDE, E. J.; PEARL, C. A.; CORN, P. S. Fire and amphibians in North America. **Forest Ecology and Management**, V. 178, N. 1-2, P. 163-181, 2003.
- PINHEIRO, A.; ROSA, F. de C. classificação dos pesticidas usados na bacia hidrográfica do Itajaí (SC) quanto ao risco de degradação dos recursos hídricos. **Pesticidas: Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, V. 18, P. 45-58, 2008.
- POMBAL JR., J. P.; HADDAD, C. F. B. Estratégias e modos reprodutivos em anuros (amphibia) em uma poça permanente na serra de Paranapiacaba, Sudeste do Brasil. **Papéis Avulsos de Zoologia**, V. 45, N. 15, P. 201-213, 2005.
- POSSAVATZ, J. **Determinação de resíduos de pesticidas, em amostras de água e sedimento, na bacia hidrográfica do rio Cuiabá, Mato Grosso**. 2013, 92f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Mato Grosso, Cuiabá, 2013.

- POUGH, F. H., R. M. ANDREWS, J. E. CADLE, M. L. CRUMP, A. H. SAVITZKY, AND K. D. WELLS. **Herpetology**. Third Edition. Prentice Hall, Upper Saddle River, New Jersey, 2004.
- POUGH, F. H.; JANIS, C. M.; HEISER, J. B. **A Vida dos vertebrados**. 4ª ed. Ed. São Paulo: Atheneu Editora São Paulo Ltda, 2008.
- PRADO, V. H. M. do. **Similaridade ecológica em comunidades de girinos: opapel de componentes históricos (filogenéticos) e contemporâneos (ecológicos)**. 2006, 158f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista, 2006.
- PROVETE, D. B.; GAREY, M. V.; SILVA, F. R. DA.; ROSSA-FERES, D. C. Anurofauna do noroeste paulista: lista de espécies e chave de identificação para adultos. **Biota Neotropica**, v. 11, n. 2, p. 377-391, 2011.
- RABY, M.; NOWIERSKI, M.; PERLOV, D.; ZHAO, X.; HAO, C.; POIRIER, D. G. SIBLEYA, P. K. Acute toxicity of 6 neonicotinoid insecticides to freshwater invertebrates. **Environmental toxicology and chemistry**, v. 37, n. 5, p. 1430-1445, 2018.
- REBELO, R. M.; CALDAS, E. D. Avaliação de risco ambiental de ambientes aquáticos afetados pelo uso de agrotóxicos. **Química Nova**, v. 37, n. 7, p. 1199-1208, 2014.
- RELYEA, R. A. The lethal impact of Roundup on aquatic and terrestrial amphibians. **Ecological applications**, v. 15, n. 4, p. 1118-1124, 2005a.
- RELYEA, R. A. The lethal impacts of Roundup and predatory stress on six species of North American tadpoles. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 48, n. 3, p. 351-357, 2005b.
- RELYEA, R. A. The lethal impacts of roundup and predatory stress on six species of North American tadpoles. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, V. 48, N. 3, P. 351-357, 2005c.
- RELYEA, R. A.; JONES, D. K. The toxicity of Roundup Original Max® to 13 species of larval amphibians. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 28, n. 9, p. 2004-2008, 2009.
- RELYEA, R. A.; SCHOEPPNER, N. M.; HOVERMAN, J. T. Pesticides and amphibians: the importance of community context. **Ecological Society of America**, V. 15, N. 4, P. 1125-1134, 2017.
- RESENDE, J. C. De. **Efeitos diretos e indiretos do agrotóxico Vertimec® 18 CE e de girinos de *Lithobates catesbeianus* nos ecossistemas de água doce: um estudo em mesocosmos**. 2015, 186f. Tese (Doutorado) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2015.
- RIBEIRO, R. da S.; EGITO, G. T. B. T. do; HADDAD, C. F. B. Chave de identificação: anfíbios anuros da vertente de Jundiáí da Serra do Japi, Estado de São Paulo. **Biota Neotropica**, v. 5, n. 2, p. 235-247, 2005.

RISSOLI, R. Z. **Comparação entre os efeitos da exposição em nível subletal de glifosato e dos herbicidas a base de glifosato Roundup Original® e Roundup Transorb r® sobre girinos de rã-touro.** 2012, 144f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de São Carlos, 2012.

ROCHA, A. A. **Monitoramento de agrotóxicos em áreas irrigadas por pivô central na microbacia do Tijunheiro, Município de Morrinhos, Goiás.** [S.L.] Universidade De São Paulo, 2011.

ROCHA, A. G. da. **Agrotóxicos: Uma análise comparativa da legislação entre Brasil, União Europeia e Estados Unidos da América.** 2014, 75f. Monografia (Graduação) - Universidade de São Paulo, São Carlos, 2014.

RODRIGUES, D. J.; UETANABARO, M.; LOPES, F. S. Breeding biology of *Phyllomedusa azurea* Cope, 1862 and *P. sauvagii* Boulenger, 1882 (Anura) from the Cerrado, central Brazil. **Journal of Natural History**, v. 41, n. 29-32, p. 1841-1851, 2007.

RODRIGUES, F.; ROSSA-FERES, D. de C. Influence of terrestrial habitat isolation on the diversity and temporal distribution of anurans in an agricultural landscape. **Journal of Tropical Ecology**, v. 27, n. 3, p. 327-331, 2011.

RODRIGUES, R. B.; FERREIRA, V. L. Dieta de *Leptodactylus labyrinthicus* (Spix, 1824) (Amphibia - Leptodactylidade) do Morro Santa Cruz, Corumbá - Ms. **Anais: IV Simpósio sobre Recursos Naturais e Sócio-econômicos do Pantanal.** Disponível em: <<https://www.cpap.embrapa.br/agencia/simpan/sumario/resumos/asperctos/pdf/biotico/521rb-rodrigues-1-ok.pdf>>. 2004. Acesso em 03 jan. 2018.

ROSSA-FERES, D. C.; NOMURA, F. Characterization and taxonomic key for tadpoles (Amphibia: Anura) from the northwestern region of São Paulo State, Brazil. **Biota Neotropica**, v. 6, n. 1, p. 0-0, 2006.

ROSSA-FERES, D. de C.; SAWAYA, R. J.; FAIVOVICH, J.; GIOVANELLI, J. G. R.; BRASILEIRO, C. A.; SCHIESARI, L.; ALEXANDRINO, J.; HADDAD, C. F. B. Anfíbios do Estado de São Paulo, Brasil: conhecimento atual e perspectivas. **Biota Neotropica**, v. 11, p. 47-66, 2011.

ROSSI, S. **Uso de biomarcadores para a detecção de efeitos subletais dos pesticidas roundup e hexaron em *Astyanax Sp.* (Pisces, Teleostei).** 2008, 65f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Paraná, 2008.

ROUSE, J. D.; BISHOP, C. A.; STRUGER, J. Nitrogen pollution: an assessment of its threat to amphibian survival. **Environmental health perspectives**, v. 107, n.10, p. 799-803, 1999.

ROWE, C. L.; KINNEY, O. M.; NAGLE, R. D.; CONGDON, J. D. Elevated maintenance costs in an anuran (*Rana catesbeiana*) exposed to a mixture of trace elements during the embryonic and early larval periods. **Physiological Zoology**, v. 71, n. 1, p. 27-35, 1998.

SANCHES, S. M.; SILVA, C. H. T. P.; CAMPOS, S. X.; VIEIRA, E. M. Pesticidas e seus respectivos riscos associados à contaminação da água. **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, v. 13, 2003.

- SANCHEZ, L. C.; LAJMANOVICH, R. C.; PELTZER, P. M.; MANZANO, A. S.; JUNGES, C. M.; ATTADAMO, A. M. First evidence of the effects of agricultural activities on gonadal form and function in *Rhinella fernandezae* and *Dendropsophus sanborni* (Amphibia: Anura) from Entre Ríos Province, Argentina. *Acta Herpetologica*, V. 9, N. 1, P. 75-88, 2014.
- SANCHES, A. L. M.; VIEIRA, B. H.; REGHINI, M. V.; MOREIRA, R. A.; FREITAS, E. C.; ESPÍNDOLA, E. L. G.; DAAM, M. A. Single and mixture toxicity of abamectin and difenoconazole to adult zebrafish (*Danio rerio*). *Chemosphere*, v. 188, p. 582-587, 2017.
- SANCHES, A. L. M.; DAAM, M. A.; FREITAS, E. C.; GODOY, A. A.; MEIRELES, G.; ALMEIDA, A. R.; DOMINGUES, I.; ESPÍNDOLA, E. L. G. Lethal and sublethal toxicity of abamectin and difenoconazole (individually and in mixture) to early life stages of zebrafish. *Chemosphere*, v. 210, p. 531-538, 2018.
- SANTOS, P. **avaliação dos efeitos dos genotóxicos dos corpos de água temporários de um perímetro irrigado do semiárido sergipano, por meio do teste smart em *Drosophila melanogaster* (meigen, 1830) e do teste do micronúcleo em anfíbios de *Hypsiboas creptans* (Wied-Neuwi. 2014, 83f.**  
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Sergipe, 2014.
- SANTOS, D. L.; MORAIS, A. R.; SIGNORELLI, L.; BASTOS, R. P.; FEIO, R.; NOMURA, F. **Description of the tadpole of phyllomedusa azurea from the brazilian cerrado, with a description of the internal oral morphology of *Phyllomedusa oreades*.** *Herpetologica*, V. 74, N. 1, P. 50-57, 2018.
- SCHAAFSMA, A.; LIMAY-RIOS, V.; BAUTE, T.; SMITH, J.; XUE, Y. Neonicotinoid insecticide residues in surface water and soil associated with commercial maize (corn) fields in Southwestern Ontario. *Plos One*, V. 10(2), P. 1-21, 2015.
- SCORZA JÚNIOR, R. P.; NÉVOLA, F. A.; AYELO, V. S. ACHA: Avaliação da Contaminação hídrica por agrotóxico. **Embrapa Agropecuária Oeste-Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento (INFOTECA-E)**, 2010.
- SEGALLA, M. V.; CARAMASCHI, U.; CRUZ, C. A. G.; GRANT, T.; HADDAD, C. F. B.; LANGONE, J. A.; GARCIA, P. C. A. Brazilian amphibians: List of species. *Herpetologia Brasileira*, V. 3, N. 2, P. 37-48, 2014.
- SHEPARD, D. B.; CALDWELL, J. P. From foam to free-living: ecology of larval *Leptodactylus labyrinthicus*. *Copeia*, V. 2005, N. 4, P. 803-811, 2005.
- SILVA W. R. da. **História natural da rã-pimenta sul-americana, *Lapetodactylus labyrinthicus* (Spix, 1824) (anura: Leptodactylidae).** 2005, 26f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2005.
- SILVA, B. M. da. **Desenvolvimento de metodologia simples, rápida e sem etapa de clean-up para determinação de glifosato em amostras ambientais de água e solo por HPLC/UV-VIS.** 2009, 96f. Dissertação (Mestrado) - Universidade de São Paulo, 2009.

- SILVA, F. R. da; ALMEIDA-NETO, M.; PRADO, V. H. M. do; HADDAD, C. F. B.; ROSSA-FERES, D. de C. Humidity levels drive reproductive modes and phylogenetic diversity of amphibians in the Brazilian Atlantic Forest. **Journal of Biogeography**, v. 39, n. 9, p. 1720-1732, 2012.
- SILVA, N. R. da. **Relações tróficas entre anfíbios anuros e formicidae no chaco brasileiro**. 2013, 63f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal da Grande Dourados, 2013.
- SILVANO, D. L.; OLIVEIRA, D. A. S. de. **anfíbios e répteis. fragmentação de ecossistemas. causas, efeitos sobre a biodiversidade e recomendações de políticas públicas**, P. 183-200, 2003.
- SIMIONI, F.; SILVA, D. F. N. da; MOTT, T. Toxicity of glyphosate on *Physalaemus albonotatus* (Steindachner, 1864) from Western Brazil. **Environmental Contamination and Toxicology**, V. 8, P. 55-58, 2013.
- SISINNO, C. L. S.; OLIVEIRA-FILHO, E. C. **Princípios de toxicologia ambiental**. In: Princípios de toxicologia ambiental. 2013. p. 198-198.
- SKOVRONSKI, V. J. **Avaliação da toxicidade da mistura dos agrotóxicos 2,4-d (ácido diclorofenoxiacético) e glifosato em anfíbios**. 2019, 46f. Trabalho (Graduação) - Universidade Federal da Fronteira Sul - UFFS, Erechim, 2019.
- SMALLING, K. L.; ORLANDO, J. L.; CALHOUN, D.; BATTAGLIN, W. A.; Kathryn M. K. Occurrence of pesticides in water and sediment collected from amphibian habitats located throughout the United States, 2009-2010. **USGS Science for a Changing World**, P. 1-52, 2012.
- SMALLING, K. L.; REILLY, T. J.; SANDSTROM, M. W.; KUIVILA, K. M. Occurrence and persistence of fungicides in bed sediments and suspended solids from three targeted use areas in the United States. **Science of the Total Environment**, V. 447, P. 179-185, 2013.
- SMALLING, K. L.; REEVES, R.; MUTHS, E.; VANDEVER, M.; BATTAGLIN, W. A.; HLADIK, M. L.; Pierce, C. L. Pesticide concentrations in frog tissue and wetland habitats in a landscape dominated by agriculture. **Science of the Total Environment**, V. 502, P. 80-90, 2015.
- SOARES, D. F.; FARIA, A. M.; ROSA, A. H. Análise de risco de contaminação de águas subterrâneas por resíduos de agrotóxicos no município de Campo Novo do Parecis (MT), Brasil. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, V. 22, N. 2, P. 277-284, 2017.
- SPARLING, D. W. A review of the role of contaminants in amphibian declines. **Handbook of ecotoxicology**, v. 2, p. 1099-1128, 2003.
- STEFFANI, R. R.; RUTKOSKI, C. F.; BIENIEK, G. B.; ZAGO, J. O.; HARTMANN, M. T. Agrotóxicos e sua relação com a biota aquática: utilizando ecotoxicologia e anfíbios anuros como bioindicadores. **Anais: 3º SEPE e 3ª Jornada de Iniciação Científica**, V. 3, P. 7489, 2013.

STRUGER, J.; GRABUSKI, J.; CAGAMPAN, S.; SVERKO, E.; MCGOLDRICK, D.; MARVIN, C. H. Factors influencing the occurrence and distribution of neonicotinoid insecticides in surface waters of Southern Ontario, Canadá. *Chemosphere*, V. 169, P. 516-523, 2017.

STURZA, P. F. **Toxicidade aguda e crônica em girinos de *Physalaemus gracilis* (Anura: Leptodactylidae) expostos à atrazina e tebuconazol.** 2017, 100f. Dissertação (mestrado) - Universidade Federal da Fronteira Sul 2017.

TOCANTINS. Secretaria do Planejamento do Estado do Tocantins - SEPLAN. **Áreas de uso legal restrito e potenciais à conservação ambiental**, 2012.

TOLEDO, L. F.; CARVALHO-E-SILVA, S. P. de; SÁNCHEZ, C.; ALMEIDA, M. A. de; HADDAD, C. F. B. The review of the brazilian forest act: harmful effects on amphibian conservation. *Biota Neotropica*, V. 10, N. 4, P. 35-38, 2010.

TONETTO, M. **Avaliação do efeito da toxicidade das águas superficiais de rizicultura sobre a diversidade de anfíbios, Turvo (SC).** 2008, 49f. Monografia (Especialização) - Universidade do Extremo Sul Catarinense - UNESC, Criciúma, 2008.

TRINDADE, S. A. R. **Efeitos Ecotoxicológicos do Herbicida Glifosato em Embriões de *Physalaemus gracilis* (Anura: Leptodactylidae).** 2017, 44f. Trabalho (Graduação) - Universidade Federal da Fronteira Sul - UFFS. Erechim, 2017.

TSUI, M. T. K.; CHU, L. M. Environmental fate and non-target impact of glyphosate-based herbicide (Roundup®) in a subtropical wetland. *Chemosphere*, v. 71, n. 3, p. 439-446, 2008.

VAN DEN BRINK, P. J.; VAN SMEDEN, J. M.; BEKELE, R. S.; DIERICK, W.; GELDER, D. M de.; NOTEBOOM, M.; ROESSINK, I. Acute and chronic toxicity of neonicotinoids to nymphs of a mayfly species and some notes on seasonal differences. *Environmental toxicology and chemistry*, v. 35, n. 1, p. 128-133, 2016.

VARGAS, L. **Avaliação da toxicidade de glifosato para duas espécies de anfíbios anuros brasileiras: *Physalaemus cuvieri* e *Physalaemus gracilis*.** 2017, 47f. Trabalho (Graduação) - Universidade Federal da Fronteira Sul - UFFS, Erechim, 2017.

VASCONCELOS, T. S. D. S.; ROSSA-FERES, D. D. C. Diversidade, distribuição espacial e temporal de anfíbios anuros (amphibia, anura) na região noroeste do Estado de São Paulo, Brasil. *Biota Neotropica*, V. 5, N. 2, P. 1-14, 2005.

VASCONCELOS, A. M. **Avaliação dos efeitos do agrotóxico Vertimec® 18CE sobre girinos de *Lithobates catesbeianus* (Amphibia, Anura, Ranidae).** 2014, 149f. Tese (Doutorado) - Universidade de São Paulo, São Carlos, 2014.

VASCONCELOS, T. S.; NASCIMENTO, B. T. M. The utility of open-access biodiversity information in representing anurans in the brazilian atlantic forest and cerrado. *Phyllomedusa*, V. 13, N. 1, P. 51-58, 2014.



- VILCHES, M. **Análise genotóxica do rio Cadeia - RS através do ensaio cometa e teste de micronúcleo e anormalidades nucleares utilizando peixes como bioindicadores.** 2009, 71f. Dissertação (Mestrado) - Centro Universitário Feevale, Novo Hamburgo, 2009.
- WAGNER, N.; MÜLLER, H.; VIERTTEL, B. Effects of a commonly used glyphosate-based herbicide formulation on early developmental stages of two anuran species. **Environmental Science and Pollution Research**, V. 24, N. 2, P. 1495-1508, 2017.
- WANDSCHEER, A. C. D. **Macroinvertebrados Bentônicos em Lavouras de Arroz Irrigado sob Efeito de Fungicidas e Inseticidas.** 2016, 100f. Tese (Doutorado) - da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria, 2016.
- WELLS, K. D. **The ecology and behavior of amphibians.** University of Chicago Press, 2007.
- WRUBLEWSKI, J. **Toxicidade Aguda e Crônica de Agrotóxicos em Girinos de *Physalaemus cuvieri* (Anura, Leptodactylidae).** 2016, 50f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal da Fronteira Sul - UFFS, Erechim, 2016.
- YADAV, S. S.; GIRI, S.; SINGHA, U.; BORO, F.; GIRI, A. Toxic and genotoxic effects of Roundup on tadpoles of the Indian skittering frog (*Euflyctis cyanophlyctis*) in the presence and absence of predator stress. **Aquatic Toxicology**, V. 132- 133, P. 1-8, 2013.
- YI, M. Q. et al. Inhibitory effects of four carbamate insecticides on acetylcholinesterase of male and female carassius auratus in vitro. **Science Direct**, V. 143, P. 113-116, 2006.
- YOUNES, M.; GALAL-GORCHEV, H. Pesticides in drinking water: a case study. **Food and Chemical Toxicology**, V. 38, P. 0-3, 2000.
- YU, S.; WAGES, M. R.; CAI, Q.; MAUL, J. D.; COBB, G. P. Lethal and sublethal effects of three insecticides on two developmental stages of *Xenopus laevis* and comparison with other amphibians. **Environmental Toxicology And Chemistry**, V. 32, N. 9, P. 2056-2064, 2013.
- ZANDONÁ, G. **Determinação de resíduos de agrotóxicos em água para consumo humano utilizando SPE e quantificação/confirmação por LC-MS quadrupolar simples.** 2019, 106f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Rio Grande (RS), Santo Antônio da Patrulha, RS, 2019

## CAPÍTULO V

### DISCUSSÃO FINAL E CONCLUSÃO

## 1. INTRODUÇÃO

Com o intuito de facilitar o entendimento, é que se apresenta este Capítulo V, o qual contempla, de forma breve e sistematizada, os principais assuntos investigados nesta Tese, na mesma sequência dos capítulos, abordando-se: os títulos dos capítulos; seus objetivos; os principais resultados alcançados. Ao todo, são apresentados quatro capítulos e na sequência, encaminha-se à discussão final, integrando-se os diversos resultados alcançados enfocados na conservação dos anfíbios anuros de região tropical sob influência de áreas agrícolas.

## 2. RESULTADOS OBTIDOS POR CAPÍTULO

### 2.1. Capítulo I

Introdução Geral desta Tese

#### 2.1.1. Objetivo

Partindo de um levantamento bibliográfico abordou-se, em escala global, os seguintes temas: 1.uso de pesticidas na agricultura; 2. uso da ecologia isotópica para compreensão do ecossistema; 3. efeitos de pesticidas em anfíbios; 4. importância da conservação da biodiversidade de anfíbios; 5. aspectos gerais sobre o Tocantins: caso de estudo “perímetro agrícola formoso”; orientações e objetivos da tese.

#### 2.1.2. Principais resultados alcançados

O capítulo 1 cumpriu a função básica de apresentar os temas intrínsecos à pesquisa desenvolvida, bem como trouxe a descrição da sequência lógica utilizada nesta Tese. Os principais resultados discutidos foram:

- A pressão que as populações de anfíbios tropicais sofrem devido a expansão da agricultura e o uso em larga escala de pesticidas para a erradicação de organismos e plantas indesejáveis às culturas;
- Os pesticidas agrícolas que foram identificados como sendo os mais

utilizados em plantação de arroz irrigado por inundação em região tropical. Essa etapa foi importante para possibilitar a execução da fase seguinte (escolha dos cinco contaminantes) para estudo dos seus efeitos em ambientes aquáticos, nomeadamente: glifosato, tiodicarbe, difenoconazol, ciproconazol e tiametoxam;

- É importante, mencionar que esta pesquisa seguiu para o campo interdisciplinar e optou-se por se trabalhar com diversidade de conhecimentos, possibilitando assim, abordagem panorâmica da situação existente, quanto à conservação dos anfíbios em região tropical contraposta com ambientes onde decorre do uso de pesticidas;

- Os indicadores ecológicos apontados para esta pesquisa foram os anfíbios, tornaram-se os organismos testes (uso de girinos e desovas de anfíbios anuros), exercendo a função de indicadores, altamente padronizados e utilizados em testes ecotoxicológicos de laboratórios;

- Determinou-se os efeitos de baixas concentrações desses pesticidas em diferentes estágios de vida de anfíbios. E ainda, funcionaram como os organismos monitores, onde desempenharam a função, qualitativa e quantitativamente, sobre o impacto da poluição ambiental por pesticidas sobre organismos vivos;

- Identificação de autorizações necessárias e elaboração de projetos (formulários padrões) para obtenção de autorizações e realização do estudo com animais da fauna silvestre e experimentação animal com pesticidas, emitidas por órgãos ambientais brasileiro, tais como: Ibama e comitê de ética de uso animal;

- Portanto, esta pesquisa englobou as perspectivas referentes à: pesticidas utilizados em ambiente agrícola de arroz irrigado e de soja; ao tipo de exposição, pesticidas comerciais a que organismos-teste da anurofauna foram submetidos; análises físico-químicas e biológicas de água, sedimento; composição isotópica da anurofauna de ambientes agrícola, assim como de fontes que influenciaram os anuros, em termos de carbono e nitrogênio.

### **2.2. Capítulo II**

Influência de práticas agrícolas e exposição a pesticidas em populações naturais de anuros: caso de estudo do projeto formoso do Araguaia, Tocantins.

### 2.2.1. Objetivo

Valendo-se de três técnicas associadas realizou-se: 1. análises físico-químicas e biológicas de compartimentos ambientais (água, solo e sedimento), adicionadas à 2. biometria da anurofauna em ambientes naturais (florestais Cerrado e de transição com floresta amazônica) e antropizados (agricultura e pastagem), em área tropical, além de caracterização da 3. composição isotópica de fontes ambientais (girinos, anuros adultos e seus recursos alimentares como vegetais/invertebrados e sedimento e solo) traçou-se um perfil da área tropical em questão.

### 2.2.2. Principais resultados alcançados

- A função deste capítulo foi caracterizar a área de estudo, a qual foi perfeitamente cumprida, passo a passo, conforme discriminado:
  - Solicitação e obtenção das diversas autorizações para uso de organismos silvestres com finalidade científica e experimentação animal (Sisbio/ Ibama, CEUA/ UFT);
  - Demarcação e delimitação de áreas a serem alvos de amostragem de fontes ambientais, mediante a realização de análises químicas preliminares em girinos para confirmar diferenças isotópicas, bem como a existência de anuros nos cinco pontos de estudo;
  - **Qualidade da água:** foram confirmados que realmente, a qualidade da água refletia o ambiente pretendido, em questão, ou seja, garantindo que os ambientes naturais (florestais) realmente são pontos controles, adotados como referências de comparação com ambientes agrícolas (R1, R2) e o R3 (como local antropizado com a presença de pastagem). Os pontos agrícolas (C1 e C2), porém, para o local C2, por meio de estudo de carbono e nitrogênio, constatou-se maior influência de pastagem do que de culturas de arroz e soja, e para tanto motivou denominá-lo de ambiente Misto de Pastagem com agricultura, devendo entendê-los por: Agrícola 1 (C1): onde existiu apenas cultivo de arroz irrigado por inundação; Agrícola 2\_misto ou simplesmente Misto (C2): com a presença de agricultura, com cultivo de arroz irrigado por inundação, bem como pastagem nas adjacências; Cerrado (R1): sítio onde predominou a presença de cobertura do terreno, com espécies nativas do Cerrado *stricto sensu*; Ecótono (R2): sítio com a presença de

espécies nativas tanto do Cerrado quanto de Floresta Amazônica - cobertura do terreno onde as espécies se misturam, área categorizada por (Tocantins, 2012) como ecótono, área na divisa com a Ilha do Bananal, maior ilha fluvial. E, Pastagem (R3): sítio com presença de gramínea "*Brachiaria decumbens*". Dois outros locais foram adicionados aos cinco locais de estudo desta pesquisa como áreas referências e a qualidade de água também foi verificada: O local R4, fica à aproximadamente 15 quilômetros do município de Formoso do Araguaia – TO, Mina Azul R4: nascente de água na Mina do Morro Azul conhecido por Mina Azul ou Mina do Morro Azul (Jazida e Indústria de calcário. E o Local captação: manancial (Córrego Papagaio). A qualidade da água bruta do manancial (Córrego Papagaio), havia sido monitorada semestralmente realizada Odebrecht Ambiental/ Saneatins foi relatada para 2013 a 2015, tendo em vista a sua utilização para o abastecimento público de água em Formoso do Araguaia – Tocantins, realizado pela Companhia de Abastecimento do Tocantins – Odebrecht Ambiental/ Saneatins. Os resultados referem-se à importância nos estudos ecológicos de controle de qualidade de águas e destacou-se aqueles resultados de ambientes que fugiram aos padrões recomendados Resolução Conama 357/2005, Águas Doces, Classe 2, assim como seus respectivos padrões Conama.

- **Qualidade do solo:** o solo predominante no território de Formoso do Araguaia – TO, é do tipo Plintossolos, com erodibilidade potencial de muito fraca à fraca: compreende áreas formadas por solos, normalmente, de grande significado agrícola. O alumínio trocável, no (C1, R1) apresentou parcial (ou totalmente) insolubilizado, ou seja, não mais causando danos as raízes das plantas. No entanto, um pH entre 4 e 5, indica a presença de alumínio trocável ( $Al^{3+}$ ), como em R2 (Ecótono) e R3 (Pastagem). A presença de alumínio no solo pode inibir o crescimento radicular e influenciar na disponibilidade de outros nutrientes e processos como a mineralização da matéria orgânica (Embrapa, 2015). O teor de cálcio em todos os seis locais foi considerado alto (de 2,9 a 11,4 mol/dm<sup>3</sup>). Este solo possui baixa capacidade de troca catiônica - CTC, em C2, em R1, influenciando na saturação de bases e na saturação de alumínio. Os locais C1 (Agrícola) e R1 (Cerrado) sofrem influência de cobertura do solo fitoflorestal, característico de ambiente com predomínio de vegetação do bioma Cerrado. Em C1, conta com

a

presença das manchas de vegetação em área de cultivo agrícola, que provocam variações dos teores de CTC. O local R1 e R2, apresentaram valores acima de 15  $\text{cmol}_c\text{dm}^{-3}$  indicando relação de argila na proporção de 2:1. Valores menores que 5  $\text{cmol}_c\text{dm}^{-3}$  indicam baixo teor de argila (proporção de 1:1 argila e areia), predominância de caulinita, como nos demais locais analisados (C2, R1). Quanto aos locais C1 e R1 a Saturação por Bases ter ligação - V, diretamente proporcional aos teores de Cálcio e de Magnésio, foi do tipo elevada. Uma vez os valores de  $\text{Ca}^{+2}$  e  $\text{Mg}^{+2}$  apresentaram-se baixos no solo, conseqüentemente a saturação por bases também deveria ser baixa, já que dependem do teor de cálcio e magnésio contidos no solo. No entanto, apenas neste caso, os resultados apontados nessas análises contradizem a regra, ao apresentarem altos valores de Cálcio e Magnésio, variando de 2,9 a 11,4  $\text{cmol}_c/\text{dm}^3$  para o C1 e de 1,2 a 4,4  $\text{mol}_c/\text{dm}^3$  para o R1, respectivamente para o solo dos cinco locais, quanto deveria ser baixo. Diferente do que os resultados para V nos locais R2 e R3, que apresentaram valores baixos (41,5 e 42,6), nessa mesma ordem. A partir dos níveis de  $\text{Al}^{3+}$ , pode-se dizer que, o solo são de baixo à médio, mesmo assim, não deixa de contribuir para acidez do solo, visto que este é um indicativo da presença de sua existência em dois dos seis locais (R2 de 0,5  $\text{cmol}_c/\text{dm}^3$  e no R3 com 1,0  $\text{cmol}_c/\text{dm}^3$ ).

A saturação por alumínio (m), justamente nos locais R2 e R3, também se apresentou com menores quantidades de cátions úteis, onde coincidiu com a presença de  $\text{Al}^{3+}$  trocável, no qual se obteve maior saturação por alumínio, na camada superficial do solo de 7,1 e 15,8%, respectivamente. Os teores de fósforo encontrados situaram-se na faixa de 12 a 70  $\text{mg}/\text{dm}^3$ , indicando assim a situação desse mineral neste solo, de médio a adequado, necessário para o bom desenvolvimento das culturas. O Ambiente onde se destacou com altos teores de Fósforo disponíveis (70  $\text{mg}/\text{dm}^3$ ) no solo foi basicamente, o R2, área de Transição entre Cerrado e Floresta Amazônica (Ecótono). O fósforo quando disponível em solo tropical apresenta-se, por natureza, baixo (Embrapa, 2006). Teores altos de Potássio disponíveis no solo, indicam presença de minerais primários e pouco intemperismo, o que ocorre em solos de regiões mais secas. De acordo com os

resultados os locais (C1, C2, R2 e R3), exemplificaram solos com teores de potássio

elevados. E o R1 que se apresentou na faixa mediana em relação a quantidade de potássio no solo. Locais que estão com os teores baixos para Potássio, estão mais propícios à ocorrência de problemas, como: lavagem dos solos mais drástica, as gramíneas crescem mais rápido, entretanto o excesso de umidade causa baixa aeração, decomposição de resíduos e de plantas é lenta, a acumulação de M.O é diretamente proporcional ao teor de umidade do solo (Bertoni, 1999). Entretanto, a baixa umidade relativa do ar (Tocantins), região de clima quente e seco evita esses tipos de problemas e em contrapartida, pode favorecer à salinidade ao solo, ocasionadas pelo acúmulo de Carbonato de Cálcio nos solos, que denota a cor esbranquiçada. O teor de Potássio no solo apresentou médio (C1); baixo (C2); médio (R1); alto (R2); alto (R3). A composição granulométrica responsável por definir a classe textural do solo, classificou em C1 (Franco Argilo-arenosa à Arenosa); C2 (Arenosa); R1 (Arenosa); R2 (Argilo-arenosa); R3 (Franco Argilo-arenosa à Arenosa), conforme Figura 2.8, (do capítulo II). Quanto ao teor de matéria orgânica dos solos do Tocantins é relativamente baixo (< 1,5%), com exceção dos solos mais úmidos. No entanto, na área de estudo, registrou-se teores elevados de M.O (> 3%), nos locais C1 (5,65%) e em R2 (4%). O Índice de fertilidade do solo composto a partir dos valores de (P, Ca<sup>+2</sup>, Mg<sup>+2</sup>, K e variação de pH), determinou a fertilidade classificada no solo dos locais como: R1 de bom a médio para um pH alto; R2 de bom à médio para um pH baixo; R3 de bom a médio para um pH muito baixo; C1 de bom à médio com pH variando médio; C2 de bom à médio com pH médio. A fertilidade dos solos dos locais desta pesquisa podem assim ser definidos: C1 - agricultura de arroz e soja, apresentou boa fertilidade, textura Argilo-Arenoso à Arenoso, com disponibilidade de M.O variando de baixo à alto, a depender do status de colheita; P e K considerados adequados, Solo do tipo ácido; C2 - Misto, de pastagem e agricultura de arroz e soja, apresentou fertilidade de média a boa; Distrófico (baixo teor de M.O); Arenoso e ácidos; Potássio (K) com baixos teores e Fósforos (P) adequados. Em R1 – (Cerrado, com solo ácido; fertilidade de médio a bom; textura arenosa, P adequado e K com níveis considerados medianos e caráter distrófico, redução do teor de M.O (médio). Distrófico: termo usado para caracterizar solo de fertilidade baixa com saturação de bases (V%) e alumínio ( $100 \times \text{Al}^{+3} / \text{Al}^{+3} +$



S) menores que 50% (Kiehl, 1979); em R2 - Ecótono, Solo extremamente ácido, com P e K adequados, com teores altíssimos; Textura Argilo-Arenosa; M.O em elevado teor; em R3 – pastagem, apresentou boa fertilidade e teor de M.O foi intermediário; Argilo- Arenoso; P e K adequados, porém solos extremamente ácidos.

- **Pesticidas em amostras de águas:** não foi registrado resíduos de pesticidas nas amostras dos cinco locais de estudo, bem como em águas de lagoas destinadas ao abastecimento da cidade de Formoso do Araguaia - TO.

- **Pesticidas em amostras dos sedimentos:** Para treze compostos analisados registrou-se valores acima dos limites de quantificação do equipamento em locais agrícolas (C1, C2). Para os dezessete compostos não há referência de Valor Máximo Permitido – VMP regulamentado pela legislação brasileira (Conama 420/ 2009). Os sedimentos dos locais referências (R1, R2 e R3) não apresentaram resíduos desses pesticidas detectados em valores acima dos limites de quantificação do equipamento - LQ's (Tabela 2.5, do capítulo II). Os pesticidas analisados pertencem as classes de inseticidas e fungicidas (nos respectivos grupos químicos): Inseticidas: acetamiprido, imidacloprido, tiametoxam (neonicotinoides); flubendiamida (organoclorado); tiodicarbe (metilcarbamato de oxima); profenofos (organofosforados); clorantraniliprole (antranilamida); cipermetrina (piretroide); fipronil (pirazol). e em fungicidas (grupo químico): azoxistrobina, piraclostrobina, trifloxistrobina (estrobilurina); ciproconazol, difenoconazol, epoxiconazol; tebuconazol (triazol); fluaziam (do grupo químico das dinitroanilinas).

- Na maioria das vezes os princípios ativos são utilizados de forma associada, conforme apresentado: *imidacloprido e tiodicarbe; tiametoxam + cipermetrina; trifloxistrobina + tebuconazol; piraclostrobina + epoxiconazol; fipronil + piraclostrobina; azoxistrobina + ciproconazol (mg/kg); trifloxistrobina + ciproconazol.*

- **Composição da vegetação:** A vegetação tropical amostrada nos cinco locais de estudo em Formoso do Araguaia – TO, contemplou 29 (vinte e nove) Famílias (Tabela 2.6 do Capítulo II). Os locais com maior diversidade de espécies foram o Agrícola 2\_misto (32 Famílias) e o Cerrado (28 Famílias). Das 74 amostras coletadas, compreenderam à 14 Famílias (32 amostras), identificadas no ambiente

Misto (Arroz/ soja e pastagem); 1 Família (2 amostras) identificadas no ambiente “Agrícola”, coberto por Arroz e onde também se plantam soja após colheita do arroz; “Cerrado”, 14 Famílias (28 amostras); Ecótono com 4 Famílias (4 amostras); e em “Pastagem”, com 8 Famílias (8 amostras).

- **Composição de invertebrados:** os achados confirmaram invertebrados que compõem a dieta alimentar de anfíbios anuros, em quantidades que variaram nos cinco ambientes, do estudo, permitindo comprovar a composição de alimentos de anuros existentes na região de estudo. A riqueza na Pastagem apresentou-se com 18 ordens e onde houve menor registro foi no Agrícola 1 (no meio do cultivo de arroz e soja), com seis ordens. Os resultados indicaram que a disponibilidade presente nessa região tropical predominou a Ordem Hymenoptera (formigas), Coleóptera (besouros) e Aranea (aranhas). Todos fazem parte de hábitos alimentares de anfíbios, apesar de serem generalistas, mas algumas espécies podem se alimentar mais de alguns que de outros.

- **Diversidade de espécies de anuros:** O índice de diversidade *Shannon-Wiener* registrado para anuros capturados na área de estudo (2015), apresentou valor menor em área agrícola (C1 = 0,049); C2 = 1,53), do que em locais referências (R1 = 1,67); R2 = 2,63); R3 = 2,11), ainda que o R3 esteja coberto por vegetação plantada (pastagem), apresentou maior riqueza em função da existência de fragmentos florestais em meio ao *B. ducumbens*, conforme apresentados na Tabela 2.7, (do Capítulo II).

- **Biometria de anuros da região tropical:** o *n* amostral foi de 418 animais, 33 espécies registradas e com 12 (doze) parâmetros morfométricos medidos por espécime. Totalizou-se quatro amostragens, equivalentes à 20 (vinte) transectos, em torno de seis homens/ hora, perfazendo um total de 230 (duzentos e trinta) horas de captura noturnas, percorridos nos cinco ambientes de estudo e a distância estimada (conferidas vias terrestres de acesso/ GPS/ imagens de satélites), entre os pontos variou em torno de 12 a 42 000 metros, a partir da qual, assumimos que os animais capturados em ambiente, não se deslocaram distâncias superiores a 12 metros para habitar o ambiente seguinte. Os ambientes considerados para comparativos da diversidade morfológica de espécies de anuros foram: *Referências* (Cerrado, Ecótono) e *Antropizados* (Agrícola, Pastagem, Misto de agrícola com

pastagem). A anurofauna mais abundante e com maior diversidade de espécies foi a situada no Ecótono, com 156 anuros capturados, a média de massa corporal desses animais foi de 3,6 gramas ( $2,8 \pm 4,4$ ). Entretanto, vale ressaltar que, o tamanho dos animais variou de 0,10 à 41,20 gramas, e um dos fatores que contribuiu foi a existência de animais juvenis nas capturas, além da diversidade de espécies encontrada ( $H' = 2,63$ ).

- Os ambientes tropicais (Ecótono, Agrícolas, Pastagem, Cerrado) foram representados por 23 (vinte e três) espécies: *Dendropsophus cruzi*, *Dendropsophus nanus*, *Elachistocleis cesarii*, *Elachistocleis ovalis*, *Hypsiboas albomarginatus*, *Hypsiboas boans*, *Hypsiboas raniceps*, *Hypsiboas rosenbergi*, *Leptodactylus chaquensis*, *Leptodactylus fuscus*, *Leptodactylus latrans*, *Leptodactylus leptodactyloides*, *Leptodactylus pentadactylus*, *Leptodactylus podicipinus*, *Leptodactylus pustulatus*, *Lysapsus laevis*, *Phyllomedusa hypochondrialis*, *Physalaemus albonotatus*, *Physalaemus centralis*, *Physalaemus cuvieri*, *Rhinella granulosa*, *Rhinella ocelata*, *Rhinella schneideri*. O Ecótono: foi representado majoritariamente, pelo gênero *Physalaemus* e *Leptodactylus*, contemplando 10 (dez) das espécies mencionadas: *D. cruzi*, *E. ovalis*, *H. raniceps*, *L. latrans*, *L. leptodactyloides*, *L. laevis*, *P. hypochondrialis*, *P. albonotatus*, *P. cuvieri* e *R. schneideri*. Este local, em termos de espécies presentes, foi o mais diverso. No Cerrado: a espécie que predominou foi a *Rhinella ocelata* e em Pastagem: *Elachistocleis cesarii*, *Leptodactylus chaquensis*, *Leptodactylus podicipinus*. Já os dois ambientes sob influência agrícola, foram representados pelas espécies: *Dendropsophus nanus*, *Hypsiboas albomarginatus*, *Hypsiboas rosenbergi*, *Leptodactylus pentadactylus*, *Leptodactylus pustulatus*, *Hypsiboas boans*, *Leptodactylus fuscus*, *Physalaemus centralis*, *Rhinella granulosa*. A condição corporal da anurofauna foi interpretada a partir das médias e desvios padrões basicamente de: **biomassa** (gramas): peso fresco do animal; **CRC** (milímetros): comprimento rostro-cloacal; em alguns casos, valeu-se também de **DT** (milímetros): diâmetro do tímpano; **CP** (milímetros): comprimento da pata. Constatou-se os efeitos em termos de biomassas tanto em anuros arborícolas quanto naqueles de hábitos terrícolas, em diferentes níveis de organização biológica a fim de diagnosticar a significância e magnitude do impacto dos pesticidas às populações

de anfíbios. Apenas foram observadas diferenças biométricas para as seguintes espécies de anuros: *Leptodactylus pustulatus*: capturada nos locais R1 (n = 4) e em C2 (n = 2). Ao comparar os parâmetros biométricos dos indivíduos dos dois locais foram observadas diferenças. Os animais capturados em R1 apresentaram maior comprimento rostro-cloaca, comprimento do membro posterior e massa do que os do local C2 (teste *Student t*:  $p \leq 0,0179$ ; Figura 2.8, Capítulo II). *Hypsiboas raniceps*: capturada nos locais R2 (n = 8), R3 (n = 6), C1 (n = 4) e C2 (n = 4). Os parâmetros morfométricos medidos nos indivíduos desses locais apresentaram diferenças em suas condições corporais. Os animais capturados em C1 apresentaram maior diâmetro do tímpano do que os dos locais C2, R2 e R3 e os do local C2 apresentaram maior massa do que os dos locais C1, R2 e R3 e (teste *Tukey*:  $p \leq 0,028$ ; Figura 2.10, Capítulo II). *Leptodactylus latrans*: capturada nos locais R1 (n = 14), R2 (n = 14), C1 (n = 45), C2 (n = 48) e em R3 (n = 9). Ao compararmos parâmetros biométricos dos anuros dos cinco locais, foram observadas diferenças em suas condições corporais. Os animais dos locais C1, C2 e R1 apresentaram maior comprimento rostro-cloaca, diâmetro do tímpano, comprimento do membro posterior e massa do que os dos locais R2 e R3 (teste *Kruskal-Wallis*:  $p \leq 0,00$ ; Figura 2.13, do capítulo II).

### 2.2.3. Ensaio de ecotoxicidade a amostras de água superficial e sedimentos

Os efeitos da toxicidade de água e do sedimento provenientes de campo à girinos de *Physalaemus cuvieri*, foram verificados em testes de toxicidade realizados com larvas provenientes de Cerrado, do município de Paraíso do Tocantins. Após submetidos, por 7 (sete) dias, de exposição em condições laboratoriais à água e sedimento de sistema agroflorestais originados de Formoso do Araguaia (área de estudo), resultou em efeitos aos organismos quando comparados ao controle (Fetax).

A mortalidade de girinos de *P. cuvieri*, em ensaios de toxicidade com água e sedimentos de campos, de sistemas Agroflorestais comparados ao Controle (Fetax), foi menor que 20% (16,67 %) no Grupo Controle e para a população do ambiente R3 (com predomínio de cobertura do solo por pastagem, aos 7 (sete) dias de exposição. Para os demais tratamentos (R1, R2, R4, C1, C2, C0), observou-se

que a mortalidade foi de 0%. Os dados para medidas de comprimentos de cabeça, cauda e CT aos 7 (sete) dias de exposição à água e sedimento não apresentaram distribuição normal ( $p\text{-value} < 0,05$ ). Observando-se o *Equal Test Variance*, para os mesmos parâmetros avaliados, via *Bartlett's test* verificou-se que as variâncias são iguais ( $p\text{-value} > 0,05$ ). Portanto, as análises *one-way*, considerando 3 ou mais populações (*Kruskal-Wallis*), resultou em médias com diferenças extremamente significantes ( $p\text{-value} < 0,05$ ).

Algumas espécies dos gêneros (*Hypsiboas*, *Leptodactylus* e *Physalaemus*) que ocorreram em área tropical alterada são ecologicamente generalistas e podem invadir ambientes antropizados, conforme percebeu-se que tanto houve registro das mesmas, tanto em Ecótono quanto em Pastagem e Agrícola, durante 2014 a 2018, em Formoso do Araguaia. Neste capítulo, cumpriu-se com a função de avaliar a qualidade ambiental de cinco ambientes, por meio de diversas fontes e técnicas. Parte das amostras de água relacionaram-se especificamente à ambientes lóticos, e os resultados foram comparados à classificação corresponde (Classe 2 - Conama), por entendermos que em algum momento essas águas e sedimentos podem atingir ambientes lênticos por lixiviação (no período chuvoso), tendo em vista que é uma região que passa por situações de inundações, ocasionando interferência nos resultados obtidos. Quanto a água utilizada nos canais de irrigação do ambiente agrícola é drenada para o Rio Formoso que atende há outros usos demandados.

Este capítulo cumpriu plenamente com a função de caracterização dos ambientes deste estudo. De fato, os resultados obtidos a partir das comparações realizadas aqui, propiciaram traçar direcionamentos fundamentais para o desenvolvimento dos ensaios de curta duração com espécies de anuros comuns nos ambientes da região tropical, quer seja natural, quer seja antropizado (por diversas fontes de contaminação como pastagem e agrícola).

O uso consorciado das técnicas de análises físico-químicas da qualidade da água e do solo; detecção e quantificação de resíduos de pesticidas em amostras de sedimento e de água; biometria de anuros adultos e ensaios de toxicidade com larvas de anuros em água e sedimentos de campo, contaminadas por pesticidas agrícolas, se mostrou cientificamente, muito útil permitindo a análise do risco a que

a anurofauna está exposta. Determina-se que, a partir do desenvolvimento deste trabalho, ora aqui apresentado, os efeitos advindos dos pesticidas agrícolas à anfíbios, de região tropical passa a ter um marco significativo, já que foi possível avaliar sob vários ramos do saber as diferentes alterações que resultaram na composição minuciosa da qualidade ambiental daquela região.

### **2.3. Capítulo III**

Influência da modificação da paisagem em nicho isotópico de anuros em região tropical.

#### **2.3.1. Objetivo**

Determinar e comparar o nicho isotópico de girinos e adultos de anuros tropicais, entre ambientes com diferentes graus de modificação, Natural, Pastagem Agrícola.

#### **2.3.2. Principais resultados alcançados**

- Observou-se que tanto anuros adultos quanto girinos se adequaram as modificações no uso do solo. Esse padrão se relacionou a disponibilidade de ambientes de reprodução e de recursos alimentares utilizados pelos anfíbios, a manutenção de condições físico-químicas locais nos corpos de água e a dominância de espécies generalistas, nos diferentes ambientes amostrados.

- Como sugestões para estudos futuros indicou-se priorizar espécies com diferentes graus de sensibilidades a modificações antrópicas, na escala local de corpos de água ocupados por anuros e a combinação de diferentes metodologias;

- A cobertura forestal natural que está situada em região tropical do estado do Tocantins, tem sido gradativamente substituída por agricultura, reduzindo consideravelmente a área com cerrado e floresta. Com base em dados disponíveis, ainda que defasados, percebeu-se uma redução de mais de 20% apenas do cerrado em 17 anos (1990-2007), equivalente a uma área de mais de 1 milhão de hectáres; enquanto isso, ocorreu um incremento de aproximadamente 3 milhões de hectáres na área de agropecuária, representando um aumento de 37% dessa matriz de uso do solo;

- **Composições isotópicas do solo:** não houve diferenciação entre as três matrizes de uso do solo (Natural, Pastagem e Agrícola);
- **Composições isotópicas da vegetação:** evidenciou-se variação entre os grupos florísticos, sendo que para o NATURAL foi o que mais se diferenciou dos outros usos (com valores médios de  $\delta^{15}\text{N}$  de 3,15‰ e de  $\delta^{13}\text{C}$  de -29,56‰); sendo Pastagem (4,99‰ e -25,92‰) e Agrícola (3,95‰ e -25,02‰).
- **Composições isotópicas dos sedimentos:** o ambiente de Pastagem apresentou valores mais elevados de  $\delta^{13}\text{C}$  (-13,5‰), do que o Natural (-26,0‰) e o Agrícola (-25,8‰). Em relação aos resultados de Nitrogênio ( $\delta^{15}\text{N}$ ), o ambiente de Pastagem apresentou os valores mais baixos (3,5‰), quando comparados ao Agrícola (4,4‰) e Natural (5,5‰).
- **Composições isotópicas dos invertebrados:** foram registrados 72 artrópodes, distribuídos em 11 (onze) grupos taxonômicos, com a diversidade discriminada por ambiente conforme: *Agrícola (oito grupos):* Aranae, Coleoptera, Diptera, Hymenoptera, Lepidoptera, Megaloptera, Odonata e Orthoptera; *Natural (oito grupos):* Aranae, Coleoptera, Dermaptera, Diptera, Gastropoda, Hymenoptera, Lepidoptera e Orthoptera; *Pastagem (sete grupos):* Aranae, Coleoptera, Dermaptera, Hymenoptera, Lepidoptera, Megaloptera e Orthoptera. Os valores de  $\delta^{13}\text{C}$  para os artrópodes do ambiente de Pastagem (-16,37‰) foi significativamente diferentes dos valores apresentados para artrópodes dos demais ambientes, Natural (-24,54‰) e Agrícola (-24,25‰). Já os resultados de  $\delta^{15}\text{N}$  não apresentaram diferenças significativas entre os três ambientes Pastagem (6,99‰), Natural (6,08‰) e Agrícola (5,99‰).
- **Composições isotópicas de girinos de anuros tropicais:** representados por uma amostragem de 175 girinos distribuídos nos três ambientes, apresentou maior abundância no Agrícola (n = 124), do que no Natural (n=45) e Pastagem (n=6). Os valores (média  $\pm$  DP) da composição isotópicas (C e N) de **girinos** nos três ambientes foram:  $\delta^{15}\text{N}$  (‰): Natural (5,54  $\pm$  2,45); Pastagem (6,67  $\pm$  2,44); Agrícola (4,69  $\pm$  1,49) ‰ e  $\delta^{13}\text{C}$  (‰): Natural (-17,88  $\pm$  2,59); Pastagem (-18,13  $\pm$  2,53); Agrícola (-24,92  $\pm$  4,43) ‰. Esperava-se que as composições isotópicas dos girinos fossem mais relacionadas às composições isotópicas do sedimento, como de fato ocorreu para o ambiente Agrícola. No entanto, para o

ambiente Natural não houve relação entre os valores isotópicos (C e N) de girinos com sedimentos. No caso do ambiente de Pastagem, apesar de não ter sido verificada relação entre os resultados isotópicos de girinos e sedimentos, o *n* amostral de girinos nesse ambiente foi relativamente baixo (6), prejudicando a obtenção de análises mais precisas. **Nicho Isotópico de girinos:** os girinos do ambiente Agrícola apresentaram maior amplitude de nicho isotópico com valor de 20,12 (14,76 – 148,60), completamente distintos dos valores de girinos dos ambientes Natural (com amplitude intermediária de 16,04 (9,36 – 115,20)) e de Pastagem (do tipo restrito com 13,80 (3,38 – 211,60)). Os girinos desses dois ambientes (Natural e de Pastagem), identificados com amplitudes de intermediária à restrita, apresentaram considerável sobreposição de seus nichos isotópicos.

- **Composições isotópicas de anuros adultos tropicais:** dos 75 anuros amostrados, observou-se que houve maior abundância e riqueza de espécies no ambiente *Natural* (n=42 e 14 espécies), com maior diversidade no gênero *Leptodactylus*; *Agrícola* (n=31 e 11 espécies), composta por *Leptodactylus*, *Osteocephalus sp.*, *Dendropsophus cruzi* e *Scinax sp.*; *Pastagem* (n=2 e 2 espécies), com *L. labyrinthicus*, *L. latrans*, *Dendropsophus cruzi* e *Scinax sp.* O gênero *Leptodactylus* foi comum aos três ambientes. Já os gêneros *Dendropsophus* e *Scinax* foram comuns somente aos ambientes Agrícola e Pastagem. O gênero *Osteocephalus* só foi registrado no ambiente Agrícola. A espécie mais abundante em toda a região tropical estudada foi a *L. latrans*. Os valores (média ± DP) das composições isotópicas (C e N) de **anuros adultos** nos três ambientes foram:  $\delta^{15}\text{N}$  (‰): Natural (7,98 ± 0,90); Pastagem (6,80 ± 0,98); Agrícola (8,18 ± 1,35) e  $\delta^{13}\text{C}$  (‰): Natural (-22,29 ± 2,35); Pastagem (-21,20 ± 0,82); Agrícola (-21,29 ± 2,15). Evidenciou-se uma pequena relação entre os valores de  $\delta^{13}\text{C}$  e de  $\delta^{15}\text{N}$  dos anuros adultos com os valores dos artrópodes dos ambientes Natural e Agrícola, entretanto, a expectativa era que esses valores dos grupos de anuros e de artrópodes estivessem mais fortemente, relacionados nos três ambientes. De qualquer forma, mais uma vez no ambiente de Pastagem, predominou um baixo *n* amostral (2), que impediu qualquer afirmação nesse sentido; **Nicho Isotópico de anuros adultos:** os nichos isotópicos de anuros adultos apresentaram elevada



sobreposição entre os ambientes Natural (com influência maior de plantas C3) e Agrícola (mais influenciados por plantas C4). Observou-se que os valores da amplitude no Agrícola foram mais elevados do que no Natural, de 9,05 (4,53 – 124,30) e de 7,06 (3,99 – 102,60), respectivamente. E, novamente, o baixo  $n$  amostral (2), no ambiente de Pastagem não permitiu afirmações acerca do nicho isotópico de anuros adultos. Os valores de comprimento rostro-cloacal - CRC dos anuros adultos não interferiram nas composições isotópicas de  $\delta^{13}\text{C}$  ( $R^2$  ajustado = 0,011,  $p = 0,18$ ) e de  $\delta^{15}\text{N}$  ( $R^2$  ajustado = -0,007,  $p < 0,49$ ).

- A pequena quantidade de anuros que foi localizada em ambiente de Pastagem, impediu de se obter resultados mais precisos para esse tipo de ambiente. Entretanto, não foi um fator impeditivo ou que tenha influenciado no bom andamento deste trabalho;

- Portanto, acredita-se que a metodologia utilizada no Capítulo III, permitiu identificar as composições isotópicas e conseqüentemente, determinar o nicho isotópico de anuros tropicais, tanto em girinos quanto em adultos, bem como comparar as variações de ambientes Natural, Agrícola e Pastagem, associados a dados das diversas fontes de recursos ambientais (invertebrados, vegetação, sedimento) utilizados por eles.

## 2.4. Capítulo IV

Comparação da sensibilidade de girinos de anuros tropicais a pesticidas agrícolas.

### 2.4.1. Objetivo

Avaliar a toxicidade aguda de quatro formulações comerciais de pesticidas para estágios larvais de anuros e determinar o risco que os compostos constituem a anfíbios em níveis ambientais permitidos.

### 2.4.2. Principais resultados alcançados e função deste capítulo:

- Os ensaios ecotoxicológicos foram realizados para a avaliação da

resposta de diferentes estágios larvais a pesticidas presentes no sedimento de ambientes aquáticos ou utilizados em larga escala. Os ensaios foram agudos, de curta duração (96 horas), com análise de mortalidade dos organismos teste; e avaliou-se parâmetros subletais como crescimento, a partir dessa etapa foi possível proceder com:

- Comparação dos resultados aqui obtidos com outros dados de toxicidade que existam na bibliografia para anfíbios (quer embriões quer larvas);

- Comparação da toxicidade de cada uma das quatro formulações comerciais de pesticidas entre diferentes espécies de anfíbios e a variação da sensibilidade para as espécies estudadas ou, ainda reportadas na literatura científica;

- Diante dos dados de toxicidade obtidos para os girinos e a partir dos dados de toxicidade disponíveis na literatura para embriões e para os quatro compostos estudados, os estágios de menor desenvolvimento são mais vulneráveis a esse tipo de contaminação;

- Mas, ainda, permite sugerir o estágio de desenvolvimento mais sensível a se usar em análises de risco de pesticidas para anfíbios quando a menor toxicidade para o Roundup Original®, em girinos da espécie *P. cuvieri*, 25G, em Fetax *softwater*, evidenciados pelos registros de efeitos significativos em concentrações intermediárias de 7,46 – 10,74 mg e.a./ l, com reduções no comprimento do corpo (média  $\pm$  desvio padrão que variaram: 9,90 - 10,27  $\pm$  2,02 - 1,79 mm).

- Os dados de toxicidade com valores de concentrações dos quatro pesticidas estudados em águas superficiais (onde é expectável encontrar girinos) constituem um risco para os girinos;

- Para alguns dos quatro pesticidas utilizados (Cruiser, Larvin) não foram localizados dados de toxicidade para outros anfíbios na literatura portanto, ao comparar a sensibilidade dos girinos com a sensibilidade de outras espécies dulçaquícolas aos compostos estudados observou-se que os anfíbios são mais ou menos sensíveis do que as outras espécies dulçaquícolas para as quais há dados de toxicidade e perceber se os valores máximos admissíveis no ambiente das quatro formulações comerciais dos pesticidas, derivados das toxicidades existentes

para outras espécies que não anfíbios, são seguras para os anfíbios;

- Efeitos subletais do Roundup e Larvin foram apresentados em estágios larvais de desenvolvimento.

### 3. DISCUSSÃO FINAL DA TESE

#### 3.1 Efeitos dos pesticidas agrícolas à anuros tropicais

Para (Primack & Rodrigues, 2001) as transformações dos sistemas naturais estão diretamente relacionadas às atividades humanas devastando comunidades biológicas que levaram anos para se desenvolver.

No capítulo II apresentamos a principal atividade humana, que encabeça a lista de atividades contributivas para essa devastação, o uso de pesticidas agrícolas. O Brasil foi identificado como um dos países que mais utiliza compostos químicos no manejo do solo, para erradicar plantas e contra organismos indesejados na cultura agrícola ao mesmo tempo, o país passa a ser uma boa oportunidade para a agricultura em função de suas características edafoclimáticas favoráveis, disponibilidade hídrica e, uma vasta extensão territorial ainda com solos aptos à prática agrícola. O Tocantins foi o último estado a ter sido criado no Brasil e o critério utilizado para divisão foi político-administrativa, ou seja, a parte do território que atravancada o desenvolvimento do estado de Goiás. Praticamente, todo coberto por vegetação de Cerrado *stricto sensu*, antigamente era visto como motivo de atraso, devido seus solos poucos vantajosos para cultivo, com baixa fertilidade, hoje são disputados, pois se “bem manejados pode resultar em alta produtividade”. Foi o suficiente para se tornar palco de descontroles em: desmatamentos, queimadas e uso de pesticidas.

Encontramos uma correlação negativa entre os parâmetros físico-químicos do ensaio de 96 horas e a área das lagoas em área agropastoril e florestal natural em Formoso do Araguaia – TO. Essa correlação indica um possível efeito de diluição na concentração de pesticidas assim como constatado também por Gonçalves et al. (2017).

As análises químicas são imprescindíveis na identificação e na quantificação de compostos químicos específicos no ambiente, mas aqueles não cobertos pela técnica analítica são negligenciados (Fent, 2003). Além disso, a caracterização química de uma amostra ambiental, não indica o potencial tóxico de uma mistura complexa aos organismos aquáticos, assim como a toxicidade (Zagatto & Bertoletti, 2008).

Cunha & Calijuri (2011) relataram que no Brasil, esforços se concentraram na avaliação da heterogeneidade espacial e da variabilidade temporal dos grupos funcionais em reservatórios para abastecimento de água exemplificado por (Bouvy et al., 2003), em reservatórios urbanos (Fonseca & Bicudo, 2008), em lagos originados de planícies de inundação de rios (Bovo-Scomparin & Train, 2008), entretanto, esse tipo de abordagem é menos comum para reservatórios de usos múltiplos, como é o caso da região de estudo Formoso do Araguaia. Em alguns casos, ferramentas importantes são mal empregadas e pouco contribuem para resultados positivos, como exemplificado por (Gemelgo et al., 2009), mediante um estudo sobre a variação sazonal, de grupos de fitoplanctônicos, analisada em reservatórios de São Paulo, cuja água é utilizada para abastecimento público, industrial e recreação. A principal conclusão nesse caso, foi que a dinâmica temporal do fitoplâncton esteve associada à temperatura, extensão da zona eutrófica, turbidez, condutividade, pH e concentrações de oxigênio dissolvido, nitrato e fósforo total. A avaliação dos grupos funcionais fitoplanctônicos pode oferecer subsídios para o gerenciamento dos recursos hídricos. A ocorrência de alguns grupos está diretamente relacionada ao estado trófico do sistema aquático e, nesse sentido, a abordagem fitossociológica e serem indicativos do grau de enriquecimento do lago ou reservatório estudado.

Nesse contexto, o objetivo principal desta pesquisa foi avaliar a variação sazonal dos grupos funcionais fitoplanctônicos em reservatório tropical de usos múltiplos, o reservatório de Itupararanga (SP, Brasil). A principal motivação para esse estudo foi a relativa carência de informações sobre os grupos funcionais em sistemas aquáticos que apresentam usos diversos da água. Além disso, mais especificamente, a necessidade de apresentar subsídios para o manejo do ambiente estudado, cujo nível trófico tem aumentado nos últimos anos. Como

objetivos específicos, investigaram-se a influência das condições ambientais sobre a distribuição relativa desses agrupamentos fitoplanctônicos e analisou-se quais foram os grupos mais bem sucedidos em face às características físicas e químicas da água nos diferentes períodos de coleta.

Os anfíbios que habitam áreas agrícolas estão constantemente, expostos a grandes quantidades de produtos químicos, que atingem o ambiente aquático, durante a estação chuvosa, por meio do escoamento, drenagem e lixiviação (Gonçalves et al., 2017), e podem ainda sofrer alterações da composição isotópica devido às contaminações aquática e terrestre (Kupfer et al., 2006). A falta de dados científicos para embasar processos e impactos ambientais, motivaram para o emprego de ferramentas precisas, como a ecologia isotópica, ecotoxicologia e os anfíbios.

De fato, há uma lacuna muito grande a ser preenchida, a falta de dados ou a não divulgação de informações que tenham validade científica, dificulta a compreensão e análises mais precisas sobre os efeitos dos pesticidas na saúde ambiental. De fato, foi um obstáculo nesta pesquisa, e frequentemente, indicamos a escassez de informações sobre o monitoramento da qualidade físico-química da água e do solo, em área de influência agrícola, os aspectos funcionais de estruturas larvais dos anfíbios, desenvolvimento das características morfológicas entre os táxons e suas funções, que poderiam favorecer análise integrada para a ecologia das populações com fins à conservação ambiental. E até que, mais desses papéis em nosso conhecimento sejam preenchidos, discussões aprofundadas sobre a evolução das estruturas morfológicas de girinos poderão refletir inadequações para o conhecimento.

Abordamos e discutimos a toxicidade aguda e subletal de formulações comerciais de quatro pesticidas utilizados na produção brasileira de soja e arroz para girinos de três espécies de anuros tropicais: *Physalaemus cuvieri*, *Phyllomedusa azurea*, *Leptodactylus albopunctatus*. Os valores calculados de concentração letal mediana para *P. cuvieri* foram flutuantes a depender do estágio de desenvolvimento empregado e da solução meio empregada e parcialmente, poderia estar relacionado com a condutividade elétrica da água (*Fetax hardwater e softwater*). Os valores de toxicidade demonstraram pouca variação entre as

espécies *P. azurea* e *P. cuvieri*) e a toxicidade do herbicida Roundup Original®.

Apesar da alta biodiversidade de anfíbios e do aumento do uso de pesticidas em países tropicais, o conhecimento sobre os seus efeitos e a sensibilidade dos anfíbios tropicais permanece limitado (Daam et al., 2019). No entanto, os estudos relatados avaliaram o potencial de contaminação dos recursos hídricos pelo Roundup Original®, Score®, Larvin® e o Cruiser®, e os danos a organismos aquáticos devido a estresses provocados. Percebemos que diferentes respostas são provocadas a ambientes dulcícolas relacionando o clima tropical, a sensibilidade do ecossistema e as práticas agrícolas.

A caracterização da exposição anteriormente, apresentada envolveu dados de monitoramento químico em campo e de ensaios ecotoxicológicos, os quais apresentam limitações. De acordo com Rebelo & Caldas (2014), a variabilidade geográfica natural e espacial relacionada ao evento da aplicação do pesticida e seu comportamento no ambiente pode dificultar a obtenção de dados de monitoramento e alcançar resultados reais de sensibilidade para estimar a variabilidade temporal e espacial decorrentes da exposição. Mas, essa pode ser uma ferramenta de exploração das interações entre os diversos fatores relevantes e prever os efeitos dos pesticidas sobre as populações de espécies não-alvo, como é o caso dos anfíbios anuros.

O glifosato é considerado pouco tóxico aos vertebrados e não permanece ativo no ambiente, ficando firmemente adsorvido, tão logo atinge o solo. Devido sua alta solubilidade em água e baixa solubilidade em lipídios não tem poder de bioacumular (Grisolia, 2005). Tornando urgente o desenvolvimento de pesquisas que avaliem os reais efeitos dos defensivos químicos sobre a fauna silvestre brasileira (Kopp et al., 2010).

O manejo de ecossistemas de água doce impactados por atividades antrópicas, provoca alterações das variáveis físicas, químicas e biológicas da água. Os efeitos da aplicação dos agrotóxicos não são somente locais e mono-específicos, uma vez que diversos processos promovem a distribuição do contaminante entre diferentes compartimentos e espécies. É fato, que a ampla utilização de agrotóxicos no processo de produção agropecuária tem sido responsável por uma série de modificações ambientais, relacionadas não apenas

com a eliminação direta de determinadas espécies (efeito agudo), mas também com alterações a médio e longo prazo, com implicações crônicas, para a comunidade biológica, resultando em alterações estruturais e funcionais do ecossistema (Resende, 2015).

A plasticidade do desenvolvimento dos anuros relacionada à sua grande diversidade ecológica e geográfica enquanto, a compreensão da ocupação ambiental por girinos envolve às suas peculiaridades morfológicas, como exemplificado por espécies tropicais (*Rhinella ictérica*) que independentemente, do estágio de desenvolvimento 23, 25, 30, 37, 39 e 42, conforme (Gosner, 1960), que apresentou crescimento isométrico, com desenvolvimento proporcional, das partes corporais (Lima & Pederassi, 2012).

Dentre os quatro pesticidas estudados aqui, verificamos que até então, tanto para girinos, como outros organismos dulcícolas, o Roundup Original® foi o químico mais empregado em pesquisas científicas. Formulado a base de glifosato, um organofosforado de baixa toxicidade (DL50 de 8.300 mg kg<sup>-1</sup>), o qual representa 60% do mercado mundial dos herbicidas não seletivos, tem seu uso praticado por mais de 20 anos. Em condições ambiente, tanto o glifosato quanto seus sais são sólidos cristalinos muito solúveis em água e quase insolúvel em solventes orgânicos e, portanto, raramente detectado na água e concentrações mais altas são encontradas no solo. Quando aplicado por vários anos tem sua degradação mais acelerada em relação ao produto aplicado pela primeira vez (Rezende, 2008).

As diferenças observadas em relação às concentrações que se mantêm na área de aplicação ou que chegam a determinado ecossistema se devem ao fato de que o transporte e destino desses compostos serem influenciados por uma série de processos físicos, químicos e biológicos, como: infiltração, evapotranspiração, volatilização, adsorção, dessorção e biodegradação. A dissipação dos agrotóxicos é determinada por uma combinação entre esses processos, as condições ambientais (temperatura, pluviosidade, ventos), a topografia do terreno, as propriedades físico-químicas das substâncias envolvidas e do solo (pH, teor de matéria orgânica e argila, umidade), bem como a prática agrícola adotada (Ippolito & Fait, 2019; Rezende, 2008). Assim, notamos também que esses fatores poderiam ter influenciado nos resultados obtidos pelo nosso trabalho, em região tropical e

diferentes toxicidades do Roundup Original® foram registradas, para *P. cuvieri*, 96 horas de exposição.

Os ambientes, em que cada espécie ocorre, são determinados por sua história de vida, heterogêneo é fortemente, influenciado por suas estratégias para defesa ou reprodução. Desse modo, em diversas localidades do domínio do Cerrado já foram descritos padrões de associação entre as espécies presentes e os ambientes disponíveis, podendo ser identificadas espécies típicas de formações florestais ou abertas, de corpos da água permanentes ou temporários, lênticos ou lóticos (Valdujo et al., 2011).

Em corpos hídricos lênticos, a concentração de oxigênio dissolvido normalmente, é reduzida e a partir da inserção de girinos a taxa chegou a 2,58 mg l<sup>-1</sup>, devido à intensa atividade metabólica para a realização da metamorfose, girinos em estágio pré-metamórfico apresentam uma elevada demanda de oxigênio em consequência da respiração e há redução do consumo de oxigênio (Pochini & Hoverman, 2017; Rissoli, 2012; Ortiz-Santaliestra et al., 2011; Mann et al., 2009; Ortiz-Santaliestra et al., 2006).

Essas combinações de alterações da qualidade físico-química da qualidade do habitat de *P. cuvieri*, com o uso intenso Roundup®, ainda que não tenha facilmente, sua presença detectada pode ocasionar flutuações e consequentemente agravamento da toxicidade a estágios variados dos girinos, incorrendo em problemas inclusive a concentrações subletais.

O uso de métodos e técnicas variados neste estudo, possibilitou perceber de diferentes ramos do saber e, caracterizar a anurofauna existente em área tropical, que tem sido ameaçada pela forma como tem sido desenvolvido o agronegócio, se tornando insustentável. Quanto ao uso de pesticidas na agricultura e a conservação dos anfíbios, de fato não há preocupação com a segunda questão e o que importa é o desenvolvimento econômico, a partir do aumento da produtividade e expansão de área para produção agrícola. Os anfíbios ainda continuam sendo vistos como animais não valorados, discriminados e insignificantes para a maioria.

Os dados de toxicidade publicados para Roundup®, por vezes, indicaram pouca sensibilidade de peixes e anfíbios, assim como para os demais compostos testados (Score®, Larvin® e Cruiser®) em anfíbios tropicais em estágio larval. Esses



achados indicam que os dados de toxicidade de pesticidas tropicais (para peixes e anfíbios), também são protetores para anfíbios tropicais. E, são discutidas restrições a tais extrapolações e indicações para futuras pesquisas.

Entretanto, há discrepância em termos de quantidades de investimentos financeiros destinados para formulações comerciais e estudos científicos existem. Pesquisas sobre os impactos dos pesticidas no ambiente, não são incentivadas, até mesmo porque a existência de estudos nesse sentido é vista como ameaça a retirada de circulação de algum produto químico utilizado no combate de “pragas agrícolas”. Isso, é considerado negativo, para o desenvolvimento econômico, aos olhos de agricultores e comerciantes afins. Esses estudos são vistos como o complicador do negócio. Além de analisarem o valor financeiro que seria perdido com o produto comercial retirado do mercado, as adaptações que o agricultor e agrônomos teriam que passar para substituição do químico que cumpra o mesmo papel de erradicar pragas e ganhos em produtividade.

As diferentes taxas de respostas alcançadas nos testes ecotoxicológicos podem ser causadas pela intoxicação da acumulação dos pesticidas no organismo, que ocorre quando a quantidade do composto eliminada é inferior à quantidade absorvida pode levar algum tempo para se acumular nos tecidos do organismo até atingir uma concentração na qual o efeito se apresenta. Além disso, também pode ocorrer adição dos efeitos causados por exposições repetidas, sem que o tóxico se acumule no organismo (Wrublewski, 2016; Magalhães & Ferrão, 2008).

Considerando dados de precipitação média anual para o estado do Tocantins, com base em banco de dados de 2014, normalmente varia de 1.200 a 2.100 mm ao ano (Tocantins, 2012a), no entanto, registrou-se bruscas mudanças, menos de 5 mm de precipitação para meses caracterizados por chuvosos (outubro a maio), durante 2015 e 2017 (INMT, 2020).

Diante da influência deste fator climático percebida, motivou a comparação ora proposta para os experimentos com material biológico proveniente de campo, afetado por três anos consecutivos. Reflexos da precipitação foram sentidos em campo, na fase plantio, com extremos de cultivo de arroz irrigado por inundação estar submerso e outros períodos falta de chuva. Mas, os efeitos não pararam nas cultivares agrícolas, se estendeu para o aumento do número de registros de

queimas provocadas em vegetação de fragmentos florestais natural de Cerrado e floresta amazônica. Além da interferência na obtenção de material biológico de anuros, em época comum de reprodução na região tropical, divisa com a Ilha do Bananal (grande ilha fluvial mundial).

Em relação ao risco de contaminação de águas superficiais e subterrâneas, o Score® apresenta alto potencial contaminante, podendo ser transportados dissolvidos, em água ou associados ao sedimento (Milhorne et al., 2009).

Considerando que os girinos possuem hábitos alimentares herbívoros, do tipo raspadores e filtradores (Dias, 2008; Prado, 2006; Silva, 2014; Amado, 2014), podem permanecer em habitats aquáticos específicos por períodos mais longos que os adultos (Pezzuti, 2011), portanto, sujeitos a maiores chances de contaminação. Nossos resultados, confirmaram a presença de resíduos em amostras de sedimento de ambientes lânticos em Formoso do Araguaia – Tocantins, com a presença de material biológico de anuros. Ainda que, em baixas concentrações, conferimos em diversos estudos citados anteriormente, que organismos dulcícolas são expostos a toxicidade subletal deste composto, e por isso indicamos a continuidade discussões científicas para aprofundamento de pesquisas ecotoxicológicas com girinos em estágio diversos de desenvolvimento.

Em estudos, nos quais empregaram-se ensaio de cometa, sobre os eritrócitos de girinos encontrados nos arredores de campos agrícolas (culturas de soja e milho), com intensa liberação de vários pesticidas em diferentes quantidades, registraram-se diferenças nos parâmetros genotóxicos de populações de girinos de *Physalaemus cuvieri* de lagoas localizadas em campos de soja tiveram significativamente mais danos de DNA, seguidos por girinos coletados de campos de milho. Em contrapartida, os animais amostrados de áreas não agrícolas apresentaram menor incidência de danos ao DNA (Gonçalves et al., 2017).

Assim como os pesticidas aplicados em campos agrícolas são transportados para corpos de água superficiais, prejudicando a sua qualidade, os nossos resultados e demais estudos já realizados por outros autores já citados anteriormente, afirmamos que as espécies de anfíbios podem migrar entre os ambientes, até mesmo em busca de refúgio, diante de estresse provocado pelo desenvolvimento de atividade antrópicas, como agropecuária, largamente praticada

na região de estudo. Herbicidas à base de glifosato podem ser usados como um indicador apropriado para avaliar a interferência das mudanças, nos modos de aplicação de pesticidas, afetam organismos selvagens, em paisagens agrícolas ao longo do tempo, já que os anfíbios que migram através de campos aráveis podem ser expostos aos produtos químicos aplicados nas culturas plantadas. No nordeste da Alemanha, após 20 anos do consumo global de glifosato na agricultura, aumentou em 5,7 vezes, enquanto a probabilidade de coincidência específica da espécie de anfíbios aumentou de 2,2 para 6,1, respectivamente. Os maiores aumentos de coincidência para o adulto e juvenil (*Triturus cristatus* e *Bombina bombina*), prevendo que as avaliações de risco da aplicação de pesticidas (neste caso, o glifosato) não devem apenas considerar o uso atual no momento da autorização, mas também considerar mudanças nos modos de aplicação ao longo do tempo que podem levar a aumentos na exposição potencial de organismos não-alvo, como anfíbios (Berger et al., 2018).

Atividades antrópicas associadas ao uso da terra influenciam a riqueza e biodiversidade de anfíbios, como confirmado por (Holzer et al., 2017), ao compararem três ambientes (urbano, suburbano e arrozal), onde cada uma das 12 espécies documentadas, foram encontradas em habitats urbanos e, sua ocorrência, diversidade e abundância eram menores em comparação com áreas suburbanas ou arroteiras. A depender da espécie, as respostas são diferenciadas pelas características do habitat. Além, da riqueza das espécies ter sido positivamente, associada à presença de vegetação aquática, áreas rasas, quantidade de terras ávidas e bancos construídos de solo, em vez de concreto ou rocha, levando a redução parcial e até total na reprodução.

Além disso, é fundamental informar aos agricultores os possíveis riscos de contaminação, e adoção de medidas preventivas e de controle, como: aplicação adequada dos pesticidas, incentivo ao monitoramento dos níveis desses compostos nos recursos hídricos por parte dos órgãos responsáveis.

### 3.2. Composição isotópica e toxicidade a girinos de anuros tropicaisflutuantes

Metodologias foram desenvolvidas para descrever a entrada de pesticidas e o comportamento nos corpos hídricos e a seleção de métodos e técnicas adequadas para estudo do risco de contaminação é fundamental (Resende, 2015). E, estudos para anuros tropicais também envolvendo isótopos estáveis de carbono e nitrogênio são escassos.

Entretanto, quando analisado em conjunto com outras metodologias (Kupfer et al., 2006), mostrou sucesso quando empregada para elucidar relações tróficas em teias alimentares, bem como determinar a origem da matéria orgânica particulada na coluna da água ou no sedimento de fundo. Por exemplo, o nitrogênio em macrófitas pode confirmar a existência de poluição em ecossistemas e o carbono para análise de crescimento de macrófitas aquáticas. A origem do alimento para os anfíbios e dos nutrientes para as plantas é generalizada (de Carvalho, 2008), ou até mesmo traçar a origem de substâncias (Peterson, 1999).

Para Marques et al. (2019), verificar possíveis variações na exploração dos recursos alimentares de *Physalaemus nattereri* e *P. cf. cuvieri*, em área agrícola permitiu afirmar que não apresentaram diferença significativa do  $\delta^{13}\text{C}$  e do  $\delta^{15}\text{N}$  tanto em relação ao uso do solo quanto em relação as espécies, indicando plasticidade trófica das espécies em relação aos ambientes e sobreposição na exploração dos recursos alimentares. Espécies, morfológica ou ecologicamente, semelhantes só podem coexistir desde que, estratégias para minimizar a competição sejam traçadas, como por exemplo, explorar recursos alimentares em diferentes níveis na cadeia trófica.

Confirmamos a variação dos valores isotópicos nos três usos do solo (na base das cadeias tróficas), e, se refletiu também nos anuros adultos, que apresentaram poucas diferenças quanto ao uso de recursos entre os ambientes e os anuros apresentaram nichos isotópicos altamente, sobrepostos em ambientes Natural e Agrícola. Os resultados refletem uma mistura de fontes, ou seja, os organismos analisados estão se alimentando de plantas com diferentes ciclos fotossintéticos, quanto aos valores de  $\text{C}_3$  e  $\text{C}_4$  de recursos alimentares são oriundos de diferentes recursos basais. As diferenças entre os dois ambientes se concentram

na maior influência de organismos provenientes de vegetação C<sub>3</sub> sobre os anuros da matriz Natural, e da maior influência de organismos da vegetação C<sub>4</sub> na matriz Agrícola.

Verificamos que a amplitude de nicho isotópico apresentada para anuros adultos agrícolas foi maior do que natural, corroborando com Holzer et al. (2017). Há frentes que defendam que a riqueza em área agrícolas seja em função da maior disponibilidade de recursos alimentares em área agrícola (uma base mais diversa de recursos) que os outros ambientes. Essa maior diversidade, pode ser atribuída ao maior equilíbrio entre as abundâncias de recursos basais de ciclo fotossintético C<sub>3</sub> e C<sub>4</sub> pois, enquanto girinos, apresentam maior influência de plantas C<sub>3</sub> e, anuros adultos apresentam maior influência de plantas C<sub>4</sub>.

Por outro lado, acredita-se que a produção de alimentos e conservação da natureza competirá pelo mesmo terreno (Sayer & Cassman, 2013). Nossos resultados, apontam para ausência de relação entre o tamanho dos indivíduos e os seus valores de  $\delta^{13}\text{C}$ , coerente com a elevada diversidade de recursos basais encontrada nos diferentes ambientes amostrados. Não é do nosso conhecimento, estudos que indiquem correlação entre o tamanho dos anfíbios poderiam determinar os seus valores de  $\delta^{13}\text{C}$  em ambientes nos quais os recursos basais das cadeias tróficas são tão variados e mesclados no espaço. Sendo necessário, maiores investigações científicas acerca desse assunto.

Anuros adultos, como quase que estritamente predadores, limitam seus recursos alimentares apenas pelo tamanho de suas bocas (Toft, 1980), assim, o tamanho do anuros poderia estar mais diretamente relacionado ao tamanho dos artrópodes que eles consomem. Entretanto, não há uma relação entre o tamanho dos artrópodes e seu nível trófico *per se* (Siemann et al., 1999), o que poderia indiretamente determinar uma relação entre o tamanho dos anuros e seus valores de  $\delta^{15}\text{N}$ . Da mesma maneira que, observado para os valores de  $\delta^{13}\text{C}$ , a variação nos valores de  $\delta^{15}\text{N}$  dos anuros adultos apenas reflete quão diversa isotopicamente, é a sua base de recursos, nos três ambientes analisados nesta Tese. Artrópodes, que são seus principais recursos alimentares, apresentaram uma grande amplitude de valores de  $\delta^{15}\text{N}$  dos três ambientes.

Em síntese, pode-se afirmar que, embora os isótopos estáveis sejam uma ferramenta extremamente útil para entender como modificações interferem na ecologia dos organismos que ocorrem tanto em ambientes naturais como antropizados, e, tenha aprimorado consideravelmente, a nossa capacidade de interpretação desses ambientes, no que diz respeito aos aspectos ecológicos e propriedades ecossistêmicas, os resultados e as conclusões que essa metodologia possibilitam são altamente determinados pela variação isotópica natural encontrada nesses ambientes.

A variação isotópica natural observada em biomas como o Cerrado e ecótono, caracterizados por um mosaico de diferentes fitofisionomias, uma variedade de grupos de plantas e recursos basais que determinam toda a cadeia trófica superior, é um fator complicador na compreensão de como modificações antrópicas e alterações no uso do solo, interferem na ecologia dos organismos que ocorrem nesses ambientes.

Mais especificamente, ao uso de recursos e ao nicho isotópico de anuros tanto em fase de girinos como adultos, foi possível observar que esses organismos parecem, até certo ponto, terem se adequado as modificações no uso do solo consideradas no presente estudo. Isso provavelmente, acontece devido aos diferentes fatores, sendo o primeiro: a manutenção da disponibilidade de ambientes de reprodução utilizados pelos anfíbios; segundo: rica abundância de recursos alimentares, mesmo nos ambientes antropizados; e, terceiro: a dominância de espécies generalistas inclusive no ambiente natural.

Uma observação importante é que embora o ambiente Agrícola caracterizado por plantações de arroz irrigado e de soja, tenha modificado pouco a riqueza, abundância e o uso de recurso dos anfíbios, o ambiente de Pastagem se mostrou muito menos adequado a esses organismos. As diferenças mais marcantes entre essas duas matrizes de uso do solo caracterizadas por atividades antrópicas se referem a heterogeneidade de habitats e as condições físico-químicas que cada uma delas apresenta.

Estudos futuros devem priorizar uma amostragem mais representativa das comunidades de anfíbios de diferentes ambientes e, focar em entender como espécies com diferentes requisitos biológicos e ecológicos respondem as

modificações antrópicas. Além disso, deve ser considerada a escala local, devido a grande quantidade dos corpos de água utilizados pelos anfíbios, mas sem desconsiderar a escala regional pois, pode elucidar algumas questões importantes que não foram respondidas no presente estudo (diferenças isotópicas em espécies de girinos, e diferentes fases larvais).

Por fim, a integração com outras metodologias, como a ecotoxicologia, podem trazer uma nova perspectiva, mais completa e conclusiva sobre os impactos das atividades antrópicas sobre as comunidades e os ecossistemas.

Apesar de todos os esforços, evidências fracas, há sobre o papel da biodiversidade em apoio ao progresso e maiores rendimentos agrícolas. Enquanto isso, desafios científicos significativos permanecem, ainda são mal compreendidos. Necessários são modelos robustos e explícitos que orientem políticas aos governos para direcionar adequadamente a forma e a localização da agricultura futura, com vistas a atender à demanda alimentar enquanto conserva os recursos naturais.

### CONCLUSÃO

Os resultados deste estudo fornecem informações sobre a qualidade do habitat em regiões tropicais sob influência de agricultura, que serão úteis às instituições governamentais e privadas, que tenham interesse em identificar e implementação de ações de conservação e manejo para essas e outras áreas semelhantes com predomínio de paisagem agrícola.

Estudos que objetivam a conservação de espécies são desincentivados em função da quantidade de espécies existentes. Os anfíbios além de oferecer uma elevada riqueza de espécies no Brasil, pouco atrativo é em função de preconceitos arcaicos, os taxarem como animais feios e bastante avistados. No entanto, muito ainda está por ser compreendido sobre esses seres, que apresentam elevada relevância da avaliação da qualidade do ambiente, tanto terrestre quanto aquático, dizendo muito sobre o grau de perturbação fruto de contaminações ambientais de origens diversas. Entretanto, é primordial esgotamento do comportamento desses organismos diante de determinado estresse. Quando há uma infinita variedade de organismos químicos no ambiente interagindo com fatores ambientais diversos e

com várias espécies de anuros, cada uma reage de uma maneira e a literatura científica ainda não conseguiu até então alcançar todas as espécies até mesmo porque a todos os dias novas surgem, mas não é sabido quantas delas ainda não foram identificadas por antes terem sido exterminadas.

Para a maioria dos leigos, os girinos parecem organismos simples, no entanto, apresenta características biológicas, comportamentos peculiares e mecanismos de defesa altamente desenvolvidos, a exemplo, do comportamento adotado diante de um eventual predador, se desprenderem da cauda, tentando-se escapar.

De qualquer modo, a *P. cuvieri*, parece ser um, bom bioindicador para detectar efeitos genotóxicos de pesticidas agrícolas, portanto, sugerimos que essa espécie seja utilizada em estudos de biomonitoramento ambiental, uma vez que é comum e abundante onde ocorre.

Muitas pessoas são desencorajadas pelo alto índice de destruição de espécies que se verifica, mas, por outro lado existe o desafio da necessidade de que algo precisa ser feito para impedir a destruição. As próximas décadas determinarão quantas espécies sobreviverão. No entanto, esforços atuais são dispendidos para salvar espécies, estabelecer áreas de conservação e proteger as atuais.

E, assim determinarão quais espécies serão preservadas e quais serão extintas. O conhecimento de diferentes campos do saber é necessário para combater a crise da biodiversidade e para além do valor econômico é preciso a manutenção do equilíbrio ambiental para a sobrevivência do ecossistema. Para se preservar uma grande diversidade de espécies é necessário antes se descobrir e catalogar, no entanto, uma nova geração de profissões conservacionistas deve ser treinada e maior prioridade deve ser dada ao pesquisas e ciência no país, assim como em organizações de conservação e universidades. Porém, exigirá total reversão do pensamento político, social de governantes, assim como a comunidade mundial deverá perceber que a diversidade biológica é de extremo valor, essencial para a existência humana.

Os valores indiretos podem ser destinados a aspectos da diversidade biológica (processos ambientais e serviços proporcionados por ecossistemas que



propiciam benefícios econômicos sem serem colhidos ou destruídos durante o seu uso. Mas, a compreensão humana sobre a real necessidade disso, exige a perda de algo de valor ao danificarem as comunidades biológicas. Pelo fato desses benefícios não serem mercadorias ou serviços, economicamente falando, não são destacados nas estatísticas nacionais de economias (como é o caso do produto nacional bruto – PNB). Mas, podem ser cruciais para a disponibilidade a longo prazo dos quais as economias dependem.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMADO, T.F. **Ecologia trófica de anfíbios anuros: relações filogenéticas em diferentes escalas**. 2014, 84f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2014. Retrieved From <https://repositorio.ufrn.br/handle/123456789/14054>.
- BERGER, G., GRAEF, F., PALLUT, B., HOFFMANN, J., BRÜHL, C. A., & WAGNER, N. How Does Changing Pesticide Usage Over Time Affect Migrating Amphibians: A case study on the use of glyphosate-based herbicides in german agriculture Over 20 Years. *Frontiers in Environmental Science*, v. 6, p. 6, 2018. <https://doi.org/10.3389/fenvs.2018.00006>.
- BOUVY, M., NASCIMENTO, S. M., MOLICA, R. J. R., FERREIRA, A., HUSZAR, V., & AZEVEDO, S. M. F. O. Limnological features in Tapacurá reservoir (northeast Brazil) during a severe drought. *Hydrobiologia*, 493, 115-130, 2003. <https://doi.org/10.1023/A:1025405817350>.
- BOVO-SCOMPARI, V. M., & TRAIN, S. Long-term variability of the phytoplankton community in an isolated floodplain lake of the Ivinhema River State Park, Brazil. *Hydrobiologia*, v. 610, n. 1, p. 331-344, 2008. <https://doi.org/10.1007/s10750-008-9448-3>.
- CARVALHO, M. C. Uso dos isótopos estáveis de carbono, nitrogênio e enxofre em estudos de ecologia costeira. *Oecologia Brasiliensis*, v. 12, n. 4, p. 8, 2008. <https://doi.org/10.4257/oeco.2009.1304.08>.
- CUNHA, D. G. F., & CALIJURI, M. D. C. Variação sazonal dos grupos funcionais fitoplanctônicos em braços de um reservatório tropical de usos múltiplos no estado de São Paulo (Brasil). *Acta Botanica Brasilica*, 25(4), 822-831, 2011. <https://doi.org/10.1590/s0102-33062011000400009>.
- DAAM, M. A., MOUTINHO, M. F., ESPÍNDOLA, E. L. G., & SCHIESARI, L. (2019). Lethal toxicity of the herbicides acetochlor, ametryn, glyphosate and metribuzin to tropical frog larvae. *Ecotoxicology*, v. 28, n. 6, p. 707-715, 2019. <https://doi.org/10.1007/s10646-019-02067-5>.
- DIAS, N. Y. N. **Estrutura de taxocenoses de girinos de Mata Atlântica**. 2008, 138f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista, São José do Rio Preto, 2008.
- EMBRAPA. **Manual de procedimentos de coleta de amostras em áreas agrícolas para análise da qualidade ambiental: solo, água e sedimentos**. Jaguariúna - SP: EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 2006.
- \_\_\_\_\_. **Guia prático para interpretação de resultados de análises de solo**. In L. F. Sobral, M. C. de V. Barretto, A. J. da Silva, & J. L. dos Anjos (Eds.), Embrapa, 2015. Retrieved from [www.embrapa.com.br](http://www.embrapa.com.br).
- FENT, K. Ecotoxicological problems associated with contaminated sites. *Toxicology Letters*, v. 140, p. 353-365, 2003.

- FONSECA, B. M.; BICUDO, C. E. de M. Phytoplankton seasonal variation in a shallow stratified eutrophic reservoir (Garças Pond, Brazil). *Hydrobiologia*, v.600, n. 1, p. 267-282, 2008. <https://doi.org/10.1007/s10750-007-9240-9>
- GEMELGO, M. C. P.; MUCCI, J. L. N.; NAVAS-PEREIRA, D. Population dynamics: seasonal variation of phytoplankton functional groups in Brazilian reservoirs (Billings and Guarapiranga, São Paulo). *Brazilian Journal of Biology*, v. 69, n. 4, p. 1001-1013, 2009. <https://doi.org/10.1590/s1519-69842009000500004>
- GONÇALVES, M. W., GAMBALÉ, P. G., GODOY, F. R., ALVES, A. A., REZENDE, P. H. de A., CRUZ, A. D. da, Silva, D. de M. (2017). The agricultural impact of pesticides on *Physalaemus cuvieri* tadpoles (Amphibia: Anura) ascertained by comet assay. *Zoologia (Curitiba)*, v. 34, 2017. <https://doi.org/10.3897/zoologia.34.e19865>.
- GOSNER, K. L. A Simplified table for staging anuran embryos and larvae with notes on identification. *Herpetologica*, v. 16, n. 3, p. 183-190, 1960. Retrieved from <https://www.jstor.org/stable/3890061>.
- GRISOLIA, C. K. **Agrotóxicos: mutações, reprodução e câncer**. Brasília: Editora Universidade de Brasília, 2005.
- HOLZER, K. A., BAYERS, R. P., NGUYEN, T. T., & LAWLER, S. P. Habitat value of cities and rice paddies for amphibians in rapidly urbanizing Vietnam. *Journal of Urban Ecology*, v. 3, n. 1, 2017. <https://doi.org/10.1093/jue/juw007>.
- INMET. Instituto Nacional de Meteorologia. **Estações meteorológicas**. 2020. Disponível em: <<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inmet?QTzOQ>>. Acesso em 17 dez. 2020.
- IPPOLITO, A., & FAIT, G. Pesticides in surface waters: from edge-of-field to global modelling. *Current Opinion in Environmental Sustainability*, v. 36, p. 78-84, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.cosust.2018.10.023>.
- KIEHL, E. J. **Manual de edafologia: relações solo-planta**. São Paulo. Ceres, 1979.
- KOPP, K., FILHO-ANTONIOSI, N. R., ALVES, M. I. R., & BASTOS, R. P. Publicações sobre efeitos de pesticidas em anfíbios no período de 1980 a 2007. *Revista Multiciência*, ed. 08, 2007
- KUPFER, A.; LANGEL, R.; SCHEU, S.; HIMSTEDT, W.; M. Trophic ecology of a tropical aquatic and terrestrial food web: insights from stable isotopes (<sup>15</sup>N). *Journal of Tropical Ecology*, p. 469-476, 2006. <https://doi.org/10.1017/S0266467406003336>.
- LIMA, M. S. C. S., & PEDERASSI, J. Morphometrics and ratio of body proportionality of tadpoles of *Rhinella icterica* (*Anura, bufonidae*) at different developmental stages. *Brazilian Journal of Biology*, v. 72, n. 3, p. 623-629, 2012. <https://doi.org/10.1590/s1519-69842012000300028>.
- MAGALHÃES, D. P.; FERRÃO, A. S. F. S. A ecotoxicologia como ferramenta no biomonitoramento de ecossistemas aquáticos. *Oecologia Australis*. v.12, n.3, p.355-381, 2008. <https://doi.org/10.4257/oeco.2008.1203.02>.

- MANN, R. M., HYNE, R. V., CHOUNG, C. B., & WILSON, S. P. Amphibians and agricultural chemicals: review of the risks in a complex environment. **Environmental Pollution**, v. 157, n. 11, p. 2903-2927, 2009. <https://doi.org/10.1016/J.Envpol.2009.05.015>.
- MARQUES, T. S., CIOCI, R., BELOTO, L. M., & de, P. B. Plasticidade trófica de anfíbios em áreas agrícolas por meio dos isótopos estáveis. **Anais: 9º Congresso Brasileiro de Herpetologia**, 2019. Retrieved From <https://9cbh.Galoa.Com.Br/>.
- MILHOME, M. A. L., SOUSA, D. de O. B., LIMA, F. de A. F., & NASCIMENTO, R. F. do. Assessment of surface and groundwater potential contamination by agricultural pesticides applied in the region of baixo Jaguaribe, CE, Brazil. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 14, n. 3, p. 363-372, 2009. <https://doi.org/10.1590/s1413-41522009000300010>.
- ORTIZ-SANTALIESTRA, M. E., FERNÁNDEZ-BENÉITEZ, M. J., LIZANA, M., & MARCO, A. Influence of a combination of agricultural chemicals on embryos of the endangered gold-striped salamander (*Chioglossa lusitanica*). **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 60, n. 4, p. 672-680, 2011. <https://doi.org/10.1007/s00244-010-9570-x>.
- ORTIZ-SANTALIESTRA, M. E., MARCO, A., FERNÁNDEZ, M. J., & LIZANA, M. Influence of developmental stage on sensitivity to ammonium nitrate of aquatic stages of amphibians. **Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal**, v. 25, n. 1, p. 105-111, 2006. <https://doi.org/10.1897/05-023R.1>
- PETERSON, B. J. Stable isotopes as tracers of organic matter input and transfer in benthic food webs: a review. **Acta Oecologica**, v. 20, n. 4, p. 479-487, 1999. [https://doi.org/10.1016/s1146-609x\(99\)00120-4](https://doi.org/10.1016/s1146-609x(99)00120-4).
- PEZZUTI, T. L. **Girinos do quadrilátero ferrífero, sudeste do Brasil: ecomorfologia e chave de identificação interativa**. 2011, 212f. Dissertação (Pós-graduação) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2011.
- POCHINI, K. M.; HOVERMAN, J. T. Immediate and lag effects of pesticide exposure on parasite resistance in larval amphibians. **Parasitology**, v. 144, n. 6, p. 817, 2017. <https://doi.org/10.1017/S0031182016002560>
- POCHINI, K. M.; HOVERMAN, J. T. Reciprocal effects of pesticides and pathogens on amphibian hosts: The importance of exposure order and timing. **Environmental Pollution**, v. 221, p. 359-366, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.11.086>.
- PRADO, V. H. M. do. **Similaridade ecológica em comunidades de girinos: o papel de componentes históricos (filogenéticos) e contemporâneos (ecológicos)**. 2006. 158f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista, São José do Rio Preto, 2006.
- PRIMACK, R. B., & RODRIGUES, E. **Biologia da Conservação**. Londrina -Paraná, 2001.
- REBELO, R. M., & CALDAS, E. D. Avaliação de risco ambiental de ambientes aquáticos afetados pelo uso de agrotóxicos. **Química Nova**, v. 37, n. 7, p. 1199-1208, 2014. <https://doi.org/10.5935/0100-4042.20140165>.

RESENDE, J. C. De. **Efeitos diretos e indiretos do agrotóxico Vertimec® 18 CE e de girinos de *Lithobates catesbeianus* nos ecossistemas de água doce: um estudo em mesocosmos.** 2015, 186f. Tese (Doutorado) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2015.

REZENDE, M. O. D. O. **Glifosato: características físico-químicas.** Instituto de Química de São Carlos - IQSC - USP. 2008. Retrieved From [http://www.sigam.ambiente.sp.gov.br/sigam2/repositorio/222/documentos/glifosato/20084\\_caractfisicoquimicas.pdf](http://www.sigam.ambiente.sp.gov.br/sigam2/repositorio/222/documentos/glifosato/20084_caractfisicoquimicas.pdf).

RISSOLI, R. Z. **Comparação entre os efeitos da exposição em nível subletal de glifosato e dos herbicidas a base de glifosato Roundup Original® e Roundup Transorb r® sobre girinos de rã-touro.** 2012, 144f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de São Carlos, 2012.

SAYER, J., & CASSMAN, K. G. Agricultural innovation to protect the environment. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 110, n. 21, p. 8345-8348, 2013. <https://doi.org/10.1073/pnas.1208054110>.

SIEMANN, E., TILMAN, D., & HAARSTAD, J. Abundance, diversity and body size: patterns from a grassland arthropod community. **Journal of Animal Ecology**, v. 68, n. 4, p. 824-835, 1999. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2656.1999.00326.x>.

SILVA, P. R. **Influência do herbicida quinclorac sobre os níveis de lipoperoxidação e das defesas antioxidantes enzimáticas no tecido muscular de *Lithobates catesbeianus* (ANURA: RANIDAE).** 2014, 49f. Trabalho (Graduação) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2014.

TOCANTINS. Secretaria do Planejamento e da Modernização da Gestão Pública - SEPLAN. **Atlas do Tocantins: subsídios ao planejamento da gestão territorial.** Superintendência de Pesquisa e Zoneamento Ecológico-Econômico. Diretoria de Zoneamento Ecológico-Econômico - DZE. 1-11, 2012a.

\_\_\_\_\_. Secretaria do Planejamento e da Modernização da Gestão Pública - SEPLAN. **Mapeamento das regiões fitoecológicas e inventário florestal do Estado do Tocantins,** 2012b. Retrieved from <http://www.seplan.to.gov.br>

TOFT, C. A. Feeding ecology of thirteen syntopic species of anurans in a seasonal tropical environment. **Oecologia**, v. 45, n. 1, p. 131-141, 1980.

VALDUJO, P. H., CAMACHO, A., RECODER, R. S., TEIXEIRA JUNIOR, M., GHELLERE, J. M. B., MOTT, T., RODRIGUES, M. T. Anfíbios da Estação Ecológica Serra Geral do Tocantins, região do Jalapão, Estado do Tocantins e Bahia. **Biota Neotropica**, v. 11, n. 1, p. 251-261, 2011. <https://doi.org/10.1590/s1676-06032011000100025>.

WRUBLEWSKI, J. **Toxicidade Aguda e Crônica de Agrotóxicos em Girinos de *Physalaemus cuvieri* (Anura, Leptodactylidae).** 2016, 50f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal da Fronteira Sul - UFFS, Erechim, 2016.

ZAGATTO, P. A.; BERTOLETTI, E. **Ecotoxicologia aquática: princípios e aplicações.** São Carlos - SP: Rima Editora, 2008.

## ANEXOS