
Daniel Din Betin Negri

Desempenho de larvas de anfíbios e libélulas em uma paisagem agroindustrial



Performance of amphibian and dragonfly larvae in an agro-industrial landscape

São Paulo
2015

Daniel Din Betin Negri

Desempenho de larvas de anfíbios e libélulas em uma paisagem agroindustrial

Performance of amphibian and dragonfly larvae in an agro-industrial landscape

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

Orientador: Prof. Dr. Luis Cesar Schiesari

São Paulo
2015

Ficha catalográfica

Negri, Daniel
Desempenho de larvas de anfíbios e
libélulas em uma paisagem agroindustrial

88 páginas

Dissertação (Mestrado) – Instituto de
Biotecnologia da Universidade de São Paulo.
Departamento de Ecologia.

Palavras-chave: 1.Amazônia 2.Agricultura
3.Pesticidas 4. Ambientes aquáticos
5.Ecologia experimental.

Universidade de São Paulo
Instituto de Biotecnologia
Departamento de Ecologia

Comissão julgadora:

Prof(a). Dr(a).

Prof(a). Dr(a).

Prof. Dr. Luís Cesar Schiesari

Orientador

AGRADECIMENTOS

Este período que passei na Universidade de São Paulo foi repleto de aprendizagem e vivências inigualáveis, que refletiram tanto no aspecto profissional quanto no pessoal. Assim, agradeço a todas as pessoas que fizeram parte desta jornada.

Agradeço ao professor Luís Schiesari pela orientação, pelos ensinamentos e pela dedicada orientação; a Paulo Ilha, Victor Dimitrov, Nivaldo Carneiro, Ilberto Calado, Sandro, Santarém e Darlison pela enorme ajuda prestada em campo; aos Professores Paulo Inácio e Carlos Navas pelas sugestões feitas no decorrer deste trabalho; ao Instituto de Pesquisa Ambiental da Amazônia (IPAM); Wanderley Rocha, Paulo Brando e Claudinei Oliveira e à Escola de Artes, Ciências e Humanidades da Universidade de São Paulo pelo apoio logístico; ao grupo AMaggi e a Getúlio Yamate por permitirem a realização do trabalho de campo na Fazenda Tanguro e na Fazenda Campo Alegre, respectivamente.

Agradeço meus pais, Reginaldo Negri e Tânia Marques Betin Negri, e minha irmã, Talita Betin Negri, por sempre apoiarem meus planos de vida apesar de não compreenderem direito o porquê de eu ficar tanto tempo longe de casa.

Agradeço em especial a Pabline Pires Negri, pela compreensão e força nos momentos que mais precisei. Obrigado pelo exemplo que você é, por fazer parte desse todo, e por existir perto de mim!

Agradeço ao ICMBio (Permissão ICMBio 17559 a Luis Schiesari) pela permissão para a coleta, transporte, manutenção e experimentação com material biológico.

Finalmente, agradeço à Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa concedida nos seis primeiros meses de Mestrado, à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pela bolsa concedida durante os 11 meses subsequentes (Processo 2013/19834-9), e à FAPESP (Projeto Jovem Pesquisador a Luis Schiesari; Processo 2008/57939-9) e à FAPESP e ao CNPq (Programa SISBIOTA Brasil, em rede de pesquisa liderada por Denise Rossa-Feres; FAPESP 2010/52321-7, CNPq 563075/2010-4) pelo custeio de toda minha pesquisa de Mestrado.

ÍNDICE

RESUMO.....	06
ABSTRACT.....	07
INTRODUÇÃO.....	08
OBJETIVOS.....	12
MATERIAIS & MÉTODOS.....	12
<u>Área de estudo</u>	12
<u>O manejo da terra em pastagens e plantações de soja</u>	14
<u>Sistema biológico</u>	15
<u>Experimentos</u>	16
<u>Generalidades</u>	16
<u>Delineamento do primeiro experimento de campo</u>	17
<u>Delineamento do primeiro experimento de laboratório</u>	21
<u>Delineamento do segundo experimento de campo</u>	24
<u>Delineamento do segundo experimento de laboratório</u>	26
<u>Variáveis de resposta</u>	28
<u>Análises dos dados</u>	28
RESULTADOS	
<u>Resultados do primeiro experimento de campo</u>	29
<u>Características abióticas dos ambientes de transplante</u>	29
<u>Concentração de Fitoplâncton nos ambientes de transplante</u>	31
<u>Efeitos da malha dos cercados sobre o desempenho de girinos</u>	32
<u>Efeitos do uso da terra sobre o desempenho de girinos e libélulas</u>	33
<u>Resultados do primeiro experimento de laboratório</u>	36
<u>Efeitos da origem da água e do sedimento nas características físico-químicas da água</u>	36
<u>Efeitos da origem da água e do sedimento no desempenho de girinos e libélulas</u>	40

<i>Resultados do segundo experimento de campo</i>	44
<i>Características abióticas dos ambientes de transplantes</i>	44
<i>Concentração de fitoplâncton nos ambientes de transplante</i>	46
<i>Efeito do uso da terra sobre o desempenho de girinos e libélulas</i>	47
<i>Resultados do segundo experimento de laboratório</i>	50
<i>Efeitos da origem da água e do sedimento nas características físico-químicas da água</i>	50
<i>Efeitos da origem da água e do sedimento no desempenho de girinos e libélulas</i>	52
<i>DISCUSSÃO</i>	56
<i>Padrões observados em campo e laboratório: Libélulas</i>	56
<i>Padrões observados em campo e laboratório: Girinos</i>	65
<i>Implicações para a conservação em paisagens agroindustriais</i>	74
<i>CONCLUSÃO</i>	77
<i>REFERÊNCIAS</i>	78

RESUMO

O aumento na população humana mundial e nos padrões *per capita* de consumo criaram uma forte demanda por comida, fibras e biocombustíveis que apenas um modelo industrial de produção agrícola poderá atender. Porém, a agricultura é uma atividade que resulta em sérios impactos sobre o meio ambiente e a biodiversidade. Esta dissertação teve como objetivo testar a hipótese de que o uso e manejo da terra para a produção intensiva de soja resultam numa redução significativa no desempenho de organismos aquáticos conforme indicado por sobrevivência, crescimento e/ou desenvolvimento. Para tanto conduzimos experimentos em campo e em laboratório expondo populações de larvas de libélulas e girinos a ambientes de poças temporárias distribuídas ao longo de um gradiente de degradação ambiental compreendendo cerrados, pastagens e plantações.

O desempenho de larvas de libélulas foi significativamente influenciado pelo uso e manejo da terra. Se por um lado a mortalidade de larvas de libélulas transplantadas para ambientes de cerrado e de pastagens variou entre 50 e 60%, larvas de libélulas em plantações de soja foram rapidamente erradicadas. A sincronia entre eventos de aplicação de pesticidas e os padrões temporais de mortalidade sugere que pesticidas são o principal vetor de alteração ambiental impedindo a colonização efetiva de campos agrícolas por libélulas. O desempenho de girinos de *Physalaemus cuvieri* também foi significativamente influenciado pelo uso e manejo da terra. Porém, as respostas de girinos foram em geral menos fortes e menos consistentes que aquelas observadas para libélulas. Girinos transplantados para ambiente de soja de 10 dias (primeiro experimento) e de 55 dias de idade (segundo experimento) tiveram desempenho tão bom ou superior àquele observado em ambientes de referência; em contraste, girinos transplantados para ambiente de soja de 50 dias (primeiro experimento) tiveram mortalidade total. Portanto práticas específicas de manejo aparentam modular o desempenho de *P. cuvieri* ao longo do ciclo de plantio. Ambientes de pastagem sempre foram relativamente favoráveis à sobrevivência, ao crescimento e ao desenvolvimento de girinos.

Estes resultados têm importantes implicações para nossa conceptualização da permeabilidade de paisagens agroindustriais para a fauna aquática e semiaquática e, portanto, para a conservação da biodiversidade em paisagens agroindustriais. Ao menos no que diz respeito ao hábitat larval, pastagens se mostraram ambientes de alta permeabilidade para a colonização tanto de girinos como de libélulas. Por sua vez, plantações de soja aparentam ser completamente impermeáveis para o desenvolvimento das larvas de libélulas, mas temporalmente permeáveis para o desenvolvimento de girinos.

ABSTRACT

The global increase in human population and in per capita consumption patterns has created a strong demand for food, fiber and biofuels that only an industrial model of agricultural production can meet. However, industrial agriculture has serious impacts on biodiversity and on the environment. This thesis aimed at testing the hypothesis that land use and land management for the intensive production of soybeans results in a significant reduction in the performance of freshwater organisms, as indicated by survivorship, growth and/or development. This hypothesis was tested by means of field and lab experiments exposing dragonfly larvae and tadpoles to conditions of temporary ponds distributed across a gradient in environmental degradation comprising cerrado, pastures and sugarcane fields.

The performance of dragonfly larvae was significantly influenced by land use and land management. Whereas dragonfly survivorship in cerrado and pastures ranged between 50 and 60%, dragonflies transplanted to soybean fields were rapidly eradicated. The synchrony between pesticide application and temporal patterns in mortality strongly suggests that pesticides are the main driver of environmental change precluding the effective colonization of soybean fields by dragonflies. The performance of tadpoles of *Physalaemus cuvieri* was also significantly influenced by land use and land management. However, tadpole responses were in general less strong and less consistent than those of dragonflies. Tadpoles transplanted to 10-day old soybean fields (first experiment) and 55-day old soybean fields (second experiment) performed as well or better than tadpoles transplanted to reference sites; in strong contrast, tadpoles transplanted to 50-day old soybean fields (second experiment) suffered 100% mortality. Therefore, specific land management practices mediate *P. cuvieri* performance along the crop cycle. Pastures were always relatively favorable to tadpole survivorship, growth and development.

These results have important implications to our conceptualization of the permeability of the agricultural matrix to aquatic and semiaquatic fauna and, therefore, to the conservation of biodiversity in agroindustrial landscapes. In regards to larval habitat, pastures have shown to be highly permeable to the colonization of tadpoles and dragonflies. In turn, soybean plantations appeared to be impermeable to dragonfly development, but temporally permeable to the development of tadpoles.

INTRODUÇÃO

A população humana no planeta já ultrapassou os sete bilhões de pessoas, e projeções demográficas globais indicam que atingirá por volta de 9,6 bilhões de pessoas em 2050 (ONU 2012). Somado a uma tendência no aumento nos padrões *per capita* de consumo (e.g. Nepstad *et al.*, 2006), este crescimento populacional significativo impõe uma severa demanda por comida, fibras e biocombustíveis que apenas a produção agrícola em escala industrial poderá suprir (Fischer *et al.*, 2001; EMBRAPA, 2006; Martinelli & Filoso 2008). A agricultura já ocupa a maior proporção de terra em relação a qualquer outra atividade humana (Devine & Furlong 2007). Em 2002 estima-se que pastagens e culturas agrícolas já ocupavam 37% da superfície terrestre (FAO, 2002); deste então, houve ainda um aumento significativo na área plantada, principalmente nos países da América Latina (Agostini, 2013).

A conversão, uso e manejo da terra para a produção agrícola implica em uma série de custos para o ambiente e a sociedade (Foley *et al.*, 2005; Ewers *et al.*, 2009). Entre eles estão à destruição e fragmentação dos habitats nativos, a emissão de gases estufa, o sobreconsumo de recursos hídricos superficiais e subterrâneos, e a degradação dos solos (Schiesari, 2010). Por fim, o manejo intensivo de paisagens agrícolas é responsável por extensa contaminação ambiental pelo uso de agroquímicos como fertilizantes, condicionadores, corretivos e pesticidas (Schiesari, 2010; Schiesari & Grillistch, 2011). Estes agroquímicos são deliberadamente projetados para serem biologicamente ativos e por este motivo acarretam uma série de efeitos diretos e indiretos, muitas vezes contra-intuitivos, sobre organismos não-alvo (Rohr *et al.*, 2006; Relyea & Hoverman, 2008).

Estas modificações ambientais significativas têm grandes impactos sobre a biota, de tal forma que a conservação da biodiversidade em paisagens agrícolas é um dos grandes desafios da ecologia aplicada para o século 21 (Green *et al.*, 2005; Phalan *et al.*, 2011; Hooper *et al.*, 2012). Durante as últimas décadas as perdas mundiais da biodiversidade têm ocorrido em uma escala sem precedentes - o desmatamento, fragmentação e a intensificação agrícola têm sido os principais vetores desta mudança global (Tilman *et al.*, 2001; Tscharntke *et al.*, 2005; Martinelli *et al.*, 2010). Deste modo, a perda da biodiversidade pode ser devida causas determinísticas (expansão agrícola) ou por processos estocásticos (fragmentação dos habitats) (Tscharntke *et al.*, 2005). Mas, por outro lado, existem populações que permanecem nos fragmentos enquanto outras podem invadir as áreas convertidas (Farhig, 2003), ou seja, numerosas populações têm sido capazes de persistir em paisagens agrícolas em todo mundo, apesar das profundas mudanças inerentes a esta atividade (Ouellet *et al.*, 1997; Harris *et al.*, 1998; Johnson *et al.*, 2002; Attademo *et al.*, 2005).

A persistência das populações existentes em paisagens agrícolas, provavelmente depende de uma dinâmica de metapopulações onde a extinção local é contrabalanceada por episódios de recolonização, mas o atual modelo de produção agrícola promove o surgimento de fragmentos de habitats nativos imersos em matrizes pouco favoráveis à dispersão (Vandermeer & Perfecto 2006). Pesquisas ecológicas ao longo da última década têm

ressaltado a importância da qualidade da matriz para a conservação da biodiversidade em paisagens agrícolas (Opdam 1991; Hanski 1999; Phalan *et al.*, 2011), e, apesar do crescente corpo de estudos ecológicos nesses cenários, não se sabe ainda quais são os padrões de permeabilidade em matrizes contaminadas em paisagens fragmentadas.

Tal questão é particularmente importante se considerarmos que o Brasil é país megadiverso - abrigando estimados 13% de toda a biodiversidade do planeta (Lewinsohn & Prado 2005) – em que a agroindústria ocupa posição de destaque entre os principais segmentos da economia brasileira, contribuindo com cerca de um terço do Produto Interno Bruto (PIB). Na verdade, o País já é superpotência agrícola mundial, ocupando posição de liderança na exportação de produtos como suco de laranja, açúcar, etanol, café, soja, frango e carne bovina, entre outros (Economist 2010). Esta posição foi alcançada dentro de um processo mais geral de modernização agrícola e de concessão de incentivos fiscais. A partir da década de 70, houve uma rápida criação de mercados com o desenvolvimento dos insumos agrícolas e dos melhoramentos genéticos, permitindo desta forma que o processo de tropicalização de culturas e variedades resultasse na ocupação de regiões aptas à mecanização, como o centro-oeste - hoje a principal região produtora de soja do país. Por sua vez, a expansão da produção da soja sobre o centro-oeste empurrou para o norte a criação de gado, atingindo a borda da mata amazônica, zona de expansão das fronteiras agrícola conhecida como “arco do desmatamento” (Brando *et al.*, 2013). Estas zonas de transformação da paisagem representam ambientes dinâmicos com alta relevância social, econômica e ambiental.

Este é o contexto ambiental do Projeto Jovem Pesquisador de meu orientador, que detectou que a transformação da paisagem na região das Cabeceiras do Rio Xingu – parte do chamado ‘Arco do Desmatamento’ da Amazônia – tem consequências importantes para a reorganização de comunidades aquáticas. Analisando como modelo ambiental poças temporárias distribuídas ao longo de um gradiente de degradação variando de florestas de transição cerrado-mata amazônica a pastagens e plantações de soja, Schiesari e colaboradores observaram que a transformação de florestas em pastagens e plantações aumentou a biomassa do fitoplâncton e a diversidade e abundância de anfíbios, mas erradicou insetos predadores como libélulas, percevejos e besouros aquáticos (Figura 1). A transformação de florestas em pastagens e destas para plantações resultou num aumento da biomassa de fitoplâncton porque a abertura do dossel levou a um aumento na luminosidade incidente, e porque a defecação do gado e o emprego de fertilizantes aumentaram as concentrações de nutrientes como nitrogênio, fósforo e potássio na água (Schiesari *et al.*, dados não publicados).

Ao mesmo tempo, a transformação das florestas em pastagens e plantações aumentou a frequência de ocorrência, abundância e riqueza de anfíbios porque a compactação do solo pela abertura de estradas, pisoteamento do gado e tráfego de maquinário aumentou de forma muito pronunciada a disponibilidade de habitats aquáticos lênticos. Na verdade, não há corpos d’água nos platôs das florestas da região porque as taxas de infiltração são altíssimas; toda

chuva é imediatamente absorvida pelo solo (Baese *et al.*, 2012; Schiesari obs. pers.). Surpreendentemente, encontramos nada menos que doze espécies de anfíbios reproduzindo em poças temporárias embebedas em plantações de soja, algumas delas a vários quilômetros da borda da mata, riachos ou represas próximas.

Tal observação surpreende porque ao longo de um ciclo de soja estas poças estão sujeitas a atividades de grande impacto físico como a preparação do solo, o plantio e a colheita, bem como atividades de grande impacto químico como a aplicação de 200 kg de fertilizantes e 13,9 kg de pesticidas contendo 40 ingredientes ativos diferentes por hectare (Schiesari *et al.*, 2013). Por outro lado, plantações de soja são depletadas de predadores, que em poças temporárias são insetos (e.g., Welborn *et al.*, 1996; Schiesari *et al.*, dados não publicados), possivelmente pelo emprego de inseticidas no manejo da terra (2,5 kg de inseticidas contendo 13 ingredientes ativos diferentes em 3 a 4 aplicações; Schiesari & Grillitsch 2011). Tais observações sugerem que mesmo condições intensivas de cultivo agrícola como as que analisamos podem ser permeáveis para anfíbios, mas não para insetos predadores. Isso ocorreria se (i) anfíbios colonizadores de áreas agrícolas, mas não insetos, fossem comparativamente robustos a contaminantes (condição sugerida por alguns autores como Kerby *et al.*, 2009, e que dados de nosso laboratório parecem corroborar; Ilha 2010; Moutinho 2013) e/ou (ii) que anfíbios colonizadores de áreas agrícolas fossem indiretamente beneficiados pelo aumento na produção primária e/ou pela deleção de predadores. Efeitos indiretos como estes vêm sendo reconhecidos como qualitativa e quantitativamente importantes na organização de comunidades biológicas de um modo geral, e sob influência de contaminantes em particular (Relyea *et al.*, 2005; Relyea & Hoverman 2006; Rohr *et al.*, 2006; Clements & Rohr 2009).

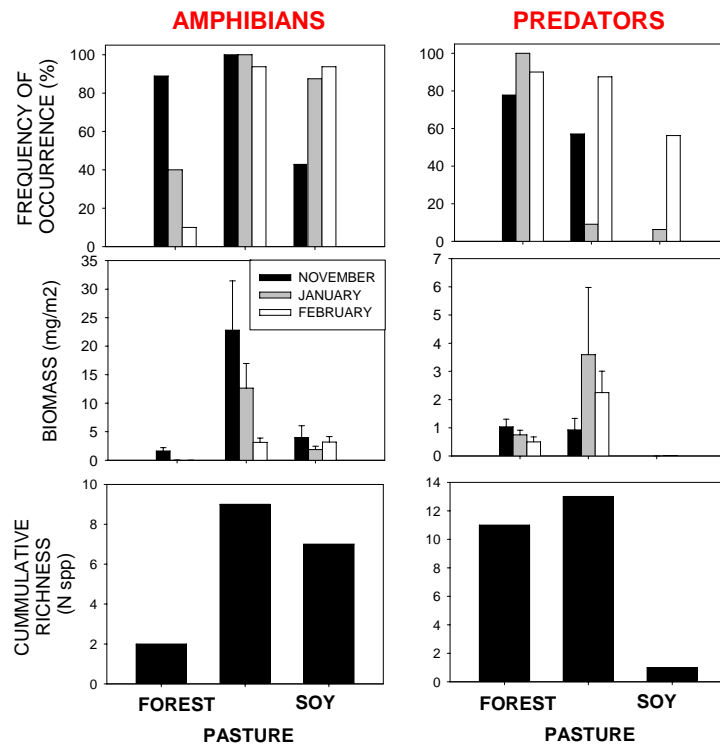


Figura 1. Frequência de ocorrência, biomassa e riqueza de larvas de anfíbios (esquerda) e de predadores invertebrados (direita) em poças distribuídas ao longo de um gradiente de degradação ambiental em paisagem agrícola nas Cabeceiras do Rio Xingu (Schiesari, dados não publicados).

Concluindo, temos contexto ambiental muito promissor para testar experimentalmente se, e em que grau, sistemas agroindustriais de produção de soja são permeáveis para a biota aquática. A seleção de ambientes aquáticos temporários como sistema de estudo é interessante porque constituem habitats pequenos e estruturalmente simples, permitindo alta replicação e delineamentos complexos dificilmente atingidos em outros ambientes aquáticos naturais (Wilbur, 1997). Por sua vez, organismos de poças temporárias como insetos aquáticos e larvas de anfíbios constituem sistema modelo estabelecido em ecologia e em ecotoxicologia por reunirem atributos como abundância, tamanho pequeno e desenvolvimento rápido que permitem experimentações em diversos cenários – desde cenários altamente controlados, mas pouco realistas (laboratório) até cenários altamente realistas, mas pouco controlados (campo). A combinação de experimentos é de suma importância porque controlam alguns fatores que influenciam o desempenho individual e que co-variam com a forma do uso da terra, como hidroperíodo e disponibilidade de recursos (Schiesari, dados não publicados).

Desta forma, o experimentador ganha grande poder de inferência dos processos causadores dos padrões observados na natureza (Wilbur, 1997; Werner, 1998; Schiesari *et al.*, 2007). Apesar destas vantagens, a combinação de experimentos realizados em cenários múltiplos é incomum nos trópicos em geral, e no Brasil em particular (Schiesari *et al.*, 2007), bem como na ecotoxicologia no mundo todo (Schiesari, 2006; Schiesari *et al.*, 2009; Bishop *et al.*, 2010; Agostini, 2013).

Finalmente, o estudo dos anfíbios anuros dentre os organismos aquáticos é importante não apenas pela sua importância ecológica (e.g., Burton & Likens, 1975), mas também pelo seu status de conservação: anfíbios são considerados a classe de vertebrado mais ameaçado do planeta (Stuart *et al.*, 2004). Na verdade, perda de hábitat e contaminação química – dois dos principais vetores de degradação de paisagens agrícolas - foram apontados como as duas principais causas dos declínios populacionais de anfíbios que vem ocorrendo mundialmente desde o final dos anos 80 (Gascon *et al.*, 2005). De forma, em geral, os anfíbios é um grupo interessante porque, consistem desde espécies sensíveis (especialistas) a robustas (generalistas), conferindo diferenças importantes na capacidade de tolerar as alterações ambientais. Uma vez que espécies especialistas são extremamente exigentes quanto aos habitats que ocupam, ao contrário das generalistas que são pouco exigentes quanto aos habitats, com altas taxas de crescimento e alto potencial de dispersão (Wells, 2007).

Diante do exposto, e em razão da escassez de estudos que abordem experimentalmente e comparativamente a viabilidade de paisagens agroindustriais como habitats para a fauna ou matriz para sua dispersão, justifica-se a necessidade de estudo

aprofundado de como a transformação no uso da terra influencia o desempenho dos organismos aquáticos.

OBEJTIVOS

Os objetivos deste projeto foram testar as hipóteses de que (i) o uso e manejo da terra para a produção intensiva de soja resultam numa redução significativa no desempenho de organismos aquáticos, mas que (ii) predadores invertebrados são mais sensíveis a estas alterações ambientais que consumidores vertebrados. Para tanto conduzi experimentos em campo e em laboratório expondo populações de larvas de libélulas e girinos a ambientes de poças temporárias distribuídas ao longo de um gradiente de degradação ambiental compreendendo cerrados, pastagens e plantações. Uma vez que tanto as práticas de manejo como a frequência de ocorrência de libélulas e girinos em plantações de soja variam marcadamente ao longo do tempo, procurei ainda (iii) avaliar como as alterações ambientais associadas a diferentes momentos do ciclo de plantio influencia o desempenho de girinos e libélulas.

METODOLOGIA

Área de estudo

A área de estudo está situada na região das Cabeceiras do Rio Xingu, no leste do estado de Mato Grosso. Trata-se de uma das mais ativas fronteiras de expansão agrícola do mundo (Brando *et al.*, 2013), no chamado 'arco do desmatamento' da Amazônia. Na verdade, a área de estudo está numa zona de contato entre áreas de florestas semidecíduais transicionais ao norte e cerrados ao sul (Oliveira *et al.*, 2010).

O clima da região é do tipo AW segundo Köppen, caracterizado por um clima tropical chuvoso (média de 1900 mm ao ano) com duas estações bem definidas; uma estação seca de abril a setembro e uma estação chuvosa de outubro a março (Figura 2).

A Fazenda Tanguro, localizada no município de Querência (12°50'14.63" S, 52°23'22.90" O) tem 82.000 hectares, 32.000 dos quais correspondem à lavoura de soja; o restante é coberto por floresta de transição entre floresta ombrófila, floresta estacional e cerrado (Schiesari, 2010). Propriedade do Grupo André Maggi, um dos maiores produtores de soja do mundo, a Fazenda Tanguro tem alto nível técnico e pode ser considerado um modelo do agronegócio tropical intensivo (Figura 3).

Ao lado da Fazenda Tanguro está um assentamento do INCRA (Instituto Nacional de Colonização e Reforma Agrária; 13°08'07.02" S, 52°20'04.92" O), implementado na região como parte do plano do governo para a democratização do acesso a terra. Este assentamento de 300 ha é composto por pequenas propriedades onde se desenvolvem atividades

relacionadas principalmente à pecuária extensiva, mas também a agricultura, silvicultura e piscicultura.

A Fazenda Campo Alegre, localizada no município de Água Boa (14°04'43.52" S, 53°01'19.60" O) tem cerca de 85.000 hectares, 30.000 dos quais correspondem à pastagem com aproximadamente 30.000 cabeças de gado; o restante é coberto por cerrado sensu stricto, embora também ocorram formações de cerradão, campo limpo e mata de galeria. A fazenda Campo Alegre tem alto nível técnico na criação de bezerros nelore e pode ser usado como modelo de pecuária tropical.

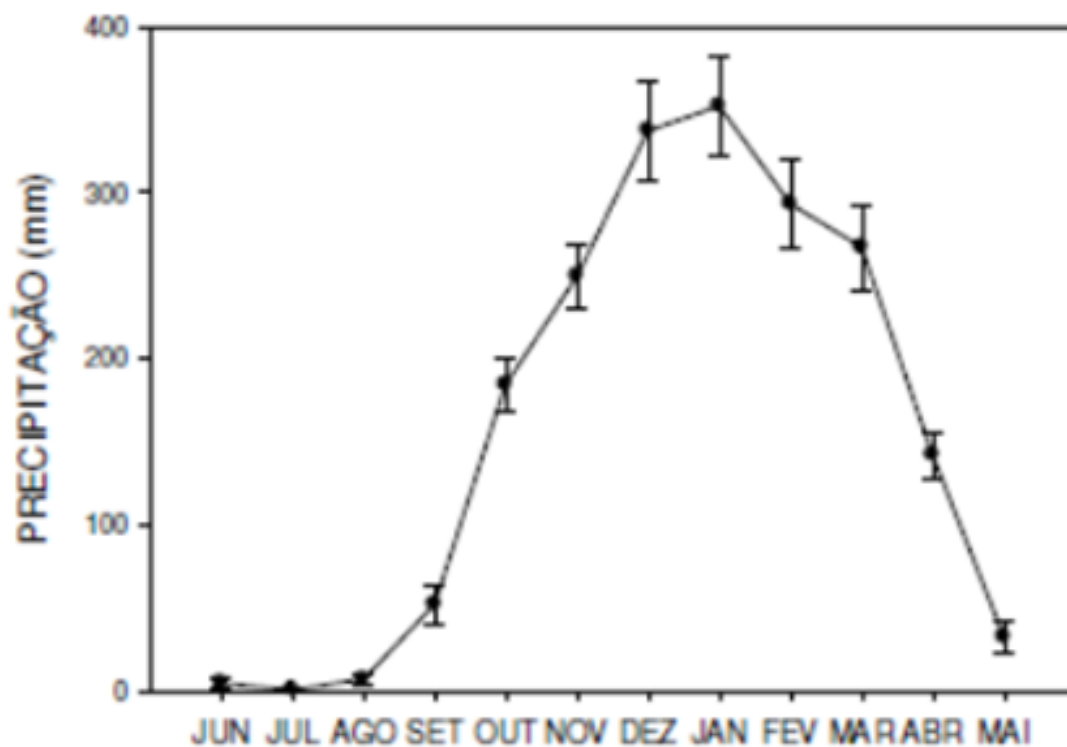


Figura 2. Precipitação mensal média (+ 1 EP) na Fazenda Tanguro entre 1987 a 2007 (Schiesari 2010). Dados gentilmente cedidos pelo grupo AMaggi.

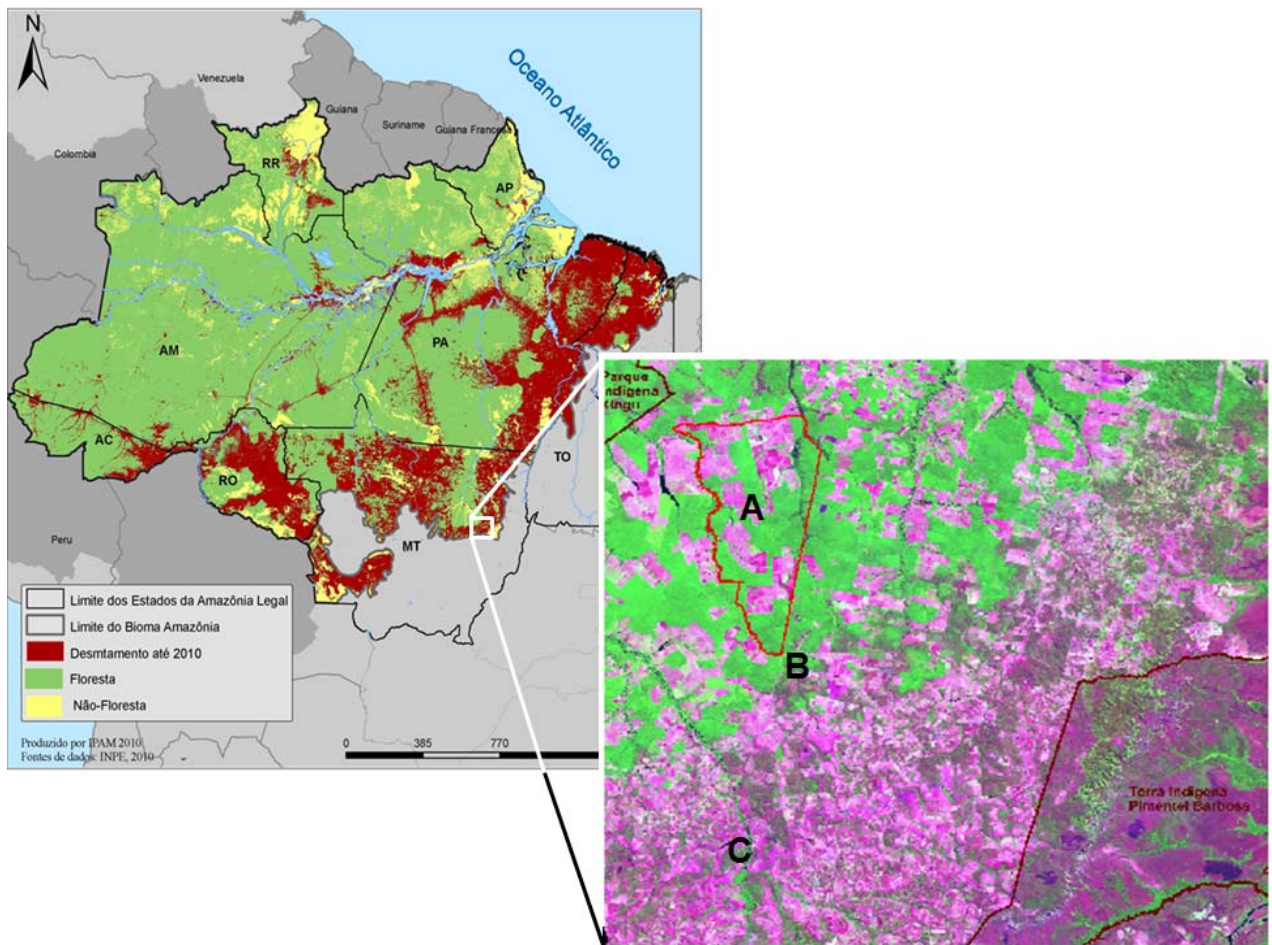


Figura 3. Mapa adaptado da área de estudo. A (Fazenda Tanguro); B (Assentamento do INCRA); C (Fazenda Campo Alegre).

O manejo da terra em pastagens e plantações de soja

Sistemas de produção variam amplamente em termos de intensidade de manejo, desde sistemas extensivos até intensivos. Na pecuária extensiva os animais vivem soltos, têm sua dieta limitada ao consumo de pastos nativos e não recebem vacinas; por este motivo é em geral de baixa produtividade. Por sua vez, na pecuária intensiva os animais vivem em regime de confinamento e/ou têm acesso a pastagens fertilizadas de alta produtividade com suplementação alimentar e aplicação de vacinas e antibióticos (Obs.pessoal). Por este motivo, a pecuária intensiva tende a uma alta produtividade. O Assentamento do INCRA se enquadra no sistema de produção extensivo com a sobrecarga das pastagens e dos corpos d'água temporários, ou seja, intensa densidade de gado em relação à área ocupada. Já o sistema de produção da Fazenda Campo Alegre é um sistema semi-intensivo, onde os animais são separados em lotes de acordo com sua categoria (bezerros, desmamados machos e fêmeas, novilhas, vacas paridas cheias e vazias, vacas solteiras cheias e vazias, vacas gestantes, vacas amojadas e touros). Tal manejo se deve à atividade econômica praticada pela fazenda

que é a de cria, ou seja, é um rebanho de fêmeas em reprodução onde todos os machos são vendidos imediatamente após a desmama, em geral com 7 a 9 meses de idade. Além disso, toda a fazenda é dividida em pastos rotacionados, visando assim racionalizar o uso das pastagens e dos corpos d'águas e todos os animais possuem identificações para o melhor controle dos indivíduos.

Por sua vez, a produção de soja na região do leste do estado do Mato Grosso é baseada na mecanização e no uso intensivo de insumos. A soja é uma cultura temporária, cujo ciclo tem duração aproximada de quatro meses. Em geral o ciclo da soja é sincronizado com a estação chuvosa - o plantio inicia-se entre outubro e novembro, e a colheita entre janeiro e fevereiro – dispensando a irrigação (caso da Fazenda Tanguro; Schiesari, 2010).

O uso intensivo de insumos é uma das principais características da lavoura de soja. Antes de iniciar o plantio, na Fazenda Tanguro é aplicado no solo o calcário, micronutrientes como B, Cu, Mn, Zn e S, cloreto de potássio e fertilizante NPK em dose aproximada de 200 kg/ha. Ao longo do plantio há tipicamente três aplicações de herbicidas, incluindo 19 ingredientes ativos; três ou quatro aplicações de fungicidas, incluindo oito ingredientes ativos; e três ou quatro aplicações de inseticidas, incluindo 13 ingredientes ativos (Schiesari, 2010; Schiesari & Grillitsch, 2012). No total é aplicada uma dose média de 13,9 kg de formulações de pesticidas por ha (Schiesari *et al.*, 2013), incluindo ingredientes ativos neurotóxicos, carcinogênicos, reprotóxicos, imunotóxicos e disruptores endócrinos (Schiesari & Grillitsch, 2012). Na Fazenda Tanguro toda a soja plantada é convencional, isto é, não geneticamente modificada; teoricamente, a soja convencional requer mais aplicações de pesticidas do que a soja geneticamente modificada (mas veja Benbrook 2012 para uma análise quantitativa de 16 anos de consumo de pesticidas por OGM nos Estados Unidos).

Sistema biológico

As espécies de girinos e libélulas manipuladas nos experimentos foram definidas em função de sua facilidade na coleta e abundância. As espécies selecionadas foram os anfíbios *Physalaemus cuvieri* (Leiuperidae), *Dendropsophus melanargyreus* (Hylidae) e *Leptodactylus fuscus* (Leptodactylidae), e libélulas das famílias Libellulidae, Aeshnidae e Corduliidae.

Physalaemus cuvieri Fitzinger 1826 é uma espécie de tamanho pequeno (comprimento rostro-cloacal ~3 cm quando adulto) que reproduz em poças temporárias em áreas abertas. A desova flutuante contém cerca de 600 ovos e é envolta em nicho de espuma (Uetanabaro *et al.*, 2008). Os girinos são pequenos (comprimento máximo de 26 mm), exotróficos, e completam o desenvolvimento larval em menos de dois meses (Pombal & Haddad, 2007). A espécie é amplamente distribuída, ocorrendo do Norte ao Sul e Centro Oeste do Brasil até as províncias Argentinas e o leste do Paraguai (Ribeiro *et al.*, 2005).

Dendropsophus melanargyreus Cope 1887 é uma espécie de tamanho pequeno (CRC ~4 cm quando adulto) (Figura 5) encontrada em áreas abertas e bordas de florestas. Os machos vocalizam sobre pequenos galhos próximos a poças temporárias. A desova é

depositada na superfície da água em cápsulas gelatinosas isoladamente (Uetanabaro *et al.*, 2008). Não há dados referentes aos girinos, mas os girinos pertencentes ao gênero *Dendropsophus* são exotróficos em corpos d'água lênticos (Pombal & Haddad, 2007). Esta espécie ocorre nas bacias interiores do estado de Tocantins e na bacia amazônica brasileira, incluindo as planícies da Santa Cruz da Bolívia e norte do Paraguai, Guiana Francesa e Suriname (Da Silva *et al.*, 2010).

Leptodactylus fuscus Schneider 1799 é uma espécie de tamanho pequeno (CRC ~ 4,6 cm quando adulto) (Figura 6) cujos machos vocalizam em câmaras subterrâneas escavadas por eles nas margens das poças temporárias. A desova é depositada nesta câmara subterrânea em meio a um ninho de espuma e pode conter até 200 ovos. Os girinos são exotróficos e pequenos (comprimento máximo de 31 mm), e a fase larval é geralmente inferior a dois meses. Distribui-se amplamente pelo Brasil, do Panamá a Argentina (Uetanabaro *et al.*, 2008).

Por sua vez, os predadores aquáticos coletados e manipulados durante os experimentos foram ninfas de libélulas pertencentes às famílias Libellulidae, Aeshnidae e Cordulidae da subordem Anisoptera (Souza *et al.*, 2007; Mugnai *et al.*, 2010) (Figura 7). De acordo com Corbet (1999) as ninfas de Anisoptera podem ser classificadas em quatro grupos conforme a utilização do habitat: i) larvas que vivem totalmente enterradas no sedimento, ii) larvas que vivem parcialmente enterradas no sedimento (caso de Cordulidae), iii) larvas que vivem sobre o sedimento (caso de Libellulidae), iv) larvas que vivem agarradas a algum tipo de substrato, principalmente vegetação (caso de Aeshnidae).

Os experimentos

Generalidades

Os experimentos foram conduzidos com libélulas e com girinos provenientes de desovas replicadas coletadas na pastagem do INCRA por conta da proximidade, facilidade de acesso, abundância de animais, e da menor intensidade de manejo da terra quando comparada às plantações de soja. Trazidos para um laboratório montado no Rancho Darro na Fazenda Tanguro, girinos foram mantidos em tanques com 50 litros de água de poço e alimentados com ração artificial numa mistura moída de três partes de ração de coelho (Purina Mills, LLC, USA; ~16% proteína) e uma parte de ração para peixes (TetraMin, Welle, Alemanha; ~45% proteína) (Schiesari 2004). Por sua vez, as ninfas de libélulas foram acondicionadas individualmente em copos plásticos de 500 ml com água de poço e alimentadas com girinos coletados em campo.

Para o início dos experimentos selecionamos girinos aparentemente saudáveis e dentro de uma faixa estreita de massas e estágios de desenvolvimento (estágio 25; Gosner, 1960) e libélulas aparentemente saudáveis e que não estivessem nos estágios finais de desenvolvimento larval.

A coleta, transporte, manutenção e experimentação dos organismos neste projeto foram autorizados pelo IOBAMA/ICMBio (Processo 17559-4) e a manipulação experimental foi aprovada pela Comissão de Ética em Uso de Animais Vertebrados em experimentação do Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo (Protocolo 039/2007). Os experimentos de campo na Fazenda Tanguro autorizados pelo Instituto de Pesquisa Ambiental da Amazônia (IPAM) e pelo Grupo AMaggi, e os experimentos na Fazenda Campo Alegre pela gerência da fazenda.

Delineamento do primeiro experimento de campo

O primeiro experimento foi conduzido de 06 a 20 de dezembro de 2013 e teve como objetivo avaliar como as alterações ambientais associadas ao cultivo de soja, em diferentes momentos do ciclo de plantio, influencia o desempenho de girinos e libélulas. Para tal transplantamos girinos e libélulas para cercados em poças na pastagem do INCRA, no Retiro do Onça (onde a soja tinha sido plantada 10 dias antes), e no Retiro do Alvorada (onde a soja tinha sido plantada 50 dias antes). Neste experimento utilizamos a pastagem do INCRA como referência por conta da facilidade de acesso e porque o manejo da pastagem é significativamente menos intenso que o manejo das plantações.

Para este projeto desenvolvemos estruturas de cercado que fossem adequadas para corpos d'água pequenos e rasos, e que fossem desmontáveis e reutilizáveis. Os cercados para girinos foram fabricados com uma moldura cilíndrica de 50 cm de diâmetro e 60 cm de altura revestida por tela (Figura 4). Cada uma das bases do cilindro foi constituída por três segmentos de cano de polietileno flexível de $\frac{3}{4}$ de polegada de diâmetro unidos por conexões 'T'. As duas bases do cilindro foram unidas, por meio de três hastes de cano de PVC de $\frac{3}{4}$ de diâmetro encaixadas em cada uma das conexões 'T'. Todos os canos foram preenchidos com areia para aumentar a estabilidade dos cercados. Neste primeiro experimento a malha da tela de revestimento dos cercados ainda estava em testes; a escolha da malha é relevante porque quanto menor a malha, menor a troca de água entre o interior e o exterior do cercado; por outro lado, quanto maior a malha, maior a probabilidade de fuga de girinos e de entrada de predadores. Por isso metade dos cercados em cada corpo d'água foram revestidos por 'tela anti-afídeo', confeccionada com monofilamentos de polietileno de alta densidade (PEHD) e com abertura de ~0,5 mm ('malha fina'), e metade com tela 'véu-de-noiva', confeccionadas com 100% de poliéster e com abertura de ~0,8 mm ('malha grossa'). Os cercados para libélulas foram fabricados com segmentos de cano de 15 cm de comprimento e 4 polegadas de diâmetro, revestidos em ambas as extremidades por tela 'véu-de-noiva'. Quatro bóias cilíndricas de isopor foram amarradas nos cercados para garantir a flutuabilidade e assim o acesso à interface água-ar necessário para a sobrevivência das ninfas de libélulas (Figura 4).

O experimento teve dois níveis de replicação. Em cada ambiente foram selecionadas cinco poças para o transplante, exceto no caso do Retiro da Onça onde uma estiagem na semana do início do experimento secou 75% das poças existentes e nos obrigou a diminuir o

número de poças para três. Cada poça recebeu seis cercados para girino (três com malha grossa e três com malha fina) e 10 cercados para libélulas, totalizando 78 cercados para girinos e 130 cercados para libélulas nos três ambientes (Figura 5).

No interior de cada cercado para girinos foram estocados 20 indivíduos de *Physalaemus cuvieri* com $7,2 \text{ mm} \pm 1,69$ (média ± 1 DP) de comprimento total, $0,103 \text{ mg} \pm 0,02$ de massa e em estágios iniciais de desenvolvimento (aproximadamente estágio 25; Gosner, 1960); esta densidade está dentro dos valores observados em campo para as espécies *Leptodacylus fuscus*, *Scinax fuscovarius*, *Dendropsophus melanargyreus* e *Eupemphix nattereri* (e abaixo das densidades médias das duas últimas espécies; dados para 2011-2012 em ambientes de pastagem e soja considerados conjuntamente) (Schiesari, dados não publicados). Por sua vez, cada cercado para libélula foi estocado com uma ninfa de Libellulidae com $19 \text{ mm} \pm 3,92$ de comprimento total. Diferentemente de girinos, libélulas foram estocadas individualmente a fim de evitar o canibalismo. Libélulas foram alimentadas duas vezes por semana com quatro girinos; girinos não receberam nenhum alimento além do sedimento e eventual perifíton, fitoplâncton e demais fontes de matéria orgânica presentes dentro dos cercados.

Semanalmente medimos em cada poça pH, oxigênio dissolvido (OD), condutividade e temperatura com uma sonda multiparâmetros (YSI Pro 20; YSI, Yellow Springs, OH, Estados Unidos), turbidez com um turbidímetro (AQ 4500 Advanced Aquafast IV Turbidimeter; Thermo Scientific, Waltham, MA, Estados Unidos) e biomassa de fitoplâncton na forma de clorofila *a* in vivo com um fluorímetro (Aquafluor Handheld Fluorometer; Turner Designs, Sunnyvale, CA, USA).

O experimento foi desmontado após duas semanas em 20 de dezembro. Retiramos os organismos com auxílio de uma rede de aquário e os preservamos numa solução 1:1 de álcool 70% e formaldeído 5% para os girinos e álcool 70% para as libélulas.



Figura 4. Cercados utilizados no transplante de populações de girinos e indivíduos de ninfas de libélulas.

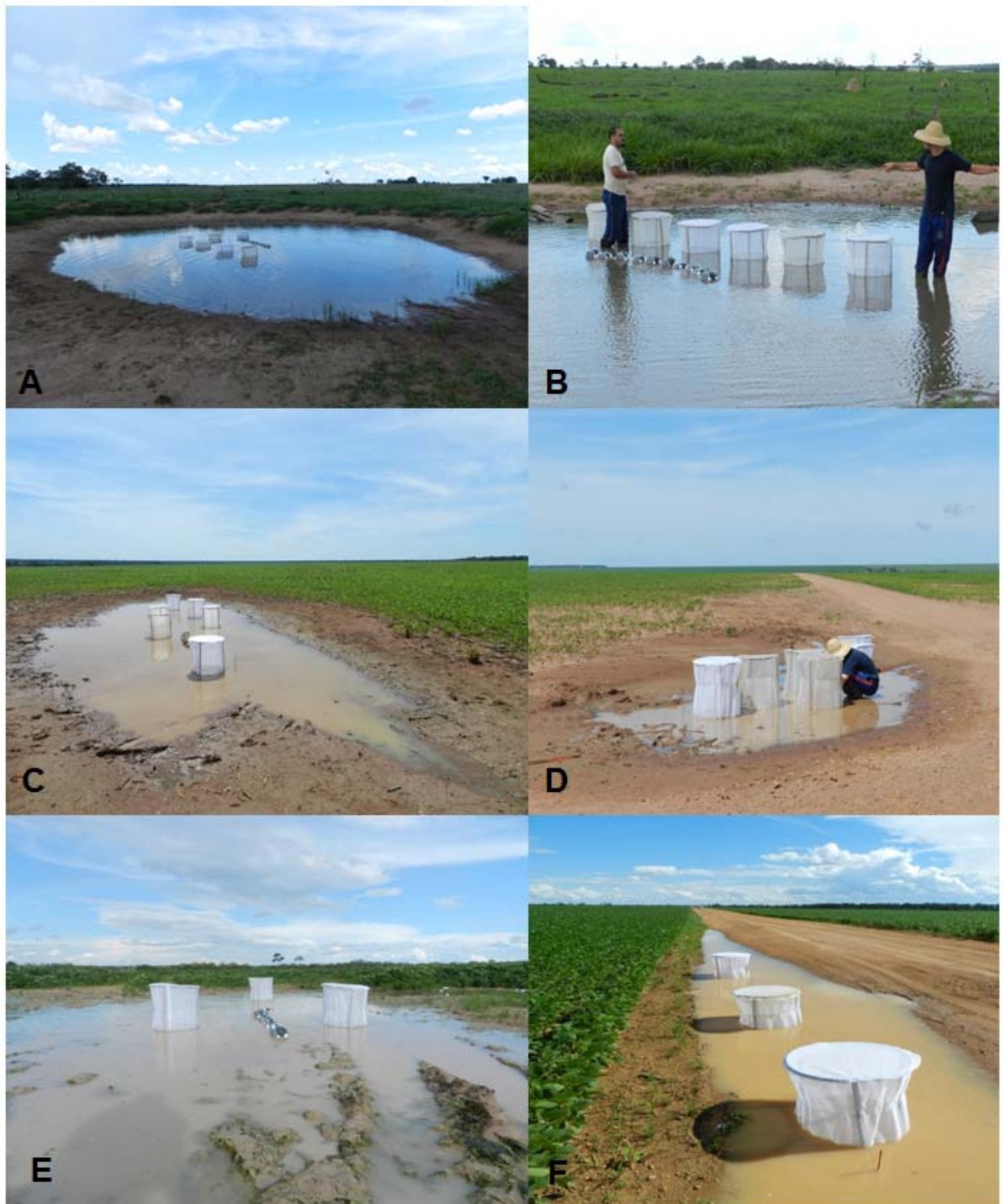


Figura 5. Experimento de transplante nos ambientes de pastagem (Assentamento do INCRA, **A, B**), plantação de soja no ciclo vegetativo com 10 dias desde o plantio (Retiro da Onça, **C, D**) e plantação de soja no ciclo reprodutivo com 50 dias desde o plantio (Retiro do Alvorada, **E, F**).

Delineamento do primeiro experimento de Laboratório

Em paralelo ao experimento de campo, foi realizado um experimento de laboratório testando o efeito isolado da água, o efeito isolado do sedimento, e o efeito combinado de água e sedimento de cada ambiente sobre o desempenho de girinos e libélulas (Figura 6). A motivação para a realização deste experimento foi que água e sedimento diferem na capacidade de reter contaminantes, e a contaminação por pesticidas é uma das mais proeminentes alterações ambientais observadas ao longo de gradientes de intensidade de uso da terra (Schiesari e Grillitsch 2010, Schiesari et al. 2013) (Figura 7). Sedimentos, particularmente, são considerados bons indicativos da contaminação por agrotóxicos ao funcionarem como um importante compartimento de estoque de poluentes (Esteves, 1998). Além disso, muitos organismos aquáticos – entre eles girinos e libélulas - vivem em interação próxima com este compartimento, onde se alimentam, refugiam e/ou reproduzem. Este experimento de laboratório também foi importante por permitir acomodar tratamentos com espécies adicionais, o que seria muito trabalhoso no experimento de transplante em campo.

Água e sedimento foram coletados em 27 e 28 de novembro de 2013 nas mesmas poças manipuladas nos três ambientes investigados no experimento de campo (pastagem no Assentamento do INCRA, plantação de soja com 10 dias no Retiro da Onça, plantação de soja com 55 dias no Retiro do Alvorada) além de um quarto ambiente (floresta), não incluído no experimento de campo e que usamos como controle de água e sedimento não-contaminados. No laboratório, misturamos alíquotas de água e sedimento superficial (<5 cm de profundidade) de cada poça para dar origem a uma única amostra composta por forma de uso da terra. Girinos foram manipulados em caixas plásticas (39 x 12 x 28 cm) contendo 1,2 L de sedimento, 4L de água e 10 indivíduos. Libélulas foram manipuladas individualmente em copos plásticos de 500 mL contendo 50 mL de sedimento e 400 ml de água. Cada tratamento foi replicado quatro vezes. Todos os organismos utilizados no experimento de laboratório foram provenientes do ambiente de pastagem INCRA, dos mesmos lotes utilizados nos experimentos de campo.

O experimento de laboratório seguiu o delineamento completo (água; sedimento; água + sedimento de cada um dos quatro ambientes) para a espécie de girino (*Physalaemus cuvieri*) e a família de libélula (Libellulidae) transplantada no campo. Para entender melhor se a respostas destes organismos focais são representativas para girinos e libélulas de forma mais geral, manipulamos a presença de outra espécie de girino (*Dendropsophus melanargyreus*) e família de libélula (Cordulidae) no tratamento mais realista, que foi a manipulação conjunta de água + sedimento de cada um dos quatro ambientes. Não tínhamos animais suficientes para conduzir um experimento completo com esta espécie e família adicionais. Girinos de *P. cuvieri* e ninfas de Libellulidae vieram dos mesmos lotes manipulados em campo. Girinos de *D. melanargyreus* começaram o experimento com 11,22 mm \pm 1,78 (média \pm 1 DP) de comprimento total, 0,157 mg \pm 0,02 de massa e em estágios iniciais de desenvolvimento

(aproximadamente estágio 25; Gosner, 1960). Ninfas de Libellulidae começaram o experimento com $19 \text{ mm} \pm 3,92$ (média ± 1 DP) de comprimento total.



Figura 6. Experimento de laboratório, realizado no alojamento do Rancho Darro na Fazenda Tanguro.

A manutenção do experimento de laboratório consistiu em registrar a sobrevivência e alimentar libélulas duas vezes por semana com girinos coletados em campo (quatro girinos da espécie *P.cuvieri*) e alimentar girinos com ração artificial em uma dose per capita diária equivalente a 12% da massa inicial média dos girinos (dose suficiente para exceder a taxa individual de consumo; Schiesari 2004).

Semanalmente medimos o pH, oxigênio dissolvido, condutividade e temperatura dos recipientes amostrais usando os equipamentos descritos acima. Após duas semanas, em 20 de dezembro finalizamos o experimento preservando girinos e libélulas conforme descrito acima.

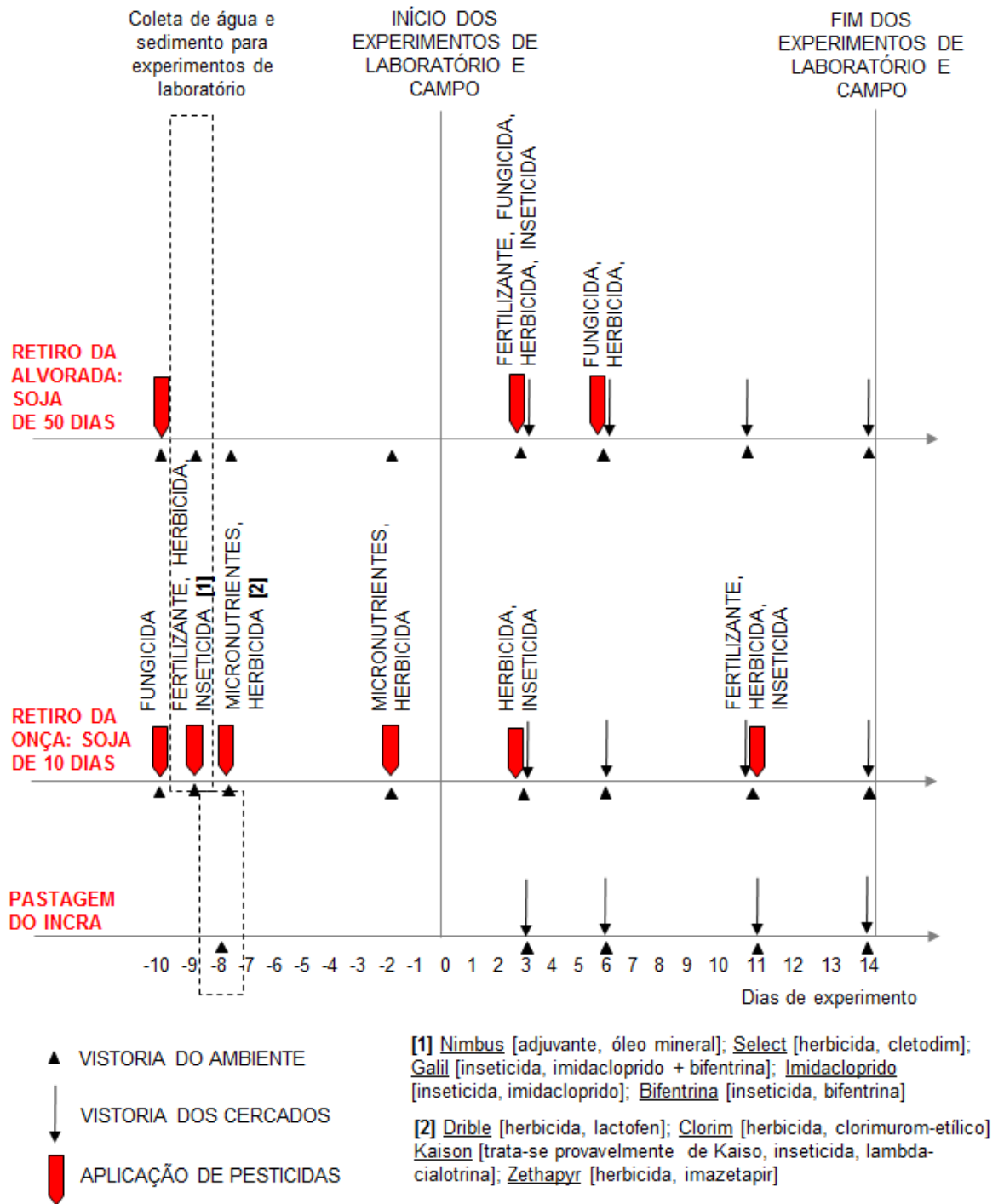


Figura 7. Linha do tempo do primeiro experimento de campo e laboratório.

Delineamento do segundo experimento de campo

O segundo experimento de transplante foi conduzido de 11 a 26 de fevereiro de 2014 e teve como objetivo verificar se o uso e manejo da terra associado à conversão do cerrado para pastagem e desta para a produção intensiva de soja resultam numa redução significativa no desempenho de girinos e libélulas. Para tanto, selecionamos como ambiente de referência ('controle') uma área de cerrado preservado na Fazenda Campo Alegre, situada no município de Água Boa - MT. Uma vez que o ambiente de referência estava distante 270 km ao sul do Assentamento do INCRA e da Fazenda Tanguro, onde se encontravam os ambientes de pastagem e plantação de soja (Rancho Darro, soja de 50 dias), decidimos inserir no delineamento um segundo ambiente de pastagem na própria Fazenda Campo Alegre (Figura 8). A inclusão desta segunda pastagem buscou representar um controle de manipulação ('sham control') para as diferenças climáticas e de manipulação e transporte dos animais experimentais, que seriam inevitáveis entre o ambiente de referência e os ambientes testes. Mais uma vez, o experimento teve dois níveis de replicação. Em cada ambiente foram selecionadas quatro poças para o transplante, e cada poça recebeu quatro cercados para girinos e 10 cercados para libélulas, totalizando 64 cercados para girinos e 160 cercados para libélulas nos quatro ambientes. Uma vez que no primeiro experimento de campo tivemos invasões de predadores em alguns cercados de girinos recobertos por tela véu-de-noiva (tela 'grossa'), neste segundo experimento todos os cercados de girinos foram recobertos com tela anti-afídeo (tela 'fina'). Os cercados de libélulas continuaram recobertos com tela véu-de-noiva.

No interior de cada cercado foram estocados 15 girinos de *Physalaemus cuvieri* com comprimento de $7,6 \text{ mm} \pm 1,07$ (média \pm DP) e massa média de $0,123 \text{ mg} \pm 0,02$ em estágios iniciais de desenvolvimento (aproximadamente estágio 25; Gosner, 1960). Por sua vez, cada cercado de libélula foi estocado com uma ninfa de Aeshnidae com comprimento de $22 \text{ mm} \pm 6,05$ (média \pm DP).

Uma vez que todas as desovas de anfíbios e ninfas de libélulas foram coletadas no Assentamento do INCRA e criados no laboratório no Rancho Darro, mas que alguns foram transportados para as imediações do laboratório (plantação de soja no Rancho Darro, pastagem no Assentamento do INCRA) enquanto outros para o município de Água Boa (pastagem e cerrado na Fazenda Campo Alegre) fizemos uma avaliação da mortalidade de girinos e libélulas decorrente da manipulação de triagem, seleção e transporte necessária para a preparação do experimento nas duas localidades. Para tanto mantivemos em laboratório parte dos girinos e libélulas triados em Querência (no laboratório do Rancho Darro) e parte dos girinos e libélulas transportados até a Fazenda Campo Alegre (no alojamento da Fazenda). Os girinos foram acondicionados em sacos plásticos com cinco indivíduos em cada saco e transportados em caixas plásticas e cada libélula foi acondicionada individualmente em tubo falcon e transportada em caixas plásticas.



Figura 8. Segundo experimento de transplante em campo. Cerrado (A,B), Pastagem na Fazenda Campo Alegre (C,D), Pastagem no Assentamento do INCRA (E,F) e Plantação de soja no Rancho Darro (55 dias) (G,H).

Semanalmente medimos em cada poça pH, condutividade, temperatura, turbidez e clorofila *a* in vivo com os aparelhos descritos acima. Duas vezes por semana as ninfas de libélulas foram alimentadas com quatro girinos.

O experimento foi desmontado após duas semanas, em 26 de fevereiro. Retiramos os organismos com auxílio de uma rede de aquário e os preservamos numa solução 1:1 de álcool 70% e formaldeído 5% para os girinos e álcool 70% para as libélulas.

Delineamento do segundo experimento de laboratório

Em paralelo ao experimento de campo, foi realizado um experimento de laboratório testando o efeito isolado da água, o efeito isolado do sedimento, e o efeito combinado de água e sedimento de cada um dos quatro ambientes (cerrado e pastagem na Fazenda Campo Alegre; pastagem no Assentamento do INCRA; plantação de soja no Rancho Darro) sobre o desempenho de girinos e libélulas (Figura 9). O delineamento amostral do segundo experimento de laboratório foi igual ao do primeiro. Porém, por conta da disponibilidade de organismos não pudemos realizar o experimento completo com a espécie de girino (*Physalaemus cuvieri*) e família de libélulas (Aeshnidae) manipuladas em campo. Assim, realizamos o experimento completo de laboratório com *Leptodactylus fuscus* e Libellulidae, e um experimento reduzido expondo *Physalaemus cuvieri* e Aeshnidae ao tratamento manipulando água + sedimento de cada um dos quatro ambientes apenas. Água e sedimento foram coletados em 31 de janeiro de 2014 (cerrado e pastagem Campo Alegre) e 10 de fevereiro de 2014 (pastagem INCRA e soja) nas mesmas poças manipuladas nos quatro ambientes investigados no experimento de campo. Todos os organismos utilizados no experimento de laboratório foram provenientes do ambiente de pastagem INCRA. Girinos de *P. cuvieri* e ninfas de Libellulidae vieram dos mesmos lotes manipulados em campo. Girinos de *L. fuscus* começaram o experimento com $14,4 \text{ mm} \pm 1,34$ (média \pm 1 DP) de comprimento total, $0,242 \text{ mg} \pm 0,02$ de massa e em estágios iniciais de desenvolvimento (aproximadamente estágio 25; Gosner, 1960). Ninfas de Libellulidae começaram o experimento com $18 \text{ mm} \pm 3,95$ (média \pm 1 DP) de comprimento total. O experimento foi desmontado em 26 de fevereiro de 2014, e os animais foram preservados conforme descrito acima.

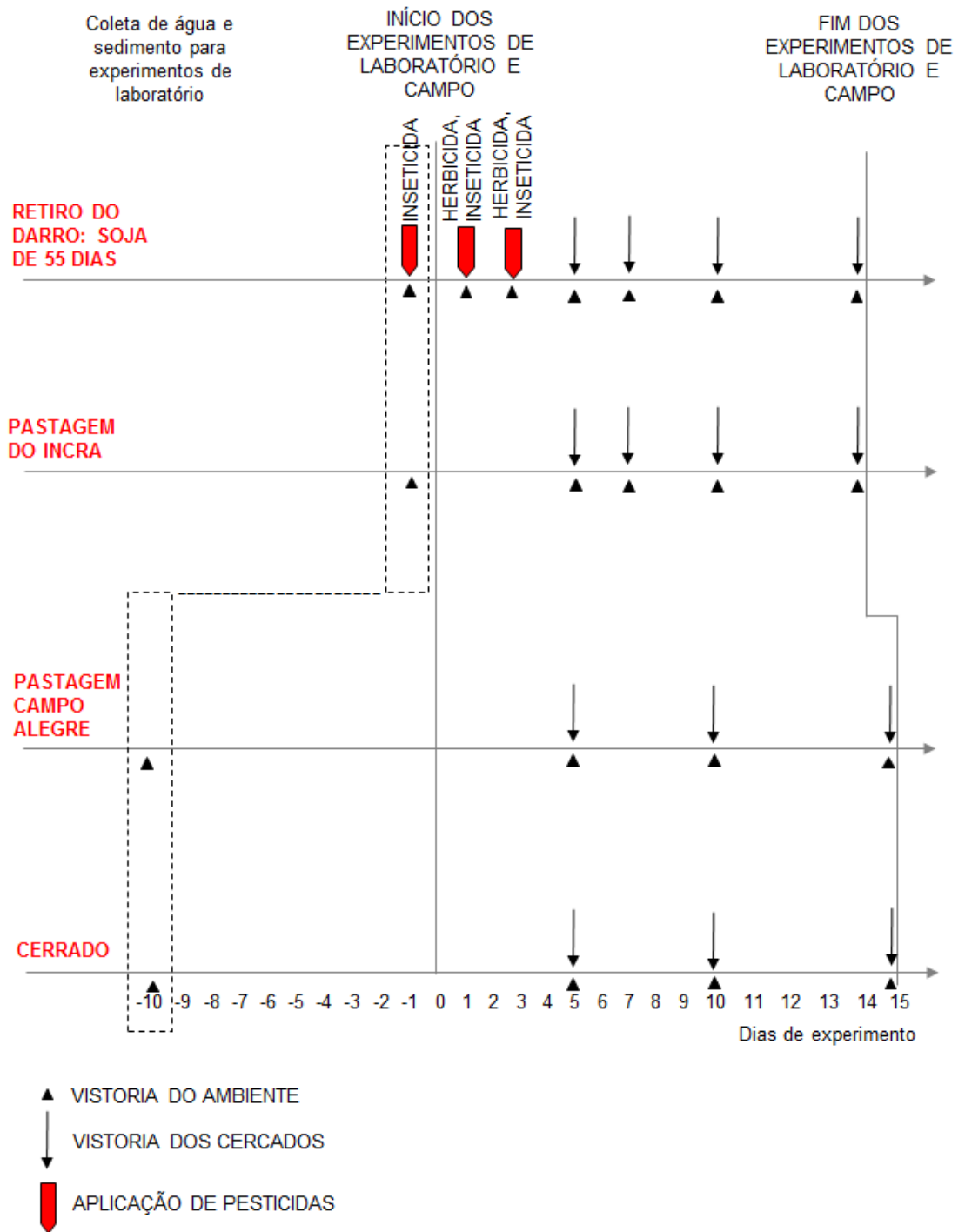


Figura 9. Linha do tempo do segundo experimento de campo e laboratório.

Variáveis de resposta

De forma a obter o máximo de realismo no que diz respeito às consequências da exposição às diferentes formas do uso da terra para os organismos aquáticos, trabalhamos com múltiplas variáveis de resposta indicadoras de desempenho. Para os girinos foram elas a sobrevivência (% dos indivíduos vivos), a massa final e o estágio de desenvolvimento final (Gosner, 1960), e para as ninfas de libélulas foi a sobrevivência (% dos indivíduos vivos). Tais variáveis são de suma importância, pois através delas é possível detectar eventos indiretos e pontuais de toxicidade ao longo do ciclo larval dos mesmos, bem como, ajuda na compreensão da dinâmica populacional. Originando deste modo, informações mais substanciais sobre os impactos ambientais.

As variáveis de respostas de qualidade da água selecionadas foram a temperatura, o pH, a condutividade, o oxigênio dissolvido, a turbidez e a concentração de clorofila *a*. As quatro primeiras variáveis são parâmetros básicos de qualidade da água e podem influenciar o desempenho de organismos aquáticos. Já a turbidez e a clorofila são indicativos do assoreamento e do estado trófico do corpo d'água, ou seja, da disponibilidade de alimentos na base da cadeia alimentar.

Análises dos dados

Para testar a hipótese de que o uso e manejo da terra para a produção intensiva de soja influenciam significativamente as propriedades físicas, químicas e biológicas de qualidade da água, a sobrevivência de libélulas, e a sobrevivência, a massa final e o estágio de desenvolvimento final de girinos, realizamos uma série de análises de reamostragem. Nesta análise, para cada variável de resposta cada poça (experimento de campo) ou recipiente (experimento de laboratório) representou uma réplica e cada ambiente ou tratamento foi representado pela grande média entre suas réplicas. A partir das grandes médias de cada ambiente ou tratamento, geramos uma matriz, a qual foi criada através da diferença entre as grandes médias de cada ambiente ou tratamento. Ainda com as grandes médias de cada ambiente ou tratamento calculamos a diferença máxima e mínima e também a diferença absoluta máxima a qual foi a nossa estatística de interesse. Com esta matriz descrita acima, criamos um cenário nulo. A qual aleatorizamos as médias de cada ambiente ou tratamento entre todos, a partir disso recalculamos a matriz do cenário nulo com a diferença entre todos ambientes ou tratamentos, bem como nossa estatística de interesse. A nossa estatística de interesse do cenário nulo foi aleatorização 10.000 vezes. A partir disso quantificamos o número de vezes que os valores gerados por dados aleatorizados foram maiores ou iguais ao valor observado da estatística de interesse do cenário real e dividimos esse número pelo total de aleatorização. Com esse procedimento, estimamos a probabilidade do resultado observado ter sido gerado ao acaso. Quando detectado uma diferença entre as médias dos ambientes ou

tratamentos aplicamos o teste 'a posteriori' de comparações múltiplas de Holmes. Deste modo, com a matriz aleatorizada calculamos uma nova matriz, em que se o valor da matriz do cenário nulo fosse maior ou igual ao cenário real assumiria os valores de 1 ou 0, assim construímos uma matriz binária. A partir da matriz binária o procedimento de aleatorização foi repetido novamente 10.000 vezes. Com a aleatorização da matriz binária calculamos a média entre os ambientes, estimando a probabilidade de o resultado observado ter sido gerado ao acaso. Todas as análises foram efetuadas com o programa Resampling Stats.

RESULTADOS

Primeiro experimento de campo

Características abióticas dos ambientes de transplante

A qualidade da água variou significativamente entre os diferentes ambientes de transplante (Figura 10). O uso da terra influenciou significativamente o pH ($p=0,043$) e a turbidez ($p=0,040$), e houve uma tendência marginalmente significativa ($p=0,073$) para um efeito do uso da terra sobre o oxigênio dissolvido. Por outro lado, não houve influência do uso da terra na temperatura ($p=0,288$) nem na condutividade ($p=0,192$). Testes de permutação pareados a posteriori indicaram que águas de ambiente de pastagem apresentaram maiores valores de pH e turbidez do que águas de ambiente de plantação de soja em ambos os ciclos. Uma inspeção visual da Figura 10 indica que poças de ambiente de soja em fase reprodutiva apresentaram valores de condutividade e oxigênio dissolvido pouco mais altos e valores de temperatura e turbidez pouco mais baixos que poças de ambiente de soja em fase vegetativa. Porém nenhuma destas diferenças foi significativa.

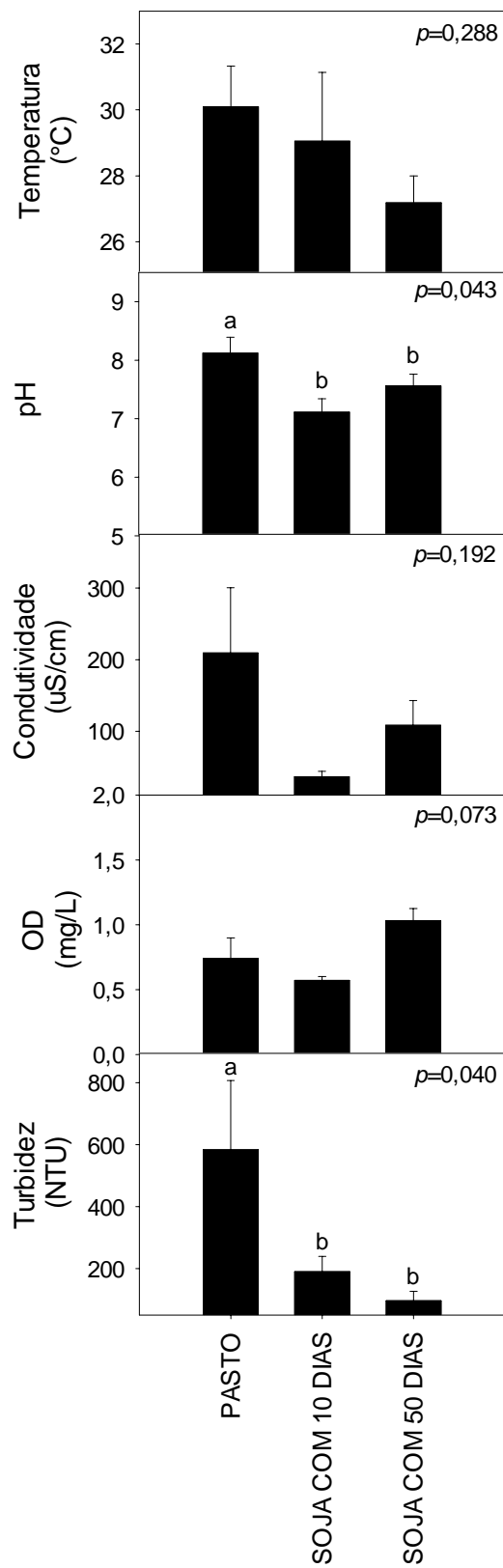


Figura 10. Condições abióticas das poças de transplante de girinos e invertebrados nos ambientes de pastagem (Assentamento do INCRA), de plantação de soja em fase vegetativa

(soja com 10 dias, Retiro da Onça) e de plantação de soja em fase reprodutiva (soja com 50 dias, Retiro da Alvorada). Barras representam médias \pm 1 erro padrão de 3-5 poças por ambiente, monitoradas em duas ocasiões. Em cada gráfico, letras representam diferenças significativas entre ambientes em testes de permutação pareados.

Concentração de fitoplâncton nos ambientes de transplante

A disponibilidade de recursos basais, conforme indicado pela concentração de clorofila *a* em suspensão, não variou de forma significativa entre os diferentes ambientes de transplante ($p=0,293$; Figura 11).

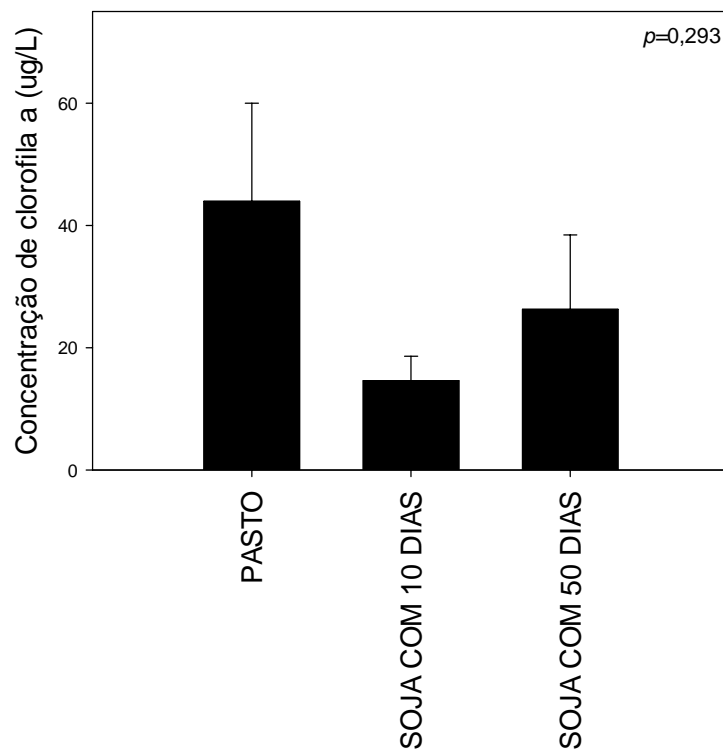


Figura 11. Concentração de clorofila *a* nas poças de transplante de girinos e invertebrados nos ambientes de pastagem (Assentamento do INCRA), de plantação de soja em fase vegetativa (soja com 10 dias, Retiro da Onça) e de plantação de soja em fase reprodutiva (soja com 50 dias, Retiro da Alvorada). Barras representam médias \pm 1 erro padrão de 3-5 poças por ambiente, monitoradas em duas ocasiões.

Efeitos da malha dos cercados sobre o desempenho de girinos

Onze de 43 cercados, todos em poças de pastagem, foram invadidos por predadores como larvas de libélula, larvas de besouro, notonectidae e corixidae. Fato este que é devido à alta frequência de ocorrência de predadores em poças de pastagem (Schiesari, dados não publicados). Destes 11 cercados, 6 eram de tela grossa e 5 de tela fina ($p=0,503$). Desta forma, realizei análises estatísticas para verificar a influência da invasão dos predadores sobre o desempenho dos organismos manipulados. Assim a sobrevivência dos organismos foi influenciada pela invasão de predadores ($p=0,006$), mas não para massa final ($p=0,254$) e nem para estágio final ($p=0,313$), entretanto, os maiores valores de sobrevivência e de massa final foi registrada em cercados que não foram invadidos por predadores. Por sua vez, quatro de 43 cercados, todos de tela grossa e três deles em poças de pastagem, foram invadidos por girinos ($p=0,059$). Novamente realizei análises estatísticas para verificar a influência da invasão por girinos de outras espécies sobre o desempenho dos organismos manipulados. Assim a sobrevivência dos organismos foi influenciada pela invasão de girinos pertencentes a outras espécies (facilmente reconhecíveis) ($p=0,047$), mas não influenciou a massa final ($p=0,126$) e nem o estágio final ($p=0,250$). Igualmente os maiores valores de sobrevivência e de massa final foram registrados em cercados que não foram invadidos por girinos.

O tamanho da malha teve ainda uma pequena, porém significativa influência sobre a temperatura (1.2°C maior em cercados de tela grossa, $p=0,016$), mas não sobre o pH ($p=0,138$), a condutividade ($p=0,267$) e o oxigênio dissolvido ($p=0,388$).

A sobrevivência ($p=0,016$) e a massa final ($p=0,006$) dos girinos de *Physalaemus cuvieri* transplantados para cercados com diferentes malhas foram influenciados pelos tipos de tela manipulada, mas a maior média de sobrevivência e massa dos girinos foi registrada em cercados constituídos por tela fina. O estágio final ($p=0,154$) dos girinos de *Physalaemus cuvieri* não foi influenciado pelos tipos de malha, mas a maior mediana de estágio final foi registrada em cercados compostos por tela fina. Ao realizar análises estatísticas isolando a forma do uso da terra para os cercados com diferentes malhas, obtive para o ambiente de pastagem um efeito significativo para sobrevivência ($p=0,051$) e para massa final ($p=0,057$), mas não para estágio final ($p=0,313$). Contudo, os maiores valores novamente foram registrados em cercados constituídos por tela fina. Ao realizar a mesma análise para o ambiente de soja obtive um efeito significativo para massa final ($p=0,037$) e para estágio final ($p=0,037$), mas não para sobrevivência ($p=0,123$). Por sua vez, os maiores valores também foram registrados em cercados constituídos por tela fina. Não satisfeito realizei uma nova análise na qual utilizei somente cercados constituídos por tela fina, a fim de, verificar o desempenho dos organismos nas diferentes formas do uso da terra. Desta forma, a sobrevivência ($p<0,001$), a massa final ($p<0,001$) e o estágio final ($p=0,016$) foram significativamente influenciados pela forma do uso da terra. Com estas análises é possível visualizar a mesma tendência na resposta sobre o desempenho dos organismos manipulados,

quando agrupamos os cercados compostos por tela fina e tela grossa, ou seja, sobrevivência ($p < 0,001$), a massa final ($p < 0,001$) e o estágio final ($p < 0,001$) (Figura 12).

Após esta sequência de análises, optamos em agrupar os dados a fim de aumentar o número de réplica, mesmo sabendo da existência do efeito da malha. Tal decisão foi tomada, pois em ambas as direções a serem adotadas trás com siglo custos e benefícios. Contudo, uma vez que priorizei verificar a efetividade das telas em isolar os organismos e de que permitisse um fluxo adequado de água, desta forma, ambos os tipos de tela contemplaram esses requisitos, pois não houve efeito significativo na invasão por predadores, mas houve efeito da tela grossa sobre a sobrevivência onde houve invasão por predadores e por girinos. As características abióticas não diferiram significativamente, somente para a temperatura. A partir desta sequência de análises é razoável agrupar os dados mesmo sabendo da diluição do efeito do uso da terra, por outro lado, os dados são sólidos e consistentes para sofrerem tais alterações nas variáveis de respostas, conforme as análises assinalam.

Efeito do uso da terra sobre o desempenho de girinos e libélulas

O transplante dos organismos aquáticos para ambientes de pastagem e de plantações de soja em diferentes momentos do ciclo de cultivo afetou significativamente o desempenho individual.

No caso dos girinos, o ambiente de transplante afetou significativamente a sobrevivência ($p < 0,001$), a massa final ($p < 0,001$) e o estágio final ($p < 0,001$) de *Physalaemus cuvieri* (Figura 12). Todos os girinos transplantados para poças em ambiente de soja em fase reprodutiva (soja com 50 dias) morreram. Os testes pareados detectaram diferença significativa entre a sobrevivência de girinos dos ambientes de soja na fase vegetativa (soja com 10 dias) e de soja na fase reprodutiva (soja com 50 dias) (Figura 12).

Apesar das diferenças entre ambientes aparentes na Figura 12, as demais comparações pareadas não foram consideradas significativas. A massa final dos girinos transplantados para poças em ambiente de soja em fase vegetativa foi o dobro da massa final dos girinos transplantados para poças em ambiente de pastagem ($p < 0,001$) (Figura 12). Da mesma forma, girinos transplantados para poças em ambiente de soja em fase vegetativa atingiram estágios de desenvolvimento significativamente mais avançados (estágio mediano 39) do que girinos transplantados para poças em ambiente de pastagem (estágio mediano 36) ($p < 0,001$) (Figura 12).

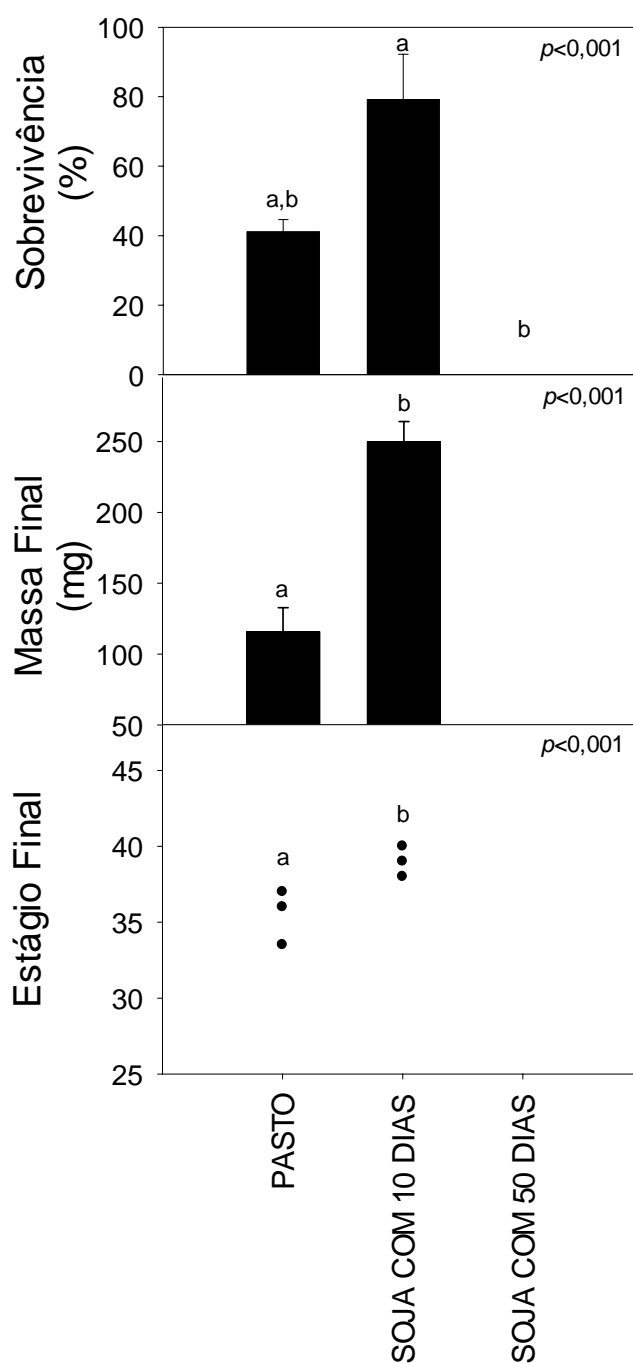


Figura 12. Sobrevivência, massa final e estágio final de girinos de *Physalaemus cuvieri* transplantados para cercados em poças de pastagem (Assentamento do INCRA), plantação de soja em fase vegetativa (soja com 10 dias, Retiro da Onça) e plantação de soja em fase reprodutiva (soja com 50 dias, Retiro da Alvorada). Barras representam as grandes médias ± 1 erro padrão, e símbolos no gráfico de estágio final representam as medianas das medianas, de cercados em 3-5 poças por ambiente. Em cada gráfico, letras representam diferenças significativas entre ambientes em testes de permutação pareados.

Da mesma forma, o ambiente de transplante afetou significativamente a sobrevivência das ninfas de Libellulidae ($p= 0,031$). Todos os indivíduos transplantados para poças em ambientes de soja em fase reprodutiva morreram. De forma similar, a sobrevivência de libélulas transplantadas para poças em ambiente de soja em fase vegetativa foi baixíssima e estatisticamente não distinguível de ambiente de soja em fase reprodutiva. Por sua vez, libélulas transplantadas para poças em ambiente de pastagem tiveram taxa de sobrevivência quatro vezes maior do que libélulas transplantadas para poças em ambientes de soja em fase vegetativa (soja com 10 dias) ($p=0,010$) (Figura 13).

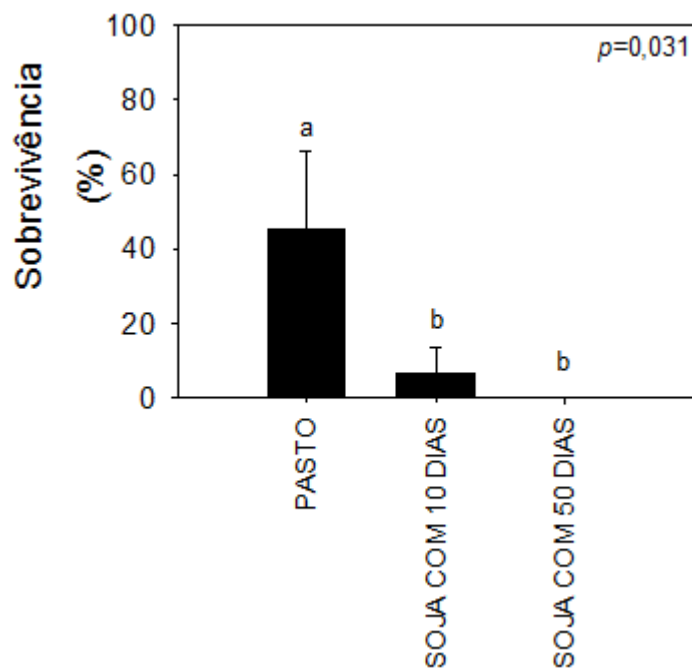


Figura 13. Sobrevivência das ninfas de libélulas da família Libellulidae transplantadas para cercados em poças de pastagem (Assentamento do INCRA), plantação de soja em fase vegetativa (soja com 10 dias, Retiro da Onça) e plantação de soja em fase reprodutiva (soja com 50 dias, Retiro da Alvorada). Barras representam as médias \pm 1 erro padrão da sobrevivência em 3-5 poças por ambiente. Letras representam diferenças significativas entre ambientes em testes de permutação pareadas.

Analisando-se as curvas de sobrevivência das libélulas ao longo do tempo, mais uma vez evidencia-se que o ambiente de transplante teve um efeito significativo sobre a sobrevivência de libélulas ($p \leq 0,001$). Todas as comparações pareadas entre ambientes de transplante foram detectadas como estatisticamente diferentes ($p < 0,001$) (Figura 14). As curvas de sobrevivência mostram ainda que no ambiente de soja em fase reprodutiva 90% da mortalidade ocorreu dentro de três dias de experimento; por sua vez, no ambiente de soja em

fase vegetativa a mortalidade cumulativa foi de 20% dentro de três dias e de 80% dentro de 6 dias de experimento. No terceiro e décimo-primeiro dias de experimento presenciei aplicação de pesticidas tanto no Retiro da Onça (soja em fase vegetativa) quanto no Retiro Alvorada (soja em fase reprodutiva). De acordo com técnicos agrícolas que participaram do processo de aplicação, foram aplicados na primeira data herbicida e inseticida no Retiro Onça e fungicidas, inseticidas, herbicidas e adubo foliar no Retiro Alvorada. Por sua vez, na segunda data foram aplicados adubo foliar, herbicida e inseticida no Retiro Onça e fungicida e herbicida no Retiro Alvorada.

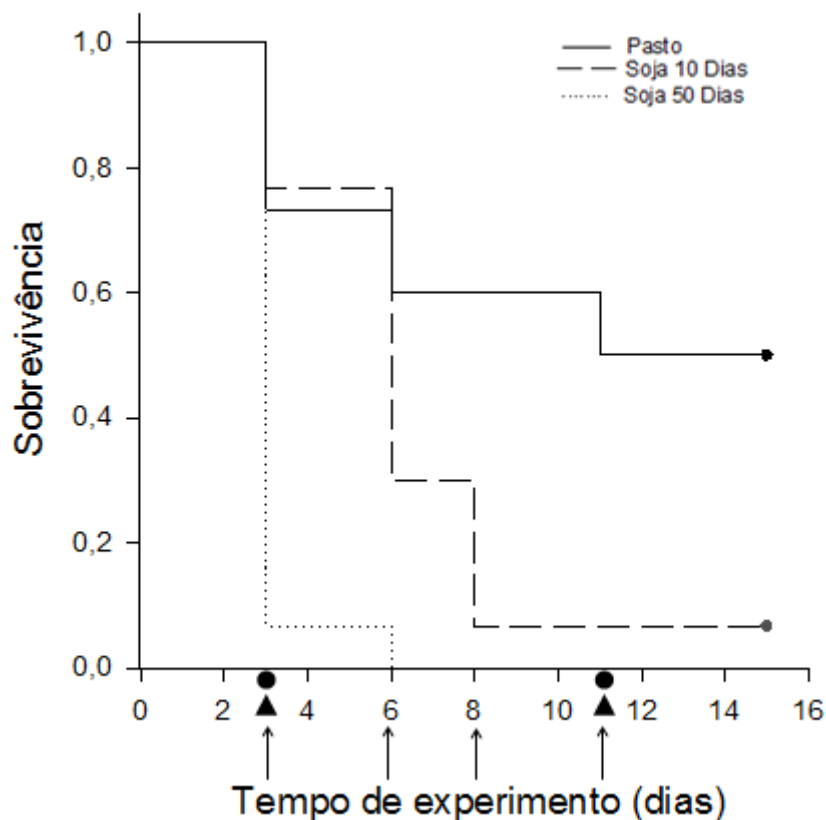


Figura 14. Curvas de sobrevivência das ninfas de libélulas da família Libellulidae transplantadas para cercados em poças de pastagem (Assentamento do INCRA), plantação de soja em fase vegetativa (soja com 10 dias, Retiro da Onça) e plantação de soja em fase reprodutiva (soja com 50 dias, Retiro da Alvorada). Abaixo do eixo da abcissa, setas indicam dias de verificação dos cercados, círculos indicam dias de aplicação de pesticidas no Retiro da Onça, e triângulos indicam dias de aplicação de pesticidas no Retiro da Alvorada.

Primeiro experimento de Laboratório

Efeitos da origem da água e do sedimento nas características físico-químicas da água

A origem da água influenciou significativamente a condutividade ($p=0,010$) e o oxigênio dissolvido ($p=0,007$), mas não a temperatura ($p=0,874$) e o pH ($p=0,186$) (Figura 15). Testes de permutação pareados a posteriori indicaram que águas de floresta apresentaram menores valores de condutividade e maiores valores de oxigênio dissolvido que águas das demais amostras. No entanto, a condutividade da água da floresta diferiu da água de campo de pasto e de soja em estágio vegetativo e de soja em estágio reprodutivo, já o oxigênio dissolvido da água da floresta diferiu da água de campo de pasto e de soja em estágio vegetativo.

A origem do sedimento teve influência mais marcante sobre a qualidade da água do que a origem da água propriamente dita (Figura 15). A origem do sedimento influenciou significativamente o pH ($p=0,026$) e a condutividade ($p=0,002$); testes de permutação pareados a posteriori indicaram que sedimento de floresta levou a menores valores de pH e condutividade da água que sedimentos de outras origens. Por outro lado, a origem do sedimento não teve efeito sobre temperatura ($p=0,592$) e oxigênio dissolvido ($p=0,330$).

Como na manipulação de sedimento, a manipulação simultânea de origem da água e do sedimento teve influência sobre a condutividade ($p=0,025$ para *P. cuvieri* e $p=0,010$ para *D. melanargyreus*) e sobre o pH ($p=0,080$ para *P. cuvieri* e $p=0,004$ para *D. melanargyreus*), mas não sobre a temperatura ($p=0,288$ para *P. cuvieri* e $p=0,325$ para *D. melanargyreus*). Testes de permutação pareados a posteriori indicaram que água e sedimento de floresta levaram a menores valores de pH e condutividade que água e sedimento de outras origens. Os efeitos de manipulação simultânea de água e sedimento tiveram padrões divergentes para oxigênio dissolvido no tratamento manipulando *P. cuvieri* e no tratamento manipulando *D. melanargyreus*. No primeiro caso houve efeito significativo sobre o oxigênio dissolvido, que foi maior para água e sedimento proveniente de florestas quando comparado a outras formas de uso da terra. No segundo caso não houve efeito sobre o oxigênio dissolvido.

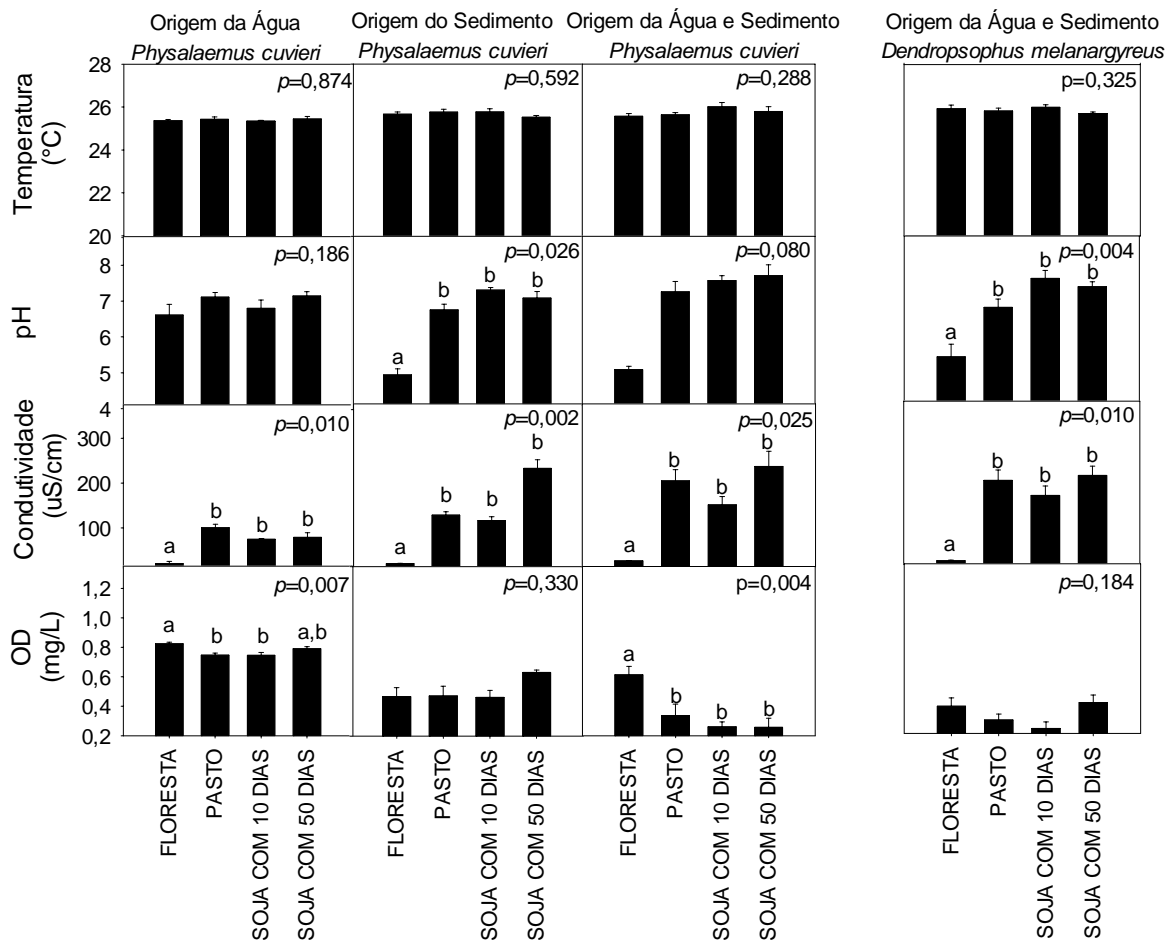


Figura 15. Condições abióticas dos recipientes experimentais contendo água, sedimento, e água + sedimento provenientes de poças de floresta, pastagem (Assentamento do INCRA), plantação de soja em fase vegetativa (soja com 10 dias, Retiro da Onça) e plantação de soja em fase reprodutiva (soja com 50 dias, Retiro da Alvorada). Barras representam médias ± 1 erro padrão de quatro caixas por tratamento monitoradas em duas ocasiões. Letras representam diferenças significativas entre ambientes em testes de permutação pareadas.

Já para as ninfas de Libellulidae a origem da água influenciou significativamente o pH ($p=0,027$) e a condutividade ($p=0,008$) (Figura 16), uma vez que águas de floresta de forma geral apresentaram menores valores de pH e condutividade que das demais amostras. Por outro lado, a origem da água não teve efeito sobre temperatura ($p=0,970$) e o oxigênio dissolvido ($p=0,288$).

A origem do sedimento influenciou significativamente o pH ($p<0,001$) e a condutividade ($p=0,011$) (Figura 16). Testes de permutação pareados a posteriori indicaram que o pH da água contendo sedimento de floresta levou a menores valores e a condutividade que da demais amostras. Por outro lado, a origem do sedimento não teve efeito sobre temperatura ($p=0,865$) e oxigênio dissolvido ($p=0,557$).

Novamente, a manipulação simultânea de água e sedimento influenciou significativamente o pH ($p < 0,001$ para Libellulidae e Corduliidae) e a condutividade ($p = 0,001$ para Libellulidae, $p = 0,004$ para Corduliidae) (Figura 16). Testes de permutação pareados a posteriori indicaram que a manipulação simultânea de água e sedimento de floresta levou a menores valores de condutividade que as demais origens. Por sua vez, o pH foi menor em tratamentos manipulando água e sedimento de floresta, embora sem diferença significativa em relação a pastagem no experimento manipulando libélulas da família Corduliidae. Tratamentos manipulando a origem da água e sedimento não tiveram efeito significativo sobre temperatura ($p = 0,709$ para Libellulidae, $p = 0,802$ para Cordulidae) e oxigênio dissolvido ($p = 0,281$ para Libellulidae, $p = 0,076$ para Corduliidae).

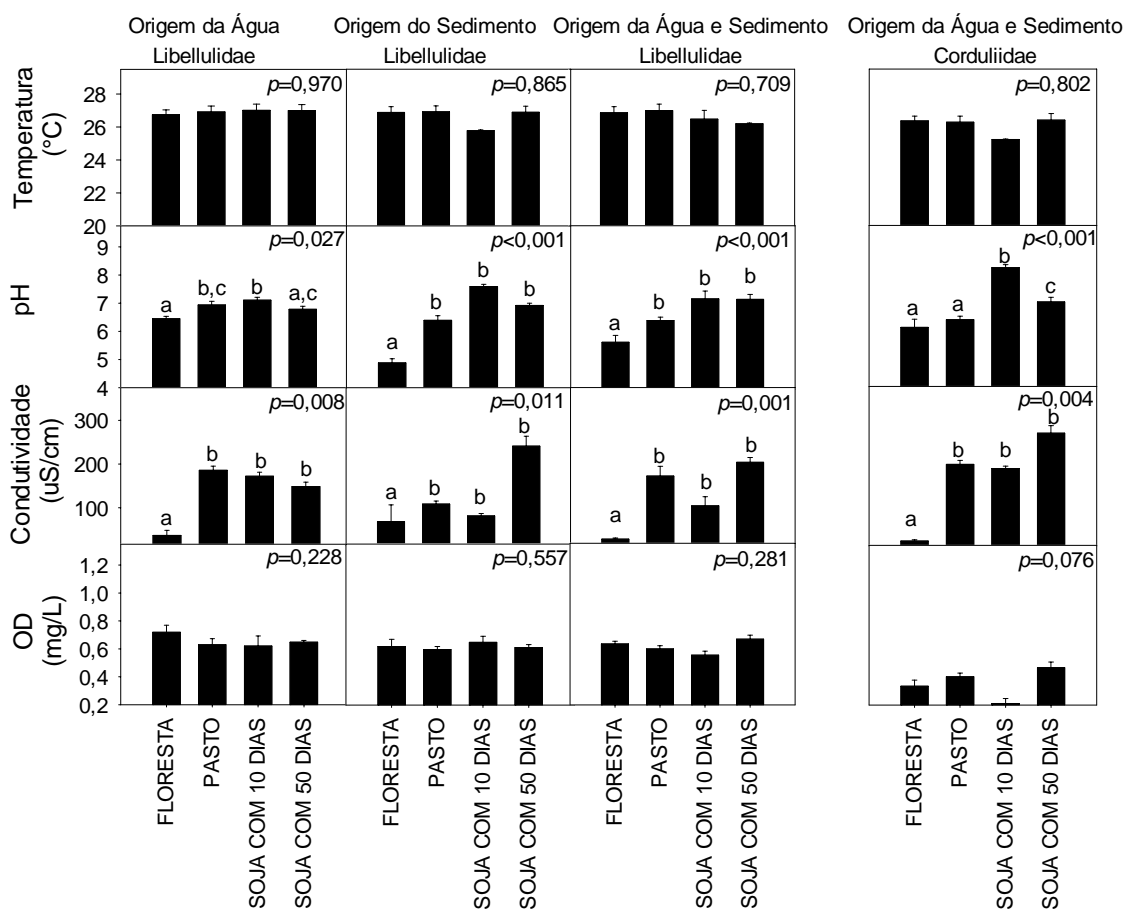


Figura 16. Condições abióticas dos recipientes experimentais contendo água, sedimento, e água + sedimento provenientes de poças de floresta, pastagem (Assentamento do INCRA), plantação de soja em fase vegetativa (soja com 10 dias, Retiro da Onça) e plantação de soja em fase reprodutiva (soja com 50 dias, Retiro da Alvorada). Barras representam médias \pm 1 erro padrão de dez recipientes por tratamento monitorado em duas ocasiões. Letras representam diferenças significativas entre ambientes em testes de permutação pareadas.

Efeitos da origem da água e do sedimento no desempenho de girinos e libélulas

A origem da água não afetou significativamente o desempenho dos girinos de *Physalaemus cuvieri* em termos de sobrevivência ($p=0,206$) e massa final ($p=0,122$), mas influenciou o estágio de desenvolvimento ($p=0,035$). Testes de permutação pareados a posteriori indicaram que águas de soja no ciclo reprodutivo levaram os maiores estágios que águas de outras origens. A sobrevivência dos girinos de *P.cuvieri* no tratamento soja 50 dias foi oito vezes menor do que a sobrevivência do tratamento pastagem e a massa final do tratamento soja 50 dias foi 22% maior do que a massa final dos girinos do tratamento soja 10 dias (Figura 17).

Por outro lado, a resposta de *Physalaemus cuvieri* para a manipulação de sedimento afetou significativamente o desempenho individual dos girinos em termos de sobrevivência ($p=0,048$) e massa final ($p=0,026$). Testes de permutação pareados a posteriori indicaram que sedimento de floresta apresentaram menores valores de sobrevivência e massa final. Contudo, a origem do sedimento não teve efeito sobre o estágio final ($p=0,135$).

Novamente, a manipulação simultânea de água e sedimento influenciou significativamente a massa final ($p=0,001$ para *P.cuvieri*, $p=0,004$ para *D.melanargyreus*) e a sobrevivência ($p=0,057$ para *P.cuvieri*, mas não $p=0,507$ para *D.melanargyreus*) e o estágio final ($p=0,010$ para *P.cuvieri*, mas não $p=0,396$ para *D.melanargyreus*). Testes de permutação pareados a posteriori indicaram que a manipulação simultânea de água e sedimento de soja no ciclo reprodutivo levou a maiores valores de sobrevivência, massa final e estágio final para *P.cuvieri*. Já para *D.melanargyreus* os teste pareados a posteriori indicaram que água e sedimento de pastagem levaram a maiores valores de massa final.

Comparando-se o desempenho individual dos girinos de *P.cuvieri* e *D.melanargyreus* perante a manipulação simultânea da água e sedimentos dos ambientes não diferiram no desempenho dos girinos em termos de sobrevivência ($p=0,152$) e massa final ($p=0,392$), mas apresentaram um efeito marginalmente significativo no estágio final ($p=0,067$). Desta forma, o estágio final dos indivíduos de *P.cuvieri* foi 26% maior do que indivíduos de *D.melanargyreus*.

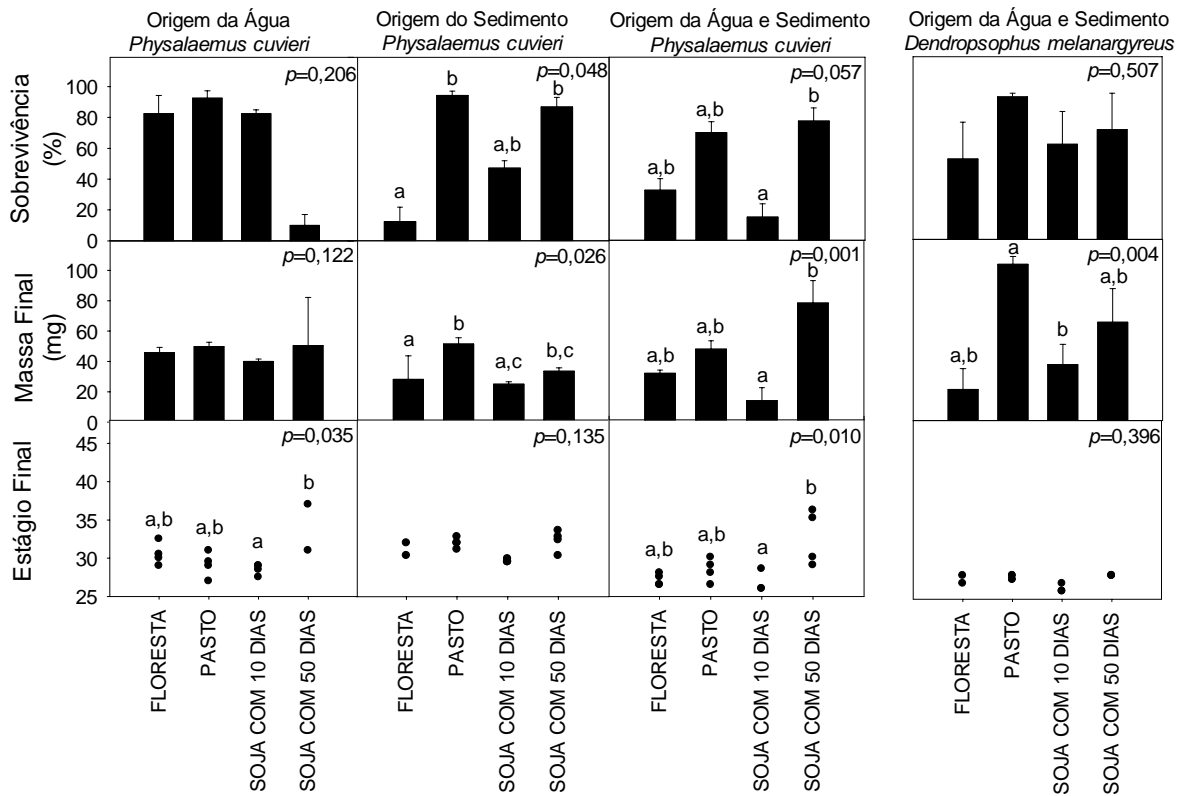


Figura 17. Sobrevivência, massa final e estágio final de girinos de *Physalaemus cuvieri* e *Dendropsophus melanargyreus* transplantados para recipientes experimentais contendo água, sedimento, e água + sedimento provenientes de poças de floresta, pastagem (Assentamento do INCRA), plantação de soja em fase vegetativa (soja com 10 dias, Retiro da Onça) e plantação de soja em fase reprodutiva (soja com 50 dias, Retiro da Alvorada). Barras representam médias \pm 1 erro padrão de quatro caixas por tratamento monitoradas em duas ocasiões. Letras representam diferenças significativas entre ambientes em testes de permutação pareadas.

Por sua vez, a exposição de ninfas de Libellulidae e Corduliidae a água, sedimento e água mais sedimento de floresta, pastagem e soja em fase vegetativa e reprodutiva resultou em um padrão discrepante de mortalidade, principalmente entre a primeira manipulação e as demais. A origem da água afetou significativamente a sobrevivência de Libellulidae ($p=0,007$), uma vez que o único tratamento com indivíduos sobreviventes foi o de soja em fase reprodutiva (Figura 18). As demais manipulações expondo Libellulidae e Corduliidae a sedimento ou a água e sedimento tiveram em comum o resultado de mortalidade total em soja em fase vegetativa e uma fraca tendência para maior mortalidade em soja em fase reprodutiva que em pastagem e floresta.

A sobrevivência das ninfas de Libellulidae foi quatro vezes maior quando exposta a sedimento de floresta do que quando exposta a soja no ciclo reprodutivo; todas as ninfas

expostas ao sedimento de soja no ciclo vegetativo morreram. No entanto, estas diferenças não foram significativas ($p=0,119$) (Figura 18).

A sobrevivência das ninfas de Libellulidae quando expostas simultaneamente a água e sedimento dos quatro ambientes foi baixa, variando entre 0 e 20%, e não diferiu entre tratamentos experimentais ($p=0,999$) (Figura 18). Em contraste, a manipulação simultânea de água e sedimento afetou significativamente a sobrevivência das ninfas de Corduliidae ($p=0,017$), que variou de 0 a 80%. Testes de permutação a posteriori detectaram como única diferença significativa à mortalidade entre os tratamentos manipulando água e sedimento de pastagem e soja no ciclo vegetativo (Figura 18). Comparando-se as famílias de libélulas à mesma manipulação experimental, Corduliidae apresentou sobrevivência seis vezes superior àquela de Libellulidae.

Por hora, cabe salientar que o padrão observado no experimento de campo e o oposto ao detectado no experimento de laboratório. Fato este, que está intimamente ligado ao manejo do ciclo da soja, ou seja, no momento da coleta da água e sedimento da soja no estágio vegetativo estava ocorrendo aplicação de pesticidas enquanto na soja no estágio reprodutivo não estava tendo aplicação de pesticidas.

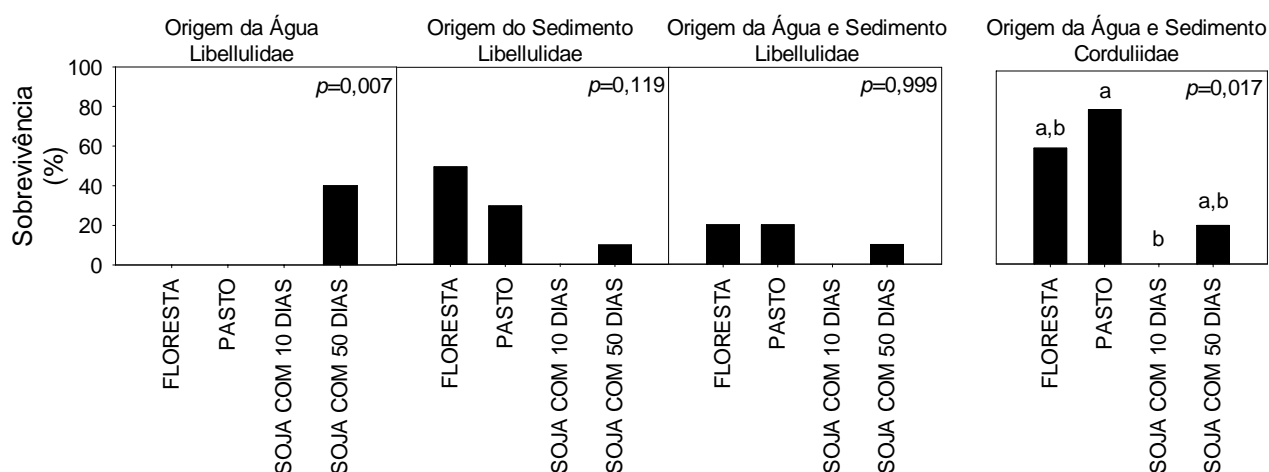


Figura 18. Sobrevivência das ninfas de libélulas da família Libellulidae e Corduliidae transplantadas para recipientes experimentais contendo água, sedimento, e água + sedimento provenientes de poças de floresta, pastagem (Assentamento do INCRA), plantação de soja em fase vegetativa (soja com 10 dias, Retiro da Onça) e plantação de soja em fase reprodutiva (soja com 50 dias, Retiro da Alvorada). Barras representam médias \pm 1 erro padrão de dez recipientes por tratamento monitorado em duas ocasiões. Letras representam diferenças significativas entre ambientes em testes de permutação pareadas.

Analisando-se as curvas de sobrevivência das libélulas ao longo do tempo, evidencia-se que a água e sedimento teve um efeito significativo sobre a sobrevivência de libélulas (Figura 19). A origem da água afetou significativamente a sobrevivência das ninfas de Libellulidae ($p=0,029$). Porém, ao contrário da análise de permutação anterior, a análise de sobrevivência detectou um efeito significativo da origem do sedimento na sobrevivência das ninfas de Libellulidae ($p<0,001$). Todas as libélulas expostas ao sedimento da soja em fase vegetativa morreram e, por conta disso, este tratamento diferiu de todos os demais em termos de sobrevivência ($p\leq 0,001$). As curvas de sobrevivência mostram ainda que no ambiente de soja em fase vegetativa 100% da mortalidade ocorreu dentro de 2 dias de experimento e, na fase reprodutiva, 80% da mortalidade ocorreu dentro de 5 dias de experimento (Figura 19).

Da mesma forma, a manipulação simultânea de água e sedimento afetou significativamente a sobrevivência das ninfas de Libellulidae ($p=0,001$) e de Corduliidae ($p=0,001$). Todas as libélulas das duas famílias expostas à água e sedimento da soja em fase vegetativa morreram dentro de 2 dias de experimento. Desta forma, a sobrevivência em resposta à exposição à água e sedimento de soja em fase reprodutiva diferiu de todos os demais tratamentos em testes pareados ($p\leq 0,001$). No caso de Corduliidae, diferiu ainda a sobrevivência de libélulas expostas à água e sedimento de pastagem quando comparada a soja em fase reprodutiva ($p\leq 0,001$).

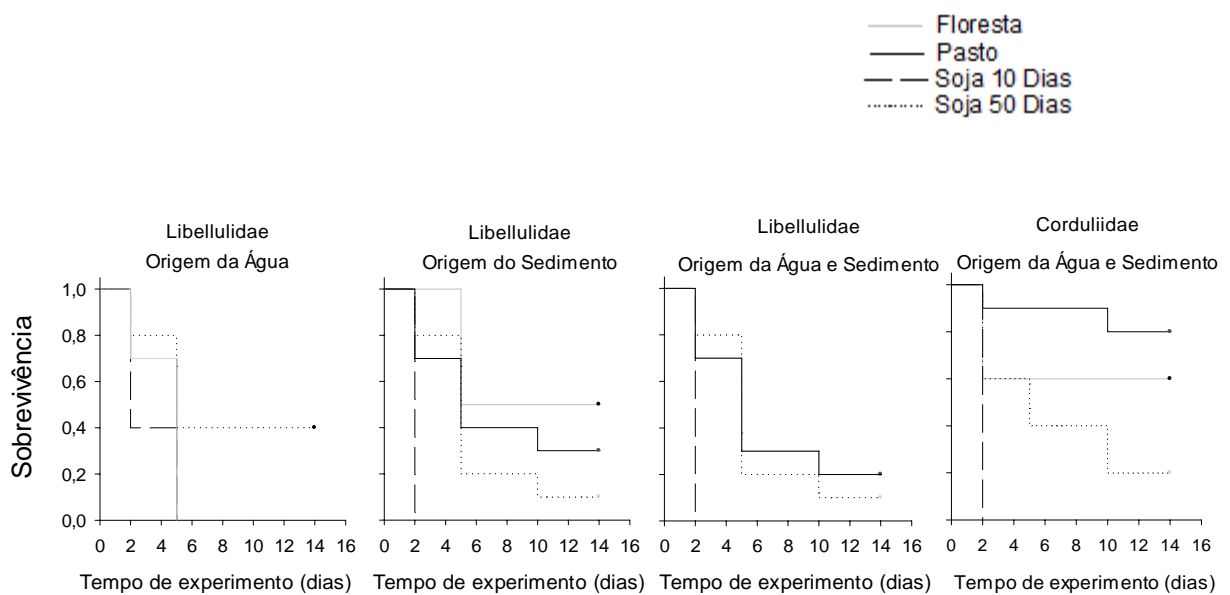


Figura 19. Curvas de sobrevivência das ninfas de libélulas da família Libellulidae e Corduliidae transplantadas para recipientes experimentais contendo água, sedimento, e água + sedimento provenientes de poças de floresta, pastagem (Assentamento do INCRA), plantação de soja em fase vegetativa (soja com 10 dias, Retiro da Onça) e plantação de soja em fase reprodutiva (soja com 50 dias, Retiro da Alvorada).

Segundo experimento de campo

Características abióticas dos ambientes de transplante

A qualidade da água dos diferentes ambientes de transplante variou significativamente com o uso da terra (Figura 20). O uso da terra influenciou significativamente a temperatura ($p=0,045$), a condutividade ($p=0,025$) e a turbidez ($p=0,001$); houve ainda uma diferença marginalmente significativa para o pH ($p=0,067$). Por outro lado, não houve influência do uso da terra no oxigênio dissolvido ($p=0,334$). Testes de permutação pareados a posteriori indicaram que águas de ambiente de pastagem 1 apresentaram maiores valores de temperatura que das demais amostras, águas de ambiente de pastagem 2 apresentaram maiores valores de condutividade que das demais amostras e águas de ambiente de soja apresentou maiores valores de turbidez que das demais amostras (Figura 20).

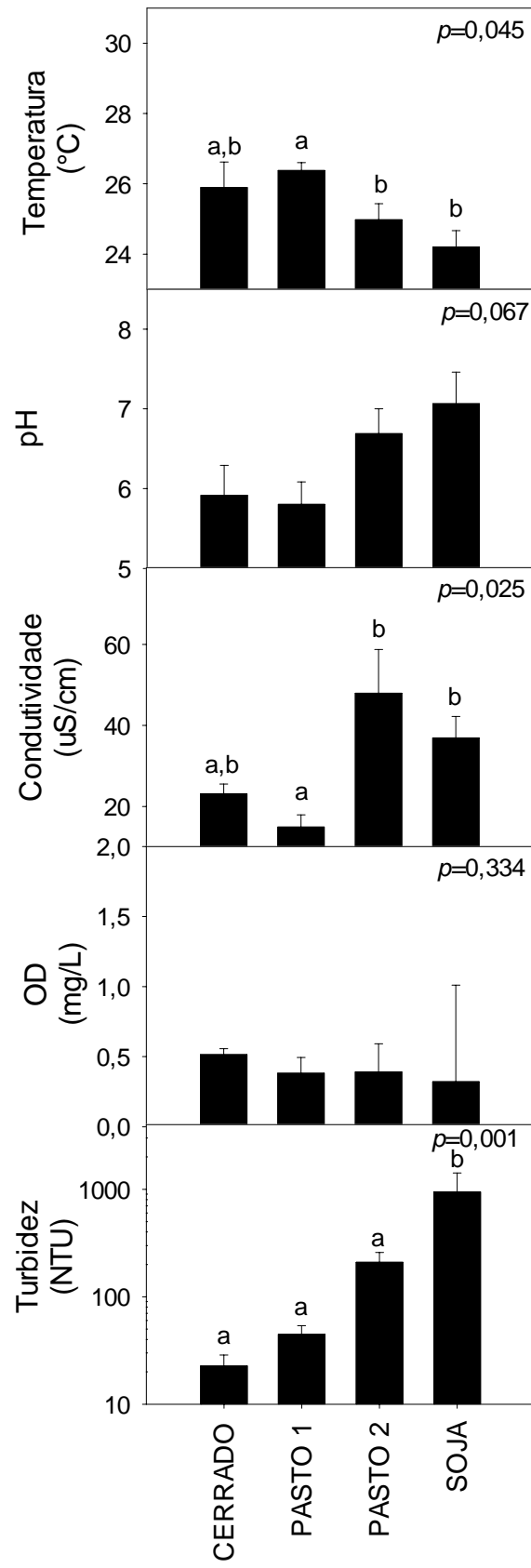


Figura 20. Condições abióticas das poças de transplante de girinos e invertebrados nos ambientes de cerrado (Fazenda Campo Alegre), pastagem (Fazenda Campo Alegre, Pasto 1; Assentamento do INCRA, Pasto 2) e de plantação de soja em fase reprodutiva (soja com 55 dias, Retiro do Darro). Barras representam médias + 1 erro padrão de quatro poças por ambiente monitoradas em duas ocasiões. Em cada gráfico, letras representam diferenças significativas entre ambientes em testes de permutação pareados.

Concentração de fitoplâncton nos ambientes de transplante

A disponibilidade de recursos basais nos ambientes de transplante de Canarana (pasto e soja), conforme indicado pela concentração de clorofila *a* em suspensão, foi em média 20 vezes maior do que nos ambientes de transplante de Água Boa (cerrado e pasto). Apesar disso, não houve diferença significativa na concentração de clorofila *a* em suspensão entre ambientes ($p=0,178$; Figura 21).

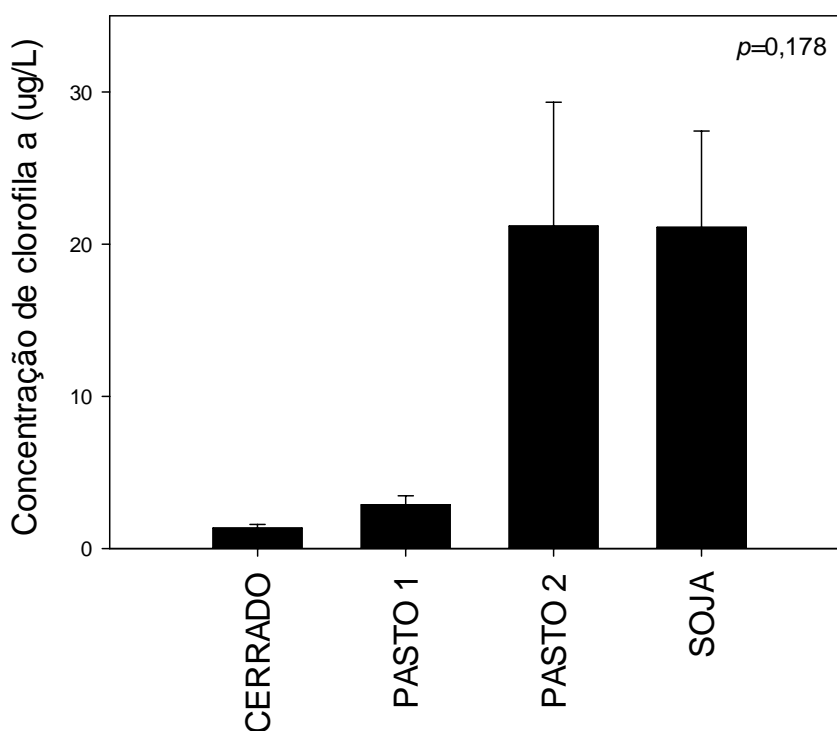


Figura 21. Concentração de clorofila *a* nas poças de transplante de girinos e invertebrados nos ambientes de cerrado (Fazenda Campo Alegre), pastagem (Fazenda Campo Alegre, Pasto 1; Assentamento do INCRA, Pasto 2) e plantação de soja em fase reprodutiva (soja com 55 dias, Retiro do Darro). Barras representam médias \pm 1 erro padrão de 3-5 poças por ambiente, monitoradas em duas ocasiões.

Efeito do uso da terra sobre o desempenho de girinos e libélulas

Como no primeiro experimento o ambiente de transplante dos organismos aquáticos, cerrado, pastagens e soja afetou significativamente o desempenho individual.

No caso dos girinos, o ambiente de transplante afetou significativamente a massa final ($p=0,042$) e o estágio final ($p=0,029$), mas não afetou a sobrevivência ($p=0,205$) de *Physalaemus cuvieri* (Figura 22). Os testes de permutação pareados a posteriori indicaram que o ambiente de pastagem 1 apresentou maiores valores de massa final e maiores valores de estágio final do que os de mais ambientes (Figura 22).

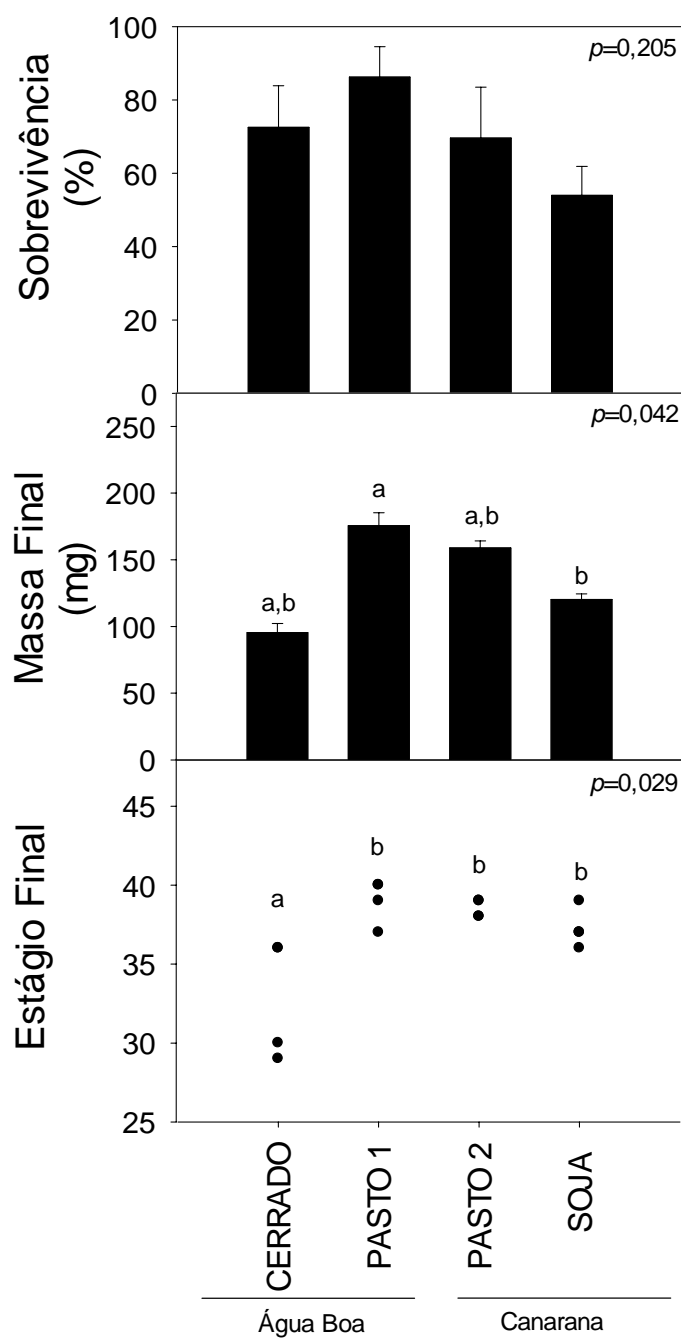


Figura 22. Sobrevivência, massa final e estágio final de girinos de *Physalaemus cuvieri* transplantados para cercados em poças de cerrado (Fazenda Campo Alegre), pastagem (Fazenda Campo Alegre, Pasto 1; Assentamento do INCRA, Pasto 2) e plantação de soja em fase reprodutiva (soja com 55 dias, Retiro do Darro). Barras representam médias + 1 erro padrão de quatro poças por ambiente. Em cada gráfico, letras representam diferenças significativas entre ambientes em testes de permutação pareados. A sobrevivência de manipulação dos girinos transplantados para ambientes em Canarana (próximos ao laboratório) e em Água Boa (distantes do laboratório) não variam.

Como no primeiro experimento, o ambiente de soja afetou marcadamente a sobrevivência das ninfas de Aeshnidae (Figura 23). Se por um lado todos os indivíduos transplantados para poças em ambientes de soja morreram, a taxa de sobrevivência de libélulas no cerrado e nas pastagens superou os 40%. No entanto, a diferença na sobrevivência entre formas de uso da terra foi apenas marginalmente significativa ($p=0,071$).

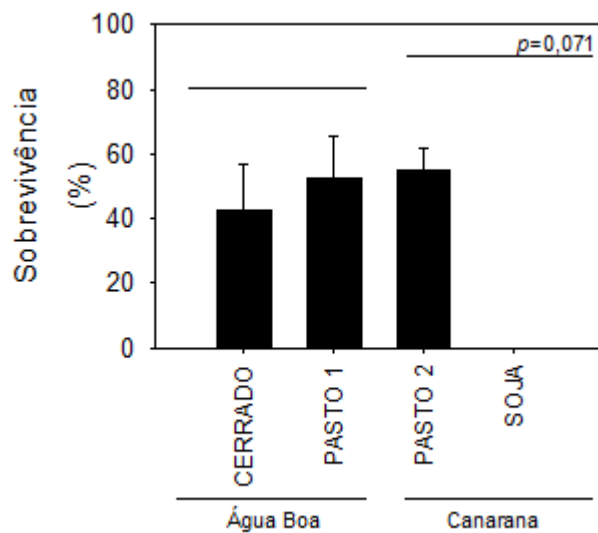


Figura 23. Sobrevivência das ninfas de libélulas da família Aeshnidae transplantados para cercados em poças de cerrado (Fazenda Campo Alegre), pastagem (Fazenda Campo Alegre, Pasto 1; Assentamento do INCRA, Pasto 2) e plantação de soja em fase reprodutiva (soja com 55 dias, Retiro do Darro). Barras representam médias + 1 erro padrão de quatro poças por ambiente. Letras representam diferenças significativas entre ambientes em testes de permutação pareados. As linhas horizontais sobre as barras representam a sobrevivência de manipulação das libélulas transplantadas para ambientes em Canarana (próximos ao laboratório) e em Água Boa (distantes do laboratório).

Por sua vez, analisando-se as curvas de sobrevivência das libélulas ao longo do tempo, também no segundo experimento o ambiente de transplante teve um efeito significativo sobre a sobrevivência de libélulas ($p<0,001$). A sobrevivência de libélulas em soja foi significativamente menor daquela observada nos demais usos da terra ($p\leq 0,001$ para todas as comparações pareadas) (Figura 24). Presenciei aplicações de pesticidas no Retiro Darro no primeiro e terceiro dias de experimento. De acordo com técnicos agrícolas que participaram do processo de aplicação, foram aplicados herbicidas e inseticidas na primeira data, e fungicidas e adubo foliar na segunda data. No momento da primeira vistoria dos cercados, após 5 dias de

experimento, 100% das libélulas transplantadas para poças no ambiente de soja tinham morrido.

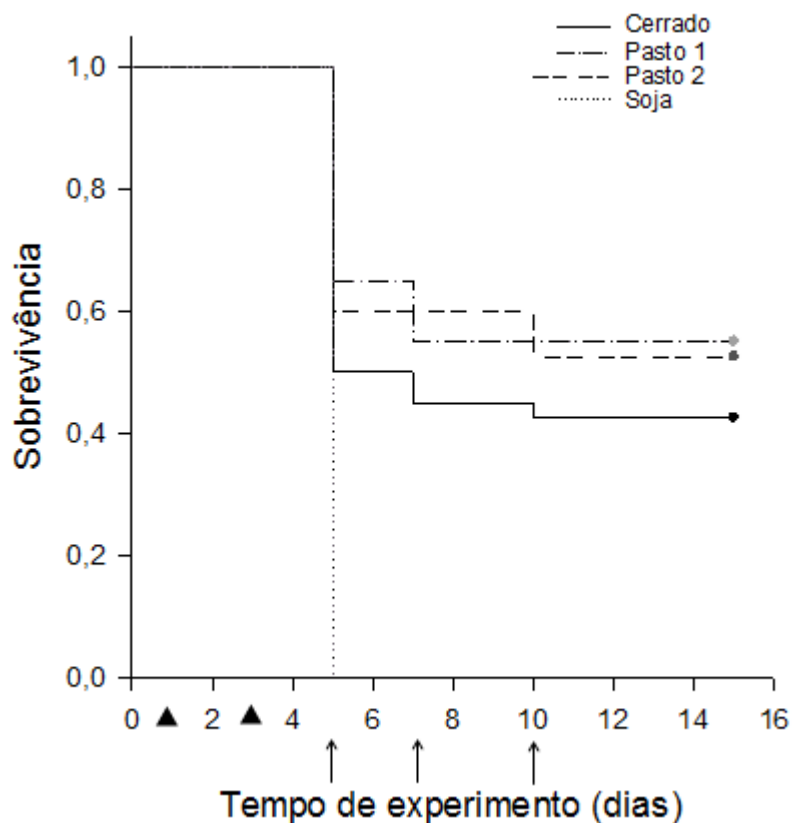


Figura 24. Curvas de sobrevivência das ninfas de libélulas da família Aeshnidae transplantadas para cercados em poças de cerrado (Fazenda Campo Alegre), pastagem (Fazenda Campo Alegre, Pasto 1; Assentamento do INCRA, Pasto 2) e plantação de soja em fase reprodutiva (soja com 55 dias, Retiro do Darro). Abaixo do eixo da abcissa, setas indicam dias de verificação dos cercados e triângulos indicam dias de aplicação de pesticidas no Retiro do Darro.

Segundo experimento de Laboratório

Efeitos da origem da água e sedimento nas características físico-químicas da água

A origem da água influenciou significativamente o pH ($p=0,016$) e a condutividade ($p=0,017$), mas não a temperatura ($p=0,077$) e o oxigênio dissolvido ($p=0,380$) (Figura 25). Testes de permutação pareados a posteriori indicaram que águas de cerrado apresentam maiores valores de pH e menores valores de condutividade que águas das demais amostras. No entanto, enquanto o pH das demais águas não diferiram entre si, água de cerrado diferiu da condutividade da água da soja.

A origem do sedimento teve influência mais marcante sobre a qualidade da água do que a origem da água propriamente dita (Figura 25). A origem do sedimento influenciou significativamente a condutividade ($p=0,018$) e o oxigênio dissolvido ($p=0,015$); testes de permutação pareados a posteriori indicaram que sedimento de cerrado levou menores valores de condutividade e maiores valores de oxigênio dissolvido. Por outro lado, a origem do sedimento não teve efeito sobre temperatura ($p=0,483$) e pH ($p=0,148$).

Como na manipulação de sedimento, a manipulação simultânea de origem da água e sedimento teve influência sobre a condutividade ($p=0,019$ para *L.fuscus* e $p=0,002$ para *P.cuvieri*). Testes de permutação pareados a posteriori indicaram que água e sedimento de cerrado levaram a menores valores de condutividade que águas e sedimento de outras origens. Os efeitos de manipulação simultânea de água e sedimento tiveram padrões divergentes para pH e oxigênio dissolvido no tratamento manipulando *L.fuscus* e no tratamento manipulando *P.cuvieri*. No primeiro caso não houve efeito significativo sobre o pH manipulando *L.fuscus*, que foi maior para água e sedimento proveniente da pastagem 2 quando comparado a outras formas de uso da terra. No segundo caso não houve efeito significativo sobre o oxigênio dissolvido manipulando *P.cuvieri*, que foi maior para água e sedimento provenientes do cerrado quando comparado a outras formas de uso da terra. Ou seja, houve efeito significativo sobre o pH quando manipulado a *P.cuvieri* ($p=0,014$) e para o oxigênio dissolvido quando manipulado a *L.fuscus* ($p=0,018$). Por outro lado, a origem da água e sedimento não teve efeito sobre temperatura ($p=0,077$ para *L.fuscus* e $p=0,707$ para *P.cuvieri*) (Figura 25).

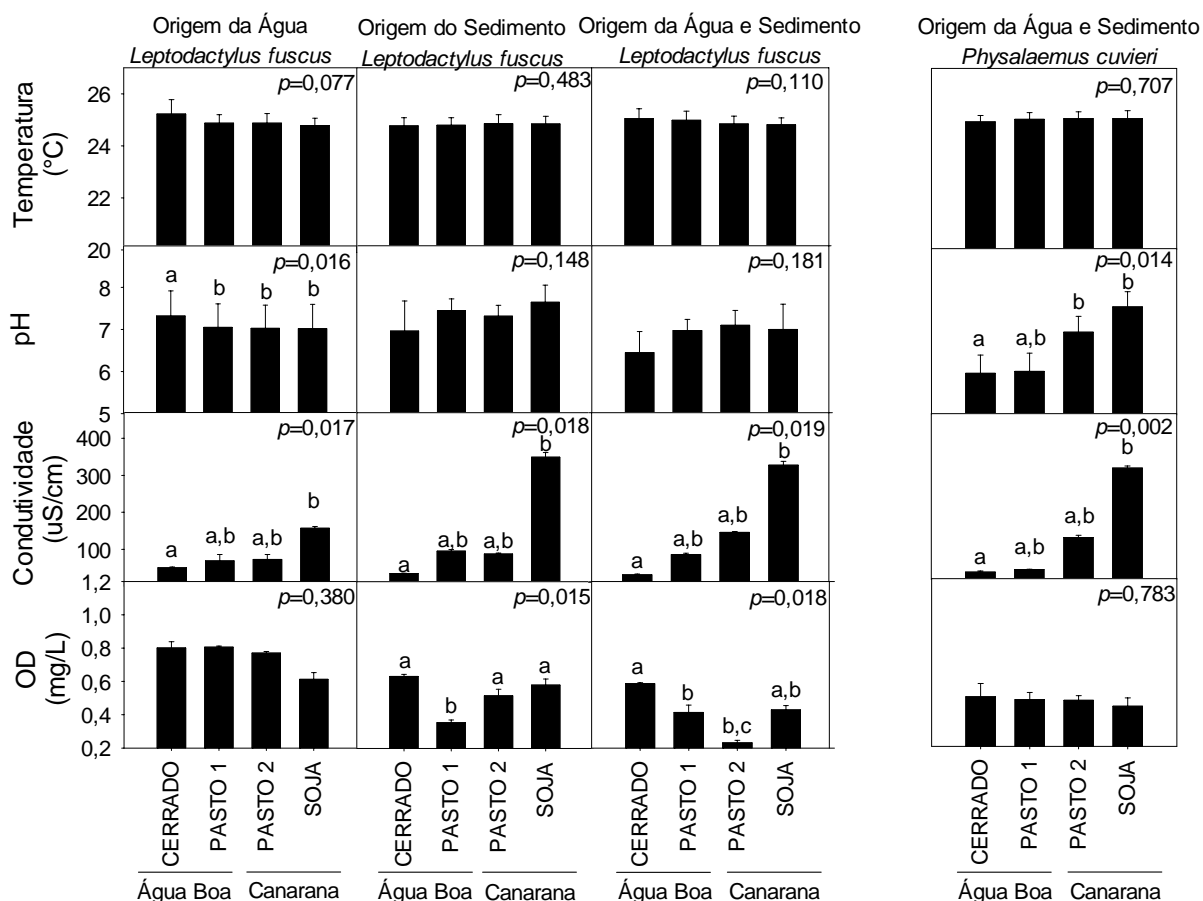


Figura 25. Condições abióticas dos recipientes experimentais contendo água, sedimento, e água + sedimento provenientes de poças de cerrado (Fazenda Campo Alegre), pastagem (Fazenda Campo Alegre, Pasto 1; Assentamento do INCRA, Pasto 2) e plantação de soja em fase reprodutiva (soja com 55 dias, Retiro do Darro). Barras representam médias \pm 1 erro padrão de três caixas por tratamento monitoradas em duas ocasiões. Letras representam diferenças significativas entre ambientes em testes de permutação pareadas.

Efeitos da origem da água e do sedimento no desempenho de girinos e libélulas

A origem da água não afetou o desempenho dos girinos de *Leptodactylus fuscus* em termos de sobrevivência ($p=1$), massa final ($p=0,932$) e estágio final ($p=0,344$) (Figura 26).

A origem do sedimento teve influência mais marcante sobre o desempenho individual dos girinos do que a origem da água propriamente dita (Figura 26). A origem do sedimento afetou significativamente o desempenho individual dos girinos em termos de massa final ($p=0,037$). Testes de permutação pareados a posteriori indicaram que sedimento de pastagem 1 apresentou maiores valores de massa final que das demais, que por sua vez, diferiu do ambiente de soja. Por outro lado, a origem do sedimento não teve efeito sobre a sobrevivência ($p=1$) e estágio final ($p=0,097$), mas houve uma tendência de sedimento de plantação de soja

apresentar menores estágios de desenvolvimento, mas esta tendência não foi significativa (Figura 26).

Novamente, a manipulação simultânea de água e sedimento influenciou significativamente a massa final ($p=0,042$ para *L.fuscus*, $p=0,038$ para *P.cuvieri*) e o estágio final ($p=0,029$ para *L.fuscus*, $p=0,035$ para *P.cuvieri*). Testes de permutação pareados a posteriori indicaram que água e sedimento de pastagem apresentaram maiores valores de massa final e estágio final para ambas as espécies manipuladas. Por outro lado, a origem da água e sedimento não teve efeito sobre a sobrevivência ($p=1$ para *L.fuscus*, $p=0,069$ para *P.cuvieri*) (Figura 26).

Comparando-se o desempenho individual dos girinos de *L.fuscus* e *P.cuvieri* perante a manipulação simultânea da água e sedimento dos ambientes não diferiram no desempenho em termos de sobrevivência ($p=0,258$) e estágio final ($p=0,920$), mas teve efeito significativo na massa final ($p=0,004$), a massa final da espécie *L.fuscus* foi 61% maior do que da espécie *P.cuvieri*.

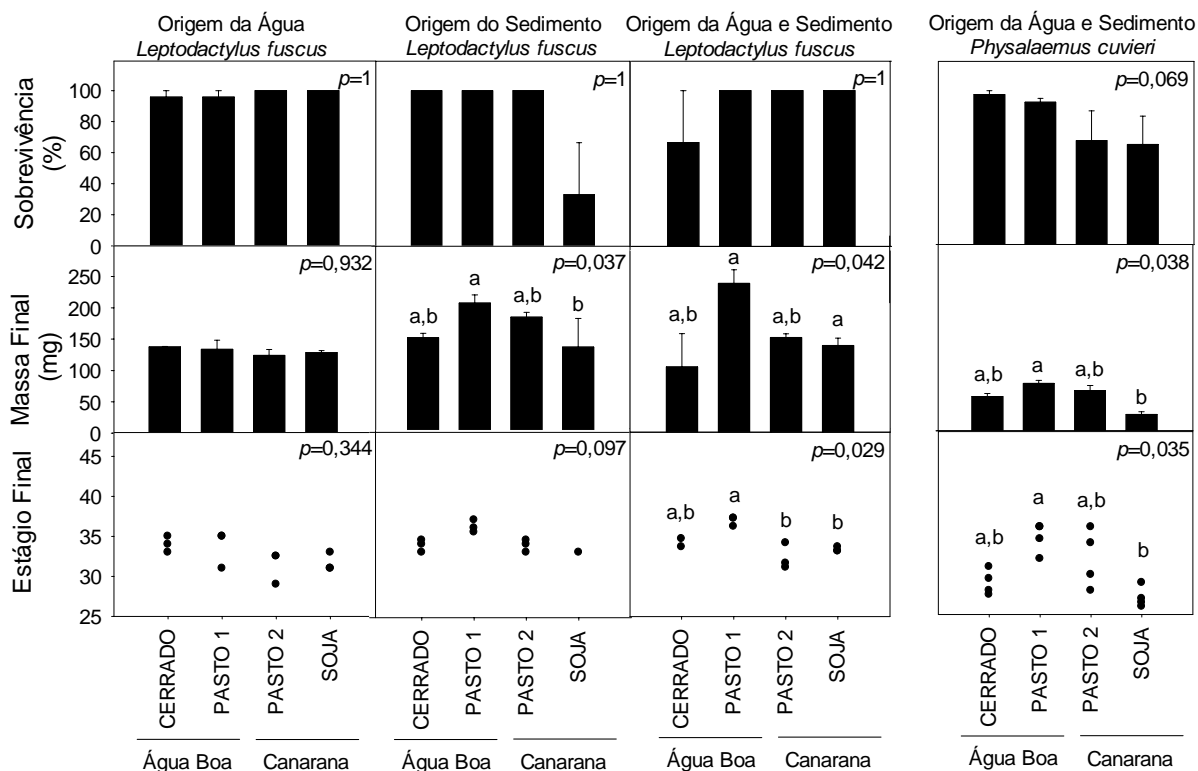


Figura 26. Sobrevivência, massa final e estágio final de girinos de *Leptodactylus fuscus* e *Physalaemus cuvieri* transplantados para recipientes experimentais contendo água, sedimento, e água + sedimento provenientes de poças de cerrado (Fazenda Campo Alegre), pastagem (Fazenda Campo Alegre, Pasto 1; Assentamento do INCRA, Pasto 2) e plantação de soja em fase reprodutiva (soja com 55 dias, Retiro do Darro). Barras representam médias \pm 1 erro padrão de três caixas por tratamento monitoradas em duas ocasiões. Letras representam diferenças significativas entre ambientes em testes de permutação pareadas.

A origem da água afetou significativamente a sobrevivência de Libellulidae ($p=0,026$), uma vez que todos os indivíduos expostos à água da soja morreram. Testes de permutação pareados a posteriori indicaram que águas de cerrado e pastagem 1 apresentaram maiores valores de sobrevivência do que águas das demais amostras (Figura 27).

A sobrevivência das ninfas de Libellulidae foi nove vezes maior quando exposta a sedimento de pastagem 1 do que quando exposta a sedimento de soja; todas as ninfas expostas ao sedimento de soja morreram ($p=0,041$). Testes de permutação pareados a posteriori indicaram que sedimentos de pastagem 1 apresentaram maiores valores de sobrevivência do que sedimento das demais amostras (Figura 27).

A sobrevivência das ninfas de Libellulidae quando expostas simultaneamente a água e sedimento dos quatro ambientes foi alta, variando entre 0 e 70%, e diferiu significativamente entre tratamentos experimentais ($p=0,026$). Igualmente, a sobrevivência das ninfas Aeshnidae na manipulação simultânea de água e sedimento dos quatro ambientes foi alta, variando entre 0 e 60%, e diferiu significativamente entre tratamentos experimentais ($p=0,018$). Testes de permutação pareados a posteriori indicaram que águas e sedimento de pastagem 1 e pastagem 2 apresentaram maiores valores de sobrevivência do que águas e sedimento das demais amostras (Figura 27). Comparando-se as famílias de libélulas a mesma manipulação experimental, Libellulidae apresentou sobrevivência três vezes maior do que das ninfas de Aeshnidae.

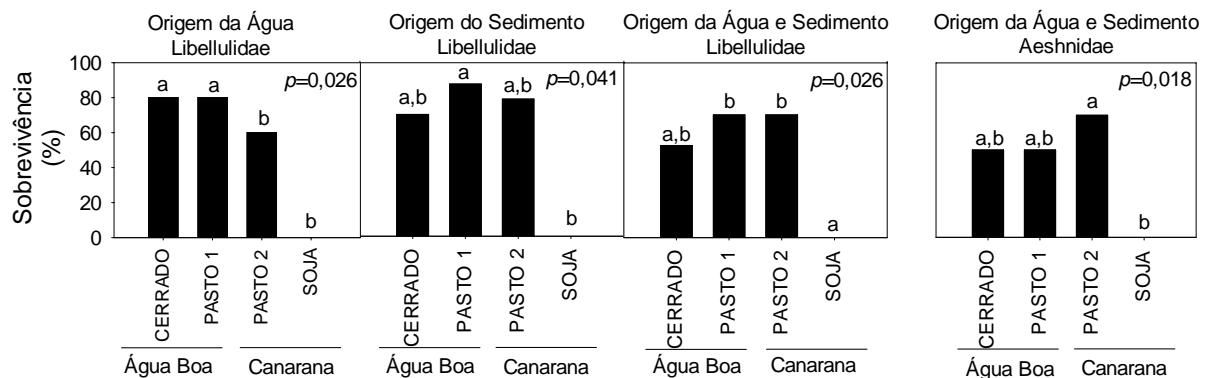


Figura 27. Sobrevivência das ninfas de libélulas da família Libellulidae transplantadas para recipientes experimentais contendo água, sedimento, e água + sedimento provenientes de poças de cerrado (Fazenda Campo Alegre), pastagem (Fazenda Campo Alegre, Pasto 1; Assentamento do INCRA, Pasto 2) e plantação de soja em fase reprodutiva (soja com 55 dias, Retiro do Darro). Barras representam médias ± 1 erro padrão de dez recipientes por tratamento monitorado em duas ocasiões. Letras representam diferenças significativas entre ambientes em testes de permutação pareadas.

Analisando-se as curvas de sobrevivência das libélulas ao longo do tempo, evidencia-se que a água e sedimento teve um efeito significativo sobre a sobrevivência de libélulas (Figura 28). A origem da água afetou significativamente a sobrevivência das ninfas de Libellulidae ($p < 0,001$). Todas as libélulas expostas à água da soja morreram e, por conta disso, este tratamento diferiu de todos os demais em termos de sobrevivência ($p < 0,001$) (Figura 28).

Da mesma forma, a origem do sedimento afetou significativamente a sobrevivência das ninfas de Libellulidae ($p < 0,001$). Todas as libélulas expostas ao sedimento da soja morreram e, por conta disso, este tratamento diferiu de todos os demais em termos de sobrevivência ($p < 0,001$) (Figura 28). As curvas de sobrevivência mostram ainda que no ambiente de soja 100% da mortalidade ocorreu após 2 dias de experimento (Figura 28).

Por sua vez, a manipulação simultânea de água e sedimento afetou significativamente a sobrevivência das ninfas de Libellulidae ($p = 0,001$) e Aeshnidae ($p = 0,003$). Todas as libélulas das duas famílias expostas a água e sedimento da soja morreram dentro 2 dias de experimento. Desta forma, a sobrevivência em resposta a exposição à água e sedimento de soja em fase reprodutiva diferiu de todos os demais tratamentos em testes pareados ($p < 0,001$) (Figura 27). Portanto, as curvas de sobrevivência demonstram o mesmo padrão observado das ninfas de Libellulidae e Corduliidae (Figura 19).

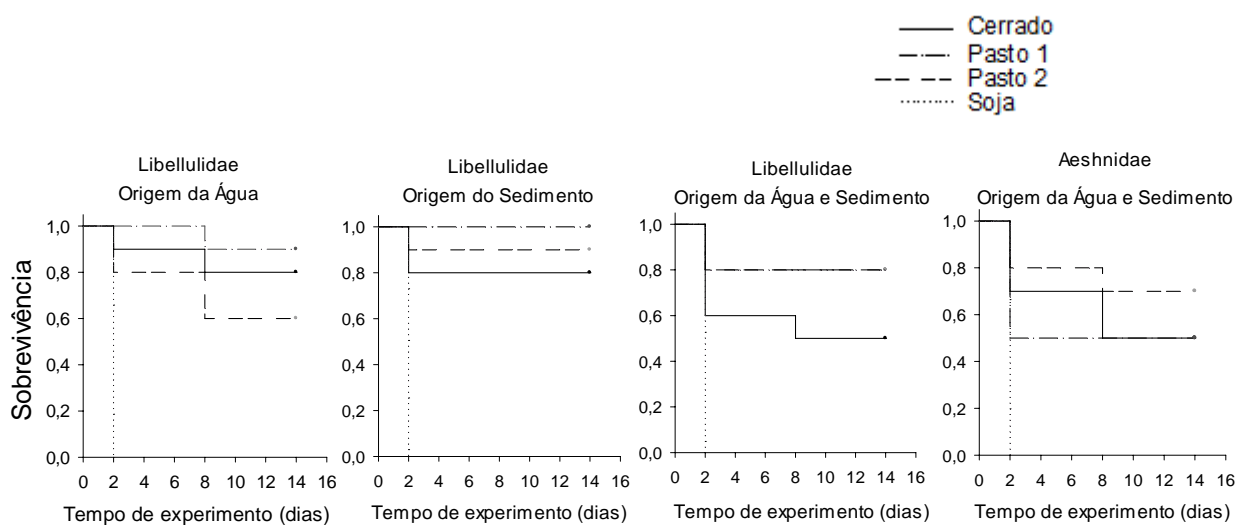


Figura 28. Curvas de sobrevivência das ninfas de libélulas da família Libellulidae transplantadas para recipientes experimentais contendo água, sedimento, e água + sedimento provenientes de poças de cerrado (Fazenda Campo Alegre), pastagem (Fazenda Campo Alegre, Pasto 1; Assentamento do INCRA, Pasto 2) e plantação de soja em fase reprodutiva (soja com 55 dias, Retiro do Darro).

DISCUSSÃO

Nesta dissertação, combinamos experimentos de campo e de laboratório para avaliar como a conversão do cerrado para pastagens e plantações intensivas de soja no arco de desmatamento amazônico influencia o desempenho dos organismos aquáticos. Observamos que o uso e manejo da terra têm influência significativa para o desempenho de organismos aquáticos, mas que o sinal e intensidade desta influência é função da espécie, da variável de resposta medida, e da forma de manejo da terra no período de exposição dos organismos.

Revisamos a seguir os resultados dos experimentos manipulando libélulas e girinos, e discutimos os possíveis mecanismos responsáveis pelos padrões observados, a partir da correspondência entre desempenho, características ambientais, e práticas de manejo da terra.

Padrões observados em campo e laboratório: Libélulas

Em ambos os experimentos de campo, larvas de libélulas foram rapidamente erradicadas de ambientes de plantação, corroborando a hipótese de que o uso e o manejo da terra para a produção intensiva de soja resultam na redução significativa no desempenho das larvas de libélulas. No primeiro experimento de campo, 96% das larvas de Libellulidae tinham morrido em oito dias de experimento em ambiente de soja de 10 dias e 100% tinham morrido em apenas seis dias de experimento em soja de 50 dias. No segundo experimento, 100% das larvas de Aeshnidae tinham morrido em cinco dias de experimento em ambiente de soja de 55 dias. Em contraste, a mortalidade de Libellulidae e Aeshnidae transplantadas para ambientes de cerrado e de pastagens nos dois experimentos variou entre 50 e 60%.

Os padrões observados em campo foram fortemente corroborados no segundo experimento de laboratório. Neste experimento de laboratório, todos os indivíduos de Libellulidae morreram em menos de dois dias de experimento em água, em sedimento, ou em água e sedimento de ambiente de soja; o mesmo aconteceu com os indivíduos de Aeshnidae mantidos em água e sedimento de ambiente de soja. Em comparação, a mortalidade em água, em sedimento ou em água e sedimento de ambiente de cerrado e pastagem variaram entre 0 e 50% ao longo dos 14 dias de experimento. Por sua vez, o primeiro experimento de laboratório manipulando libélulas resultou em padrões erráticos e de difícil interpretação. O único padrão consistente em todos os tratamentos foi à mortalidade completa e quase imediata (em geral em menos de dois dias e em todos os casos em menos de cinco dias) de Libellulidae e Corduliidae em tratamentos manipulando água, sedimento, ou água e sedimento de ambiente de soja de 10 dias. Isso talvez se deva à observação de que, no momento da coleta da água e sedimento para o experimento de laboratório presenciei a aplicação de pesticidas no campo de soja de 10 dias. Porém, a mortalidade de Libellulidae foi alta no experimento como um todo – sempre maior ou igual a 50%, e chegando a 100% em tratamentos manipulando água de floresta e de pastagem, que supostamente representariam condições benignas. A alta mortalidade de Libellulidae no primeiro experimento de laboratório como um todo, e especialmente nos

controles, sugere artefatos experimentais ou que os organismos entraram no experimento em condições sub-ótimas. Por isso, devemos ter cuidado na interpretação dos resultados do primeiro experimento de laboratório manipulando libélulas.

Ao menos em princípio, as três famílias de libélulas manipuladas parecem responder de forma similar aos tratamentos experimentais. No segundo experimento de laboratório, Libellulidae e Aeshnidae responderam de forma praticamente idêntica à manipulação de água e sedimento. Já no primeiro experimento de laboratório, tanto Libellulidae como Corduliidae morreram dentro de dois dias quando expostas a água e sedimento de poças de soja de 10 dias, mas Corduliidae sobreviveu seis vezes mais que Libellulidae nos demais tratamentos. Esta maior robustez de Corduliidae pode ser devido à diferença na utilização do micro-habitat, o que confere características distintas em relação à sensibilidade ao efeito da água e sedimento (Corbet, 1999). Em conclusão, é possível que nossos resultados sejam representativos, ao menos em parte, para libélulas Anisoptera.

De forma geral, os resultados experimentais demonstram que libélulas são sensíveis ao uso e manejo da terra, e parecem ter ampla coincidência com os padrões de distribuição de larvas de libélulas observadas em campo (Schiesari, obs. pess.). Amostragens que conduzimos em alguns dos mesmos ambientes utilizados nos experimentos de transplante (Retiro Alvorada na Fazenda Tanguro, pastagem no Assentamento do INCRA) mostraram que libélulas estiveram virtualmente ausentes de poças de ambiente de soja em novembro de 2011 (soja de 20 dias; sete poças amostradas), janeiro de 2012 (soja de 60 dias; 16 poças amostradas) e fevereiro de 2012 (soja de 75 dias; 16 poças amostradas). Por sua vez, na mesma época 65% das poças de pastagem e 75% das poças de floresta continham libélulas, em densidades medianas de 2,46 e 1,13 indivíduos por metro quadrado, respectivamente (amplitude 0,18-73,11 inds/m² em pastagem e 0,37–8,80 inds/m² em floresta). Conclui-se então, tanto por meio da amostragem como dos experimentos de campo e de laboratório, que o ambiente de plantio de soja, independente do momento ao longo do ciclo, é francamente desfavorável ao desenvolvimento de larvas de libélulas.

Diversos são os fatores que co-variam com uso da terra e que poderiam influenciar a probabilidade de sobrevivência de larvas de libélula. Uma vez que nos dois experimentos de transplante a maior disparidade em sobrevivência ocorreu entre ambientes de referência e de pastagem, por um lado, e os ambientes de plantação de soja, por outro, diferenças medidas ou inferidas entre estes dois conjuntos de ambientes são importantes para iluminar as causas da mortalidade expressiva das ninfas de libélulas.

No primeiro experimento de campo, o uso da terra influenciou significativamente o pH e a turbidez, e marginalmente o oxigênio dissolvido. Poças em ambiente de soja foram mais ácidas e menos turvas do que poças em ambiente de pastagem. Já os valores de oxigênio dissolvido, sempre baixos, foram pouco maiores em soja de 50 dias, mas iguais aos de pastagem e soja de 10 dias. Já no segundo experimento de campo, o uso da terra influenciou significativamente a temperatura, a condutividade e a turbidez, e marginalmente o pH. No entanto, o único parâmetro em que poças de plantações diferiram das demais foi à turbidez;

poças de plantações foram mais turvas do que poças em outras formas de uso da terra. Para os demais parâmetros, poças de plantações de soja tiveram valores grosseiramente comparáveis àqueles de poças da pastagem do Assentamento do INCRA. Outros fatores que covariam com uso da terra, como risco de pisoteamento pelo gado em pastagens e pelo tráfego de maquinário nas plantações não serão considerados porque em nenhum caso tivemos cercados danificados em campo.

Dentro dos fatores acima mencionados, as variações de temperatura são parte do regime climático normal de corpos d'água naturais. A temperatura desempenha um papel principal do controle do meio aquático, condicionando uma série de características físico-químicas (CETESB, 2004). Desta forma, a temperatura pode influenciar o desempenho das libélulas, mas é improvável que tenha papel relevante na alta mortalidade observada durante o primeiro e o segundo experimento de campo. Uma vez que ambos os experimentos os padrões são contrastantes, ou seja, durante o primeiro experimento de campo a alta mortalidade de libélulas registrada em ambiente de soja 50 dias teve associada a menor média de temperatura. Por sua vez, durante o segundo experimento de campo a maior taxa de sobrevivência de libélulas registrada em ambiente de pasto 1, teve associada a maior média de temperatura, ou seja, em ambos os experimentos apresentaram a mesma faixa termal mas originaram respostas distintas na sobrevivência das libélulas. Durante o primeiro e segundo experimento de laboratório as temperaturas de todos os tratamentos foram homogêneas. Portanto, temperatura não pode ter sido um fator de grande importância em causar os padrões de desempenho das larvas de libélulas observados em campo e laboratório.

Já o pH pode influir em diversos equilíbrios químicos que ocorrem naturalmente nos corpos d'água, devido a seus efeitos sobre a fisiologia das diversas espécies (CETESB, 2004). Desta forma o pH pode influenciar o desempenho das libélulas, mas é improvável que tenha papel relevante na alta mortalidade observada durante o primeiro e o segundo experimento de campo. Uma vez que em ambos os experimentos os padrões são contrastantes, ou seja, durante o primeiro experimento de campo a baixa mortalidade de libélulas registrada em ambiente de pasto, teve associada a maior média de pH. Por sua vez, durante o segundo experimento de campo a alta mortalidade de libélulas registrada em ambiente de soja, teve associada a maior média de pH. Por outro lado, o único parâmetro de qualidade da água no primeiro experimento de laboratório que variou de forma paralela aos dados de mortalidade foi o pH, ou seja, durante o primeiro experimento de laboratório a alta mortalidade de libélulas registrada em ambiente de soja com 10 dias, teve associada a maior média de pH. No mais, a família Corduliidae teve a maior mortalidade em soja de 10 dias, e em menor grau em soja de 50 dias, em tratamento com maior pH.

Posto isso, segundo Bell (1971) pH entre intervalo de 1,0-4,0 causou a mortalidade de nove espécies de insetos aquáticos, sendo uma delas de libélula pertencente a família Gomphidae (*Ophiogomphus rupinsulensis*) em apenas 4 dias de exposição. Por sua vez, Punzo (1988) demonstrou que pH num intervalo 3,0-5,0 revelou ser estressante para a espécie *Anax junius* pertencente a família Aeshnidae a qual teve uma sobrevivência menor do que

10%, mas num intervalo de pH de 6,0-7,0 esta espécie teve 80% de sobrevivência. No entanto, o pH num intervalo de 5,5-6,0 parece ser um limiar, pois abaixo tende a induzir a danos a biota aquática (Doka *et al.*, 2003). Todavia, segundo Hamasaki *et al.*, (2011) que amostrou ambientes aquáticos com pH num intervalo de 5,7-9,8 evidenciou que o aumento do pH diminuiu o sucesso de sobrevivência das libélulas principalmente os representantes das famílias Aeshnidae, Corduliidae e Libellulidae. O presente estudo não registrou valores de pH abaixo de 5,0 e nem acima 8,4. Desta forma a amplitude de variação nos valores de pH nos experimentos de campo e laboratório foram pequenas, relativos aos valores que são aparentemente prejudiciais para libélulas. Concluindo, é improvável que o pH tenha papel relevante nas altas mortalidades de libélulas observadas em ambientes de soja durante o primeiro e o segundo experimentos de campo, bem como durante experimento de laboratório.

Por sua vez, a condutividade é a capacidade de uma água indicar a quantidade de sais existentes na coluna d'água, portanto, representa uma medida indireta da concentração de poluentes (CETESB, 2004). No entanto, substâncias nitrogenadas são responsáveis pelo incremento na condutividade (Santos, 2013). Em geral, ambientes com valores superiores a 100 $\mu\text{S}/\text{cm}$ indicam ambientes impactados, porém, não fornecem nenhuma indicação da quantidade relativa dos poluentes (CETESB, 2004). Desta forma, a condutividade pode influenciar o desempenho das libélulas, mas é improvável que tenha papel relevante na alta mortalidade observada durante o primeiro e o segundo experimento de campo. Uma vez que ambos os experimentos os padrões são contrastantes, ou seja, durante o primeiro experimento de campo a baixa mortalidade de libélulas registrada em ambiente de pasto teve associada a maior condutividade. Durante o segundo experimento de campo a baixa mortalidade de libélulas registrada em ambiente de pasto 1, teve associada a menor condutividade. Já durante o experimento de laboratório, a condutividade não teve qualquer efeito óbvio sobre o desempenho das libélulas. Portanto, condutividade não pode ter sido um fator de grande importância em causar os padrões de desempenho das larvas de libélulas observados em campo.

A turbidez de uma amostra de água refere-se à presença de sólidos em suspensão, tais como partículas inorgânicas (CETESB, 2004). Assim, a turbidez pode influenciar negativamente o desempenho das larvas de libélulas. Uma elevada turbidez compromete a eficiência respiratória dos invertebrados aquáticos (Lemly, 1982) e promove o acúmulo de sedimento na estrutura branquial, elevando o gasto energético para sua limpeza e prejudicando a osmorregulação (Bilotta & Brazier 2008). Uma elevada turbidez também pode afetar espécies de libélulas cuja larva depende de estímulos visuais para forragear (Corbet, 1999); *Ischnura heterosticta* (Coenagrionidae), por exemplo, teve a capacidade de forrageamento reduzido pela alta turbidez (Kefford *et al.*, 2010). No entanto, como para o pH os padrões de turbidez foram opostos no primeiro (menor turbidez em ambiente de soja) e segundo (maior turbidez em ambiente de soja) experimentos de campo. Portanto, turbidez não parece ter sido um fator de grande importância em causar os padrões de desempenho das larvas de libélulas observados em campo.

O oxigênio dissolvido (OD) representa o oxigênio proveniente da atmosfera que se dissolve na água (CETESB, 2004). O incremento de cargas orgânicas no sistema interfere no ciclo biodinâmico; na desoxigenação e no processo de eutrofização (Branco, 1969). Sob este aspecto águas poluídas terá baixa concentração de oxigênio dissolvido (conforme observado em ambiente de pastagem e plantio de soja), enquanto as águas limpas apresentam concentrações de oxigênio dissolvido elevada. Contudo em ambos os experimento de campo, bem como, de laboratório os valores de oxigênio dissolvido, foram sempre baixos em todas as formas do uso da terra, assim o oxigênio dissolvido não teve qualquer efeito, pois foi similar em todas as formas do uso da terra. Uma vez que, a condição de anóxia seleciona os organismos mais tolerantes, que não requerem águas limpas e bem oxigenadas (Medeiros & Rocha, 1997).

Evidentemente, outros parâmetros não medidos em campo poderiam ser responsáveis pela mortalidade total de larvas de libélulas em campos de soja – particularmente a contaminação dos ambientes aquáticos por agroquímicos. A preparação do solo na Fazenda Tanguro é feita no início de cada ciclo por meio da aplicação de calcário para correção do pH, micronutrientes como B, Cu, Mn, Zn e S, e fertilizantes inorgânicos NPK na dose aproximada de 300 kg/ha. Já ao longo do plantio há tipicamente três aplicações de herbicidas, três a quatro aplicações de fungicidas e três a quatro aplicações de inseticidas (Schiesari, 2010), com massa total das formulações de pesticidas aplicados de 13,7 toneladas por ciclo (Schiesari *et al.*, 2013). Os herbicidas aplicados durante o ciclo da soja incluem 19 ingredientes ativos com uma massa total de 105 toneladas aplicado na Fazenda; destes, nada menos que 62 toneladas correspondem ao glisofato, 20 ao 2,4-D e cinco ao dicloreto de paraquate. Os fungicidas incluem oito ingredientes ativos com uma massa total de 40 toneladas aplicado na Fazenda, sendo 16,5 de carbendazim, nove de tiofanatometil e quatro de azoxistrobina. Finalmente, os inseticidas incluem 13 ingredientes ativos com uma massa total de 20 toneladas aplicados na Fazenda, sendo cerca de nove toneladas de acefato, cinco de profenofós e quatro de cipermetrina. Desta forma, ao longo do ciclo da soja na Fazenda Tanguro, ocorre o uso de 165 toneladas de 40 tipos de ingredientes ativos diferentes (Schiesari & Grillitsch 2012). Diante deste quadro, e considerando que nossos ambientes de transplante em ambiente de soja foram pequenas poças dentro ou na margem de plantações, a contaminação de cercados por fertilizantes e pesticidas pode ser vista como certa. Em contrapartida, o emprego de agroquímicos nas pastagens é quase nulo embora espera-se que pastagens sejam significativamente enriquecidas em nutrientes quando comparadas a ambientes naturais por conta da defecação do gado.

Os fertilizantes poderiam ter efeitos diretos e indiretos sobre libélulas. Os efeitos indiretos mais prováveis ocorreriam se libélulas fossem beneficiadas pela promoção da produtividade primária (um efeito de baixo para cima ou 'bottom-up'). Porém, neste estudo todas as larvas de libélulas foram alimentadas com o mesmo número de girinos e com a mesma periodicidade. Por isso efeitos 'bottom up' não são possíveis. Além disso, os padrões de mortalidade de libélulas são opostos aos padrões de fertilização esperados.

Por outro lado, no ambiente aquático fertilizantes nitrogenados são dissociados em nitrato, nitrito e amônio os quais podem ser tóxicos (Camargo & Alonso 2006). A principal ação tóxica do nitrato sobre os organismos aquáticos é a alteração na capacidade de natação e de transportar oxigênio, podendo causar hipóxia e, finalmente, a morte (Cheng *et al.*, 2002). A presença do nitrito no meio aquático pode causar problemas hemolinfáticos, uma vez, que o mecanismo de ação do nitrito atua sobre o processo de transporte de oxigênio, transformando hemocianina em metahemocianina, a qual é incapaz de transferir oxigênio para os tecidos podendo causar hipóxia e, finalmente, a morte (Camargo & Alonso, 2006). A amônia, de modo geral, pode causar uma série de danos desde lesão ao epitélio branquial, alteração na osmorregulação, mudanças na hemolinfa, repressão do sistema imunitário e, que, por conseguinte aumenta a susceptibilidade a doenças bacterianas e parasitárias e, finalmente, a morte (Alonso & Camargo, 2004).

Posto isto, meu orientador mediu as concentrações de nitrato, nitrito e amônia como parte de uma amostragem maior na mesma área de estudo (Schiesari *et al.*, dados não publicados). Esta amostragem ocorreu de novembro/2011 a fevereiro/2012 e foram amostrados 76 corpos d'águas. Os valores de nitrato variaram de 0,042-0,331 mg/L em floresta, de 0,043-2,024 mg/L na pastagem do INCRA e de 0,092-17,613 mg/L na soja do Retiro Alvorada; que os de nitrito variaram de 0,002-0,104 mg/L em floresta, de 0,005-0,641 mg/L na pastagem do INCRA e de 0,007-0,790 mg/L na soja do Retiro Alvorada e os de amônia variaram de 0,022-0,609 mg/L em floresta, de 0,021-4,622 mg/L na pastagem do INCRA e de 0,008-5,356 mg/L na soja do Retiro Alvorada.

Entretanto, há poucas informações sobre a toxicidade do nitrogênio inorgânico sobre libélulas. Deste modo, a fim de expandir nossas análises para insetos aquáticos, Camargo *et al.*, (2005^a) expôs invertebrado aquático ao composto nitrato de sódio durante 5 dias, e o LC₅₀ foi de 2,8 NO₃⁻ N/L, bem como, o nitrato de amônia foi de 10 mg/L. As concentrações de nitrato medido em campo no ambiente de soja estiveram dentro dos valores de LC₅₀ apresentados pelos dados publicados, assim o nitrato pode ter contribuído para a alta mortalidade das ninfas de libélulas.

Kelso *et al.*, (1999) expuseram diversas larvas de invertebrados em diferentes concentrações de nitrito, durante 5 dias e encontraram uma ampla tolerância ao NO₂⁻ os valores de LC₅₀ variaram de 1,4-100 mg NO₂⁻ N/L⁻¹ respectivamente, bem como, Rouse *et al.*, (1999) e Ewell *et al.*, (1986) encontraram valores de LC₅₀ que variaram de 1,03-10,9 mg NO₂⁻ N/L⁻¹ respectivamente. As concentrações de nitrito medido em campo no ambiente de soja não estiveram acima dos valores de LC₅₀ reportados pela literatura, assim o nitrito pode não ter contribuído para a alta mortalidade das ninfas de libélulas.

Richardson (1997) expôs larvas de invertebrado aquático durante 5 dias ao composto amônia, e o LC₅₀ foi de 0,75 mg NH₃.I⁻¹, bem como, Mummert *et al.*, (2003) encontraram valores de LC₅₀ que variaram de 0,11-0,26 mg/L NH₃ -N. As concentrações de amônia medida em campo no ambiente de soja e pastagem (INCRA) estiveram acima dos valores de LC₅₀ apresentados pelos dados publicados, assim a amônia pode ter contribuído para a alta

mortalidade das ninfas de libélulas. Por este motivo tais efeitos devem ser considerados relevantes de estarem atuando nos padrões de desempenho de libélulas observados em campo e laboratório.

Pesticidas também têm grande potencial de influenciar o desempenho das libélulas, uma vez que, diversos estudos têm demonstrado que larvas de libélulas são vulneráveis aos pesticidas (Dewey 1986; Hardersen & Wratten, 1998; Woin 1998; Schroer *et al.*, 2004; Relyea *et al.*, 2005; Relyea & Hoverman 2008; Cothran *et al.*, 2011; Van Dijk *et al.*, 2013; Jinguji 2013).

Durante os experimentos de campo, houve grande correspondência entre o momento da aplicação dos pesticidas, e a mortalidade das larvas de libélulas. Ou seja, durante o primeiro experimento de campo no ambiente de soja 50 dias, registramos a sobrevivência das libélulas (cerca de 70%), mas no mesmo dia no período da tarde este ambiente passou por aplicação de fungicida, inseticida, herbicida e adubo foliar (conforme informado pelo técnico de aplicação da fazenda). No dia seguinte retornamos para verificar a sobrevivência, e pudemos observar que havia somente três dos 50 indivíduos transplantados, e dois dias após a aplicação as larvas de libélulas tinham sido erradicadas. O ambiente de soja 10 dias também passou por aplicação, de herbicida e inseticida (conforme informado pelo técnico de aplicação da fazenda), mas o efeito, não foi tão pronunciado como no ambiente de soja 50 dias, ou seja, após dois dias da aplicação havia 30% dos indivíduos transplantados. Porém no final do experimento havia um único indivíduo. Durante o segundo experimento de campo o ambiente de soja 55 dias, passou por duas aplicações a primeira foi de inseticida e adubo foliar, a segunda foi de fungicida, herbicida e inseticida (conforme informado pelo técnico de aplicação da fazenda), e no quinto dia do início do experimento todas as larvas de libélulas tinham sido erradicadas. Portanto tais padrões de mortalidade podem ser atribuídos aos pesticidas aplicados durante os experimentos de campo, devido à relação entre aplicação e erradicação das larvas de libélulas.

Tal equivalência também foi observada durante o experimento de laboratório. Ou seja, no momento da coleta da água e sedimento da soja 10 dias estava ocorrendo aplicação de herbicida e inseticida, enquanto na soja 50 dias não estava tendo aplicação. O que ocasionou o padrão oposto ao detectado no experimento de campo. No segundo experimento de laboratório também houve aplicação (fertilizante e inseticida) durante a coleta da água e sedimento da soja 55 dias. Deste modo, há uma enorme coincidência temporal entre as aplicações e as erradicações das larvas de libélulas durante os experimentos de campo e de laboratório. Além do mais, na área de estudo sabemos que ocorre aplicação de 40 tipos de ingredientes ativos, e que no decorrer dos experimentos foram aplicados fertilizantes, herbicidas, fungicidas e inseticidas, mas os únicos ingredientes ativos que registramos foram clethodim, imidacloprido e bifentrina.

Dos ingredientes ativos sabidamente aplicados na área de estudo no momento do experimento, sabe-se que imidacloprido é tóxico para larvas de libélulas; não encontramos dados para clethodim e bifentrina referente à toxicidade para libélulas, mas encontramos para outros invertebrados aquáticos. Jinguji *et al.*, (2013) expuseram larvas de libélulas da espécie *Sympetum infuscatum* (Libellulidae) ao efeito do inseticida imidacloprido, em concentração de

1,3 µg/L durante 31 dias em microcosmos. A exposição ao inseticida imidacloprido extirpou 85% das libélulas em apenas nove dias de exposição. De modo, a expandir nossa análise dos efeitos dos inseticidas para insetos aquáticos, Carrillo (2014), expôs três espécies de invertebrados aquáticos ao efeito do inseticida bifentrina, em 2mL, durante 48 horas em placa de petri. A exposição ao inseticida bifentrina erradicou uma das três espécies, enquanto para as outras duas espécies a mortalidade variou de 24-25% respectivamente.

Já dos outros ingredientes ativos sabidamente aplicados na área de estudo, sabemos que os herbicidas mais amplamente utilizados são glifosato, 2,4 D e paraquat dichloride. Relyea (2005) manipulou glifosato e 2,4 D (25,2% e 44,5% de ingrediente ativo respectivamente) em concentrações de 3,8 mg/L e 0,12 mg/L respectivamente, onde expôs larvas de libélulas *Anax junius* (Aeshnidae). A exposição ao herbicida glifosato e 2,4 D reduziu em 22% a sobrevivência das libélulas. Way *et al.*, (1971) não relataram efeito direto do herbicida paraquat dichloride sobre as larvas de libélulas, mas observaram depleção de oxigênio dissolvido seguido da mortalidade das plantas aquáticas é consequentemente a mortalidade das larvas de libélulas. De modo, a expandir nossa análise dos efeitos dos herbicidas para insetos aquáticos, Dewey (1986) demonstrou que a comunidade de insetos bentônicos foi afetada negativamente pela exposição ao herbicida atrazina em lagoas experimentais. A concentração manipulada de atrazina durante o experimento foi de 20 µg/L. E seu efeito foi diferenciado entre os insetos predadores e não predador, assim, sugere-se que os efeitos do herbicida (atrazina) na comunidade de insetos nas lagoas experimentais pode ser primeiramente indireto, através da redução dos recursos para os insetos não predadores e tais efeitos se estendem aos insetos predadores. Relyea *et al.*, (2005) expuseram larvas de inseto aquático ao herbicida roundup (13% de ingrediente ativo POEA) em concentração de 1,3 mg/L, tal exposição eliminou 60% dos indivíduos após 23 dias.

Já entre os ingredientes ativos sabidamente aplicados na área de estudo, sabemos que os fungicidas mais amplamente utilizados são tiophanatemethyl e azoxistrobina. Todavia, há poucas informações sobre a toxicidade dos fungicidas sabidamente aplicados na área de estudo sob as larvas de libélulas. Deste modo, a fim de expandir nossas análises sobre os efeitos dos fungicidas, Cuppen *et al.*, (2000) estudaram o efeito do fungicida carbendazim em diferentes concentrações (0, 3,3, 33, 100, 330, 1000 µg/L) sob uma comunidade de macroinvertebrados. Observaram que a comunidade de macroinvertebrados foi seriamente afetada pela aplicação de carbendazim nas concentrações mais elevadas (100, 330, 1000 µg/L). Zafar *et al.*, (2012) expuseram uma comunidade de invertebrados sob quatro diferentes exposições ao fungicida azoxistrobina; (1) um tratamento de aplicação contínua de 10µg/L durante 42 dias (2), aplicação contínua de 33µg/L durante 42 dias (3), uma única aplicação de 33µg/L e (4) aplicação de 16µg/L a cada 10 dias. No final do experimento, observaram que os efeitos sobre a comunidade foram semelhantes para o tratamento pulsado, embora a magnitude do efeito inicial fosse maior no tratamento com uma única aplicação. Assim a concentração de azoxistrobina necessária para causar efeitos adversos neste estudo foi de 10µg/L. Wijngaarden *et al.*, (2014) examinaram os efeitos do fungicida azoxistrobina sobre os

invertebrados aquáticos expostos a concentrações (0, 0,33, 1, 3,3, 10 e 33 µg/L) em mesocosmos de 1270 L durante 42 dias. Ao final do experimento observaram que o NOEC da comunidade de invertebrados aquáticos variou de 1-10 µg/L.

Por sua vez, os ingredientes ativos sabidamente aplicados na área de estudo, sabemos que os inseticidas mais amplamente utilizados são acefato, profenofos e cipermetrina. Todavia, há poucas informações sobre a toxicidade dos inseticidas sabidamente aplicados na área de estudo sob as larvas de libélulas. Deste modo, a fim de expandir nossas análises sobre o efeito dos inseticidas, Woin (1998) expôs larvas de libélulas ao efeito do inseticida fenvalerate (100 g/L⁻¹ de ingrediente ativo), há quatro concentrações (0,02, 0,2, 2, 20µg/L) em mesocosmos subdivididos. Deste modo, o inseticida fenvalerate na concentração de (20 µg/L) erradicou todas as larvas das libélulas pertencentes às famílias (Aeshnidae e Libellulidae), mediante a exposição ao inseticida. Kedwards *et al.*, (1999) estudaram os macroinvertebrados bentônicos numa lagoa próxima a área agrícola, onde ocorre aplicação do inseticida cipermetrina. Assim descobriram que um número insignificante de libélula conseguiu completar seu ciclo larval. Todavia, alguns invertebrados aquáticos conseguiram se recuperar rapidamente após a aplicação. Relyea *et al.*, (2005) expôs larvas de invertebrados aquáticos ao inseticida malation (50,6% de ingrediente ativo) em concentração de 0,315 mg/L, após 23 dias 90% das larvas foram erradicadas.

Loch (2005) estudou a eficácia do inseticida cipermetrina para controlar pragas das lavouras e outros invertebrados não alvo. Deste modo, descobriu que uma única aplicação de cipermetrina (24g a.i./ha) erradicou as pragas, bem como, ocasionou a mortalidade dos outros invertebrados não alvo. Mas observou que logo após a aplicação houve a recuperação por parte de alguns invertebrados não alvo, principalmente aqueles que ocupam habitats protegidos. Todavia, houve uma recuperação gradativa ao longo de 12 meses, presumivelmente através da imigração de fora da plantação. Relyea & Hoverman (2008) expôs larvas de libélulas (*Anax junius*) ao inseticida malation (50% de ingrediente ativo) em concentrações nominais (0,25, 0,50, 1,00mg/L⁻¹) em mesocosmos de 1000 litros, após 21 dias de exposição nas concentrações (0,50-1,00mg/L⁻¹) eliminou 95% das larvas de libélulas. Cothran *et al.*, (2011) simularam em mesocosmos uma comunidade de lagoa, em que expuseram os invertebrados aquáticos ao efeito do inseticida malation (50% de ingrediente ativos) em diferentes concentrações (0, 100, 500 µg/L) durante 21 dias, em mesocosmos subdividido com capacidade de 1300 litros de água. A exposição ao inseticida malation ocasionou efeito letal nas larvas de libélula *Anax junius* (Aeshnidae) na concentração elevada (500 µg/L).

Portanto, elencando todos os fatores físico-químicos os únicos elementos que permanecem como plausíveis de estarem atuando no desempenho das larvas de libélulas é o manejo da cultura da soja que implica no uso constante dos agrotóxicos. Uma vez que, em ambos os experimentos de campo a mortalidade das larvas de libélulas ocorreram logo após as aplicações dos pesticidas nas plantações, bem como no experimento de laboratório a mortalidade foi quase que imediata quando expostos a água e sedimento do ambiente de soja.

Por estes motivos tais efeitos devem ser considerados relevantes e plausíveis de estar atuando nos padrões de desempenho de libélulas observados em campo e laboratório. Sugerimos que estudos futuros investiguem quais são os princípios ativos e com que frequência são aplicados ao longo do ciclo da soja, a fim de verificar quais são os mais letais para as larvas de libélulas.

Padrões observados em campo e laboratório: Girinos

Em ambos os experimentos de campo houve uma influência significativa do uso e manejo da terra sobre o desempenho de girinos de *Physalaemus cuvieri*. Porém, as respostas de girinos foram em geral menos fortes e menos consistentes que aquelas observadas para libélulas.

No primeiro experimento de campo girinos de *Physalaemus cuvieri* transplantados para ambientes de soja tiveram os melhores e os piores indicadores de desempenho. Enquanto que girinos transplantados para ambiente de soja de 10 dias tiveram as maiores sobrevivência, massa final e estágio final, girinos transplantados para ambiente de soja de 50 dias tiveram 100% de mortalidade. Já no segundo experimento, mais da metade dos girinos transplantados para ambiente de soja de 55 dias sobreviveram. Não apenas a sobrevivência foi estatisticamente similar àquela observada em outros ambientes, mas girinos transplantados para soja cresceram tanto quanto girinos transplantados para a pastagem do INCRA, e se desenvolveram mais rápido que girinos transplantados para o cerrado. Conforme observado para libélulas, o desempenho de *Physalaemus cuvieri* em laboratório foi muito similar ao observado no segundo experimento de campo, mas não no primeiro. Aos menos em princípio, os resultados apresentados por *Physalaemus cuvieri* aparentam ser generalizáveis para outras espécies de anfíbios, uma vez que *P. cuvieri* teve desempenho qualitativamente similar a *Dendropsophus melanargyreus* no primeiro experimento de laboratório e a *Leptodactylus fuscus* no segundo experimento de laboratório.

De forma geral, portanto, estes resultados experimentais têm ampla coincidência com os padrões de distribuição das larvas de girinos em campo (Schiesari, obs. pess.), bem como em ambiente de soja para girinos da espécie *Physalaemus cuvieri* em novembro de 2011 (soja de 20 dias; sete poças amostradas) e fevereiro de 2012 (soja de 75 dias; 16 poças amostradas). Noventa e sete por cento das poças de pastagem e 79% das poças de soja continham girinos em densidades medianas de 14,86 e 7,75 indivíduos por metro quadrado, respectivamente (amplitude 0,75-798,48 inds/m² em pastagem e 0,75-185,60 inds/m² em soja). Conclui-se então, tanto por meio da amostragem como dos experimentos de campo e de laboratório que, ao menos em parte do ciclo de plantio, o ambiente de soja permite o desenvolvimento de larvas de *P. cuvieri*. Por sua vez, é possível que o desempenho individual sempre positivo de girinos em ambientes de pastagem (ao contrário de ambientes de soja) tenha relação com a maior frequência e densidade de suas populações neste ambiente.

Por causa do maior número de indicadores de desempenho e da maior diversidade de respostas, no caso dos girinos a interpretação dos fatores ambientais que influenciam o

desempenho individual é mais complexa. Assumindo por simplicidade que existe um fator que influencia o desempenho de girinos de forma monotônica, no caso do primeiro experimento de campo este fator teria que ter valores intermediários na pastagem (onde indicadores intermediários de desempenho são observados) e extremos nas plantações de soja com 10 e 50 dias (onde indicadores extremos de desempenho são observados). Nenhum fator medido apresenta este padrão: pH e turbidez foram significativamente influenciados pelo uso da terra, mas os valores observados em pastagens foram mais altos do que os valores observados em plantações. Os padrões observados no primeiro experimento de laboratório são mais complicados, mas nenhum dos fatores abióticos que variaram com o uso da terra – pH, condutividade e OD - parece variar em paralelo com os padrões de crescimento, desenvolvimento ou sobrevivência de *Physalaemus cuvieri* ou *Dendropsophus melanargyreus*.

Já no segundo experimento de campo, um fator importante para o desenvolvimento de girinos deveria contrapor cerrado dos demais tratamentos (onde o desenvolvimento foi mais rápido), e um fator importante para o crescimento deveria contrapor o ambiente de pasto de Água Boa do ambiente de soja (onde o crescimento foi menor). Temperatura, condutividade e turbidez foram significativamente influenciados pelo uso da terra, mas nenhum destes fatores seguiu o padrão dos indicadores de desempenho. O mesmo se pode dizer para o segundo experimento de laboratório, onde foram significativamente influenciados pela manipulação experimental o pH, condutividade e OD. Aparentemente, portanto, temperatura, pH, oxigênio dissolvido, condutividade e turbidez não tiveram grande importância em mediar o desempenho de girinos. Outros argumentos também reforçam a percepção de que estes parâmetros básicos de qualidade da água não foram importantes nos padrões de desempenho observados.

De todos os parâmetros físicos do ambiente aquático, a temperatura é talvez a mais dramática em seus efeitos sobre a fisiologia, ecologia e comportamento. Pois a temperatura da água pode influenciar na diferenciação do tamanho do corpo dos girinos, duração do período larval, que por sua vez estão diretamente relacionadas à sobrevivência e sucesso reprodutivo (Ultsch *et al.*, 1999). Todavia os girinos possuem uma ampla tolerância à variação termal do ambiente, por exemplo; girinos da espécie *Rana castebiana* pode encontrar temperaturas que variam de 0°C a mais de 35°C sendo que a temperatura pode aumentar em mais de 20°C em menos de 6 horas (Ultsch *et al.*, 1999). De qualquer maneira, no nosso caso a temperatura não parece ser diretamente importante porque no primeiro experimento de campo as águas com a menor temperatura foram associadas ao melhor (soja de 10 dias; tratamento com a maior sobrevivência, massa e estágio final) quanto ao pior desempenho (soja de 50 dias: 100% de mortalidade), enquanto no segundo experimento de campo as águas com a maior temperatura foram associadas tanto às maiores quanto às menores massas e estágios de desenvolvimento.

Os valores médios de pH observados nos quatro experimentos variaram entre 5 e 8, aproximadamente. Atualmente existe um consenso que os girinos são mais tolerante a baixo pH do ambiente do que os embriões, mas menos do que os adultos. Deste modo, os efeitos tóxicos principais de pH baixo é a interrupção do equilíbrio entre Na^+ e Cl^- , tal interrupção ocorre próximo do pH 4 (Ultsch *et al.*, 1999). Neste sentido, Barth & Wilson (2010) mediu a taxa

de eclosão, sobrevivência e massa corporal dos girinos da espécie *Litoria peronii* mediante a ampla exposição de pH 3, 3,5, 4, 4,5, 5, 5,5 6, 6,7. A taxa de eclosão foi afetada significativamente pelo pH, ou seja, a taxa de eclosão diminuiu quando os embriões foram expostos ao pH 3, 3,5 e 4, enquanto (94%) dos embriões eclodiram quando expostos ao pH 4,5-6,5. Após 12 dias de desenvolvimento dos girinos, houve 100% de mortalidade das larvas expostas ao pH 3, 3,5 e 4, enquanto a sobrevivência entre o pH 4,5-6 variaram entre 65% e 90%. O ganho de massa também foi afetado significativamente pelo baixo pH (3-5,5), enquanto entre pH 6-6,7 houve um incremento no ganho da massa dos girinos. Deste modo, conclui-se que pH<5 afeta negativamente o desenvolvimento dos girinos enquanto pH>5-6,7 afeta positivamente o desenvolvimento dos girinos. Neste contexto, Pehek, (1995) expôs girinos da espécie *Hyla andersonii* ao efeito do pH entre 5,9 e 8,4, onde mediu a sobrevivência, massa e crescimento. No final do experimento observou que não houve influencia significativa do pH sobre as variáveis de respostas. Por fim, o pH entre intervalo de 5,0-7,0 não evidenciou efeito forte na sobrevivência dos girinos da espécie *Rana cascadae*, ou seja, a sobrevivência foi de 94% e 99% respectivamente (Hatch & Blaustein 2000). De qualquer maneira, no nosso caso o pH não parece ser diretamente importante, uma vez que, os valores médios de pH observados estão fora dos valores que são aparentemente prejudiciais para os girinos.

Já valores de oxigênio dissolvido sempre foram baixos (< 1 mg/L), mas a maior parte dos girinos possuem estruturas especializadas para a obtenção do oxigênio (brânquias, pele e pulmões) e, portanto, podem respirar oxigênio dissolvido na água ou mesmo oxigênio atmosférico, uma vez que tais estrutura são funcionais desde o início do desenvolvimento (McDiarmid & Altig 1999). Assim sendo, no nosso caso o oxigênio dissolvido não parece ser diretamente importante porque no primeiro experimento de campo aparentemente a água com a menor taxa de oxigênio dissolvido foi associados ao melhor (soja de 10 dias; tratamento com a maior sobrevivência, massa e estágio final) quanto aparentemente a maior taxa de oxigênio foi associada ao pior desempenho (soja de 50 dias: 100% de mortalidade), enquanto no segundo experimento de campo as águas apresentaram equivalência na taxa de oxigênio dissolvido, mas apresentaram desempenhos distintos.

A elevada condutividade observada nos ambientes manipulados reflete principalmente o uso da terra, ou seja, os produtos de excreção (pastagens) quanto da adição de fertilizantes (plantação) (Schmutzer *et al.*, 2008; Santos, 2013). Porém, os valores médios de condutividade observados nos quatro experimentos variaram entre 10 e 300 uS/cm. De acordo, com Smith *et al.*, (2006) os valores necessários para limitar a ocorrência dos girinos e cerca de 3000 uS/cm, mas em grande parte para excluir os girinos e cerca de 6000 uS/cm. Deste modo, no nosso caso a condutividade não parece ser diretamente importante, uma vez que os valores médios de condutividade estão fora dos valores que são aparentemente prejudiciais para os girinos.

Por sua vez, o efeito da turbidez sobre os girinos não é claro (Schmutzer *et al.*, 2008). Todavia, Wood & Richardson (2009) investigaram o efeito da turbidez sobre a sobrevivência, crescimento e o conteúdo intestinal dos girinos da espécie *Bufo boreas* em mesocosmos. Para tanto, expuseram os girinos a uma faixa média de turbidez de 0-70 (NTU), deste modo, os

girinos nas altas condições de turbidez manifestaram taxas reduzidas na sobrevivência, crescimento, bem como, a análise do conteúdo intestinal revelou que os girinos ingeriram grande quantidade de sedimento que por sua vez alterou a qualidade e a quantidade do recurso ingerido (Horne & Dunson, 1995; Schmutzer *et al.*, 2008). Wood & Richardson (2009) sugerem que as causas subjacentes à queda da sobrevivência e no crescimento são variadas, mas parecem ser fortemente associada com o impacto do sedimento sobre o recurso alimentar disponível. Uma vez que, a turbidez da água afeta significativamente a produção do perifíton (Wood & Richardson, 2009), um recurso chave para os girinos (Rossa-Feres *et al.*, 2004), pois a elevada turbidez promove o sombreamento contínuo das algas, aumentando os níveis da clorofila-a, uma vez que há fotoaclimatação, ou seja, aumento da densidade de clorofila no interior das algas (Thomas *et al.*, 2006). Segundo, Wood & Richardson (2009) a limitação do recurso pode aumentar a competição é influenciar na sobrevivência e crescimento dos girinos. Neste contexto, em nosso estudo, notamos uma associação entre os ambientes aparentemente mais turvos com as maiores concentrações de clorofila (pastagem INCRA; soja 55 dias), tal associação já foi documentada por outros estudos realizados em paisagem agrícola (Mills & Semlistsch 2004; Relyea & Diecks 2008; Schutzer *et al.*, 2008; Groner & Relyea 2011).

De qualquer maneira, no nosso caso turbidez não parece ser diretamente importante porque no primeiro experimento de campo as águas menos turvas foram associadas tanto ao melhor (soja de 10 dias; tratamento com a maior sobrevivência, massa e estágio final) quanto ao pior desempenho (soja de 50 dias: 100% de mortalidade), enquanto que no segundo experimento de campo as águas menos turvas foram associadas tanto às maiores quanto às menores massas e estágios de desenvolvimento.

Ao contrário dos parâmetros básicos de qualidade de água como temperatura, pH, oxigênio dissolvido, condutividade e turbidez, agroquímicos como fertilizantes e pesticidas tem grande potencial em influenciar, direta ou indiretamente, o desempenho de girinos.

No caso dos fertilizantes tanto efeitos indiretos como diretos poderiam ser esperados. Isto acontece porque, ao contrário das libélulas, girinos não foram alimentados no decorrer dos experimentos, mas se alimentaram dos recursos presentes dentro dos cercados – presumivelmente de detrito e algas do perifíton e fitoplâncton. Amostragens conduzidas por (Schiesari *et al.*, dados não publicados) em campo mediu nitrato, nitrito e amônia e evidenciou um gradiente de floresta>pasto>plantação em relação ao aumento na disponibilidade de nitrato, nitrito e amônia. Gradiente este também foi demonstrado por estudo que manipulou NP simulando condições de cerrado e plantação de soja, onde o aumento na concentração de nitrogênio (plantação de soja), evidenciou um aumento na concentração de clorofila (Santos, 2013). Todavia, durante o primeiro experimento de campo não houve um aumento na concentração de clorofila em paralelo com a concentração de nitrato, mas durante o segundo experimento houve o aumento na concentração de clorofila em paralelo com a concentração de nitrato em campo conforme indicado por Santos (2013). Neste sentido, seria esperada uma relação positiva entre biomassa de fitoplâncton (indicada pela concentração de clorofila a) e ganho de massa de girinos nos experimentos de campo. Afinal, a maioria dos girinos são

herbívoros (Alford, 1999) consumindo uma ampla variedade de taxa de algas (Hoff *et al.*, 1999). Mas segundo Santos (2013) os girinos da espécie *Physalaemus cuvieri* não alteraram a concentração de clorofila-a, ou seja, não houve queda na biomassa de algas em função direta da alimentação por parte dos girinos de *P. cuvieri*. Posto isso, Rossa-Feres *et al.*, (2004) notou que cerca de 60% do conteúdo intestinal dos girinos de *Physalaemus cuvieri* era de algas perifíticas enquanto somente 30% era de algas planctônicas. Portanto, não evidenciamos o ganho de massa dos girinos em relação ao aumento da concentração de clorofila-a, assim outros fatores não medidos podem estar influenciando no desempenho dos girinos em campo.

Como para libélulas, efeitos negativos diretos do nitrogênio inorgânico poderiam ser esperados para larvas de anfíbios. Uma vez que, diversos autores demonstraram que nitrato, nitrito e amônia podem ser tóxicos para as larvas de anfíbios (Baker & Waights, 1994; Hecnar, 1995; Howe *et al.*, 1998; Marco *et al.*, 1999; Griffis-Kyle, 2005; Camargo & Alonso, 2006; Griffis-Kyle 2007; Ilha & Schiesari, 2014; Bellezi *et al.*, 2015). Bem como, os compostos nitrogenados podem originar efeitos na cascata trófica, acarretando mudanças na composição da biomassa das algas e dos invertebrados (Bourassa & Cattaneo, 2000; Chase, 2003; Santos, 2013) e ambos são conhecidos por influenciar as larvas dos anfíbios (Alford, 1999; Santos, 2013).

De forma, em geral, a principal ação tóxica do nitrato e nitrito sobre os organismos aquáticos é a alteração na capacidade de transportar oxigênio, podendo causar a morte (Cheng *et al.*, 2002; Camargo & Alonso, 2006). A amônia, de modo geral, pode causar uma série de danos que acarretam a morte dos organismos (Alonso & Camargo, 2004). Todavia, segundo Bellize *et al.*, (2015) nitrito de sódio tende a ser mais tóxico do que íon de nitrato de amônia e nitrato de sódio. Posto isto, meu orientador mediu as concentrações de nitrato, nitrito e amônia como parte de uma amostragem maior na mesma área de estudo (Schiesari *et al.* dados não publicados). Esta amostragem ocorreu de novembro/2011 a fevereiro/2012 e foram amostrados 76 corpos d'águas. Os valores de nitrato variaram de 0,042-0,331 mg/L em floresta, de 0,043-2,024 mg/L na pastagem do INCRA e de 0,092-17,613 mg/L na soja do Retiro Alvorada; que os de nitrito variaram de 0,002-0,104 mg/L em floresta, de 0,005-0,641 mg/L na pastagem do INCRA e de 0,007-0,790 mg/L na soja do Retiro Alvorada e os de amônia variaram de 0,022-0,609 mg/L em floresta, de 0,021-4,622 mg/L na pastagem do INCRA e de 0,008-5,356 mg/L na soja do Retiro Alvorada.

Deste modo, segundo Bishop *et al.*, (1999) a elevada concentração, de nitrogênio (4,2 mg/L) foi condizente com a redução na biodiversidade e na abundância das larvas dos anfíbios em paisagem agrícola. Marco *et al.*, (1999) expuseram as larvas recém-eclodidas das espécies *Rana pretiosa* e *Ambystoma gracile* ao efeito do nitrato de potássio em concentração de (0,78 – 25,0 mg NO₃-N/L) durante 15 dias. Tal exposição reduziu a atividade de locomoção e forrageamento, e por fim os girinos morreram. Assim, o LC₅₀ para espécie *R. pretiosa* foi de 16,45 mg NO₃-N/L e de 23,39 mg NO₃-N/L para *A. gracilis*. Johansson *et al.*, (2001) realizaram comparações de tolerância ao nitrato entre diferentes populações da espécie *Rana temporaria*, e assim compreenderam que a concentração de nitrato de 5,0 mg NO₃-N/L pode reduzir a taxa

de crescimento dos girinos e o tamanho dos metamórficos. Ilha & Schiesari (2014), expuseram girinos da espécie *Hypsiboas faber* a uma série de concentrações de nitrato de sódio (0, 2,5 e 10 mg.L⁻¹), durante 21 dias, em temperatura constante de 22°C e pH=7. Deste modo, perceberam que mesmo na maior concentração de nitrato de sódio, não houve nenhum efeito sobre o crescimento e sobrevivência da espécie *H.faber*. Bellize *et al.*, (2015) expuseram ovos, embriões e larvas da espécie de anfíbio *Hypsiboas faber* a uma série de concentrações de nitrato de amônia (0, 10, 27, 74, 202, 550 e 1500 mg N/L) e nitrato de sódio em concentrações (0, 843, 1211, 1740 e 2500 mg N/L). Assim, perceberam que independente do estágio de desenvolvimento, nitrato de amônia e nitrato de sódio apresentaram níveis de toxicidade diferenciada, ou seja, durante os estágios 13 e 25 (embrião-larva) foram os mais sensíveis ao nitrato de amônia do que estágios intermediários 20-25 (larva). Já a sensibilidade de *H.faber* ao nitrato de sódio diminuiu de forma assintótica com os estágios de desenvolvimento e de massa corporal. Assim o estágio 13 (embrião) foi à fase mais sensível, todas as outras fases pareceu ser igualmente robustas a exposição de nitrato de sódio. Portanto, as concentrações de nitrato medido em campo no ambiente de soja estiveram dentro dos valores de LC₅₀ apresentados pelos dados publicados, assim o nitrato pode ter contribuído para a mortalidade dos girinos.

Marco *et al.*, (1999) expuseram as larvas das espécies (*Rana pretiosa*, *Bufo boreas*, *Hyla regilla*, *Ambystoma gracilis*) ao efeito do nitrito em diferentes concentrações e demonstraram que todas as espécies têm alta sensibilidade ao nitrito, ou seja, *R. pretiosa* (LC₅₀ 0,57mg/l); *B. boreas* (LC₅₀ 1,75mg/l); *H. regilla* (LC₅₀ 1,23 mg/l) e *A. gracilis* (LC₅₀ 1,01 mg/l). Griffis-Kyle (2005) expôs embriões e larvas das espécies *Rana sylvatica* e *Ambystoma tigrinum*, a uma série de concentrações de nitrito (0, 0,3, 0,6, 1,2, 2,1, 4,6, e 6,1 mg/L). Observou que as concentrações de 3,4mg/L e 4,6mg/L de nitrito ocasionaram quedas significativas na taxa de eclosão e na mortalidade durante a fase larval respectivamente. Ilha & Schiesari (2014), expuseram larvas da espécie *Hypsiboas faber* a uma série de concentrações de nitrito de sódio (0, 2,5 e 10 mg.L⁻¹), durante 21 dias. Deste modo, perceberam que na maior concentração (10 mg.L⁻¹) de nitrito de sódio ocasionou uma diminuição no crescimento e sobrevivência (79%) após 14 dias de exposição em relação aos controles. Porém, essas concentrações de nitrito de sódio são incomuns, mas geralmente são encontradas em condições anaeróbicas, ou seja, ambientes altamente poluídos. Bellize *et al.*, (2015) expuseram ovos, embriões e larvas da espécie *Hypsiboas faber* a uma série de concentrações de nitrito de sódio (0, 132, 205, 320 e 500 mg N/L) em (LC₁₀, LC₅₀ e LC₉₀), e perceberam que a sensibilidade de *Hypsiboas faber* ao nitrito de sódio foi mais elevada em estágio (25-larva) e menos (13-embrião), no mais, independente do estágio o nitrito de sódio foi mais tóxico do que íon de nitrato de amônia e nitrato de sódio. Portanto, as concentrações de nitrito medido em campo no ambiente de soja não estiveram acima dos valores de LC₅₀ reportados pela literatura, assim o nitrito pode não ter contribuído para a mortalidade dos girinos.

Diamond *et al.*, (1993) geraram dados de toxicidade da amônia para várias espécies de peixes, invertebrados e girinos das espécies *Rana pipiens* e *Hyla crucifer*. Os girinos das duas espécies de anfíbios foram mais sensíveis do que as outras espécies expostas à água fria

(12°C) com (LC₅₀ de 0,42 e 0,46 mg NH₃/L) respectivamente. O aumento da temperatura para (20°C) aumentou o LC₅₀ para 1,9 mg NH₃/L para *R.pipiens*. Jofre & Karasov (1999) expuseram embriões das espécies *Rana clamitans* e *Rana pipiens*, ao efeito da NH₃ em concentração de 0,6 e 1,5 mg NH₃/L. E demonstraram que tais concentrações foram suficientes para originarem níveis significativos de mortalidade e de deformidade em ambas as espécies. Schuytema & Nebeker (1999), expuseram os girinos das espécies *Xenopus laevis* e *Pseudacris regilla*, ao efeito da NH₃ em diferentes concentrações e temperatura (22-24°C). E ambas as espécies apresentaram diferentes níveis de toxicidade para amônia, ou seja, 0,36 mg NH₃/L (LC₅₀, *P.regilla*) e 1,27 mg NH₃/L (LC₅₀, *X.laevis*). Segundo Bishop *et al.*, (1999) a elevada concentração, de amônia (0,2 mg/L) foi condizente com a redução na biodiversidade e na abundância dos anfíbios em paisagem agrícola. Ilha & Schiesari (2014) expuseram as larvas da espécie *Hypsiboas faber* a uma série de concentrações de sulfato de amônia (0, 2,5 e 10 mg.L⁻¹), durante 21 dias. E perceberam que na maior concentração (10 mg.L⁻¹) de sulfato de amônia, originou uma redução nas taxas de atividade e sobrevivência (92%) em relação aos controles. Segundo os mesmos autores, a espécie *H. faber*, embora seja vulnerável aos compostos nitrogenados, é menos sensível a nitrato, nitrito, e amônia do que varias outras espécies de anfíbios na fase larval, tais como, *H. pardalis*, *Physalaemus cuvieri*, *P. olfersii* e *Rhinella ornata*, em doses agudas de nitrato de sódio, nitrito de sódio e sulfato de amônia (Ilha, 2010). Bellize *et al.*, (2015) expuseram ovos, embriões e girinos da espécie *Hypsiboas faber* a uma série de concentrações de sulfato de amônia (0, 300, 482, 776 e 1250) em (LC₁₀, LC₅₀ e LC₉₀), e perceberam que a sensibilidade de *Hypsiboas faber* ao sulfato de amônia foi maior para estágio (13-embrião) e que foi diminuindo entre os estágios (20-25 larva), no mais, independente do estágio o sulfato de amônia foi mais tóxico do que íon de nitrato de amônia e nitrato de sódio. Deste modo, as concentrações de amônia medido em campo no ambiente de soja e da pastagem (INCRA) estiveram dentro dos valores de LC₅₀ apresentados pelos dados publicados, assim a amônia pode ter contribuído para a mortalidade dos girinos.

Por sua vez, os pesticidas podem ocasionar efeitos negativos e positivos sobre o desempenho dos anfíbios, e tais efeitos podem variar de acordo com as concentrações e com a intensidade das aplicações (Relyea & Dicks, 2008; Jones *et al.*, 2010; Vasconcelos, 2014). Portanto, os pesticidas têm potencial de afetar as populações de anfíbios de diferentes maneiras, ou seja, podem causar a mortalidade, ou beneficiar, ou mesmo inibir o desenvolvimento de todos os indivíduos (Peltzer *et al.*,2008; Relyea & Hoverman 2008; Agostini *et al.*, 2010). Tais efeitos foram observados nos diferentes momentos do ciclo de plantio. Ou seja, em soja 50 dias houve 100% de mortalidade, em soja 10 dias os girinos obtiveram melhor desempenho em relação às outras formas do uso da terra, e em soja 55 dias os girinos demonstraram uma leve inibição no desenvolvimento. Bem como, os experimentos de laboratório, corroboram com os padrões de desempenho dos girinos observados em campo. Novamente os dados sugerem a existência de efeitos favoráveis e desfavoráveis ao desempenho dos girinos ao longo dos diferentes momentos do ciclo da soja.

Na área de estudo sabemos que ocorre aplicação de 40 tipos de ingredientes ativos e, que os herbicidas mais amplamente utilizados são glifosato, 2,4 D e paraquat dichloride. Relyea *et al.*, (2005) expuseram girinos pertencentes as espécies (*Hyla versicolor*, *Bufo americanus*, *Rana pipiens*), ao pesticida glifosato (1,3% de ingrediente ativo) em concentração de 1,3mg/L. A exposição ao glifosato reduziu a sobrevivência total e a biomassa dos girinos em 40%. Relyea (2012) expôs girinos das espécies *Rana sylvatica*, *R. pipiens* e *Bufo americanus* à combinação fatorial do herbicida glifosato (50% de ingrediente ativo) em três concentrações (0, 1, 2 ou 3mg/l). Os girinos das espécies *R. sylvatica*, *R. pipiens* e *B.americanus* foram afetados pela exposição ao herbicida, e o aumento de 0-3mg/L causou 74%, 64% e 75% de mortalidade respectivamente. Jones *et al.*, (2010) expuseram girinos das espécies *Rana sylvatica* e *Bufo americanus* ao efeito do herbicida glifosato (48,7% de ingrediente ativo) em três concentrações nominais (0, 0,33, 1,2, 3mg/L) durante 18 dias. A exposição a maior concentração (3mg/L) erradicou os girinos de ambas as espécies. Morgan (1996) expôs embriões da espécie *Xenopus laevis* ao efeito do herbicida 2,4 D (40,8% de ingrediente ativo) numa concentração de 311mg/L. Notou que o EC₅₀ e LC₅₀ foram similares 245mg/L e 254mg/L respectivamente, demonstrando que o herbicida 2,4 D é mais embriotóxico do que teratogênico para os embriões em alta concentração. De modo, a expandir nossa análise dos efeitos dos herbicidas sobre girinos, Johansson *et al.*, (2006) expuseram girinos da espécie *Rana temporaria* ao efeito do herbicida cyanazine em três concentrações (0, 0,75, 3, 12mg/L). Na concentração intermediária o herbicida cyanazine afetou negativamente o crescimento dos girinos, mas a exposição crônica não resultou num aumento de mortalidade e nem afetou o crescimento.

Já entre os ingredientes ativos sabidamente aplicados na área de estudo, sabemos que os fungicidas mais amplamente utilizados são tiophanatemethyl e azoxistrobina. Johansson *et al.*, (2006) expuseram girinos da espécie *Rana temporaria* ao efeito do fungicida azoxistrobina em três concentrações (0, 0,03, 0,13, 0,5mg/L). A concentração elevada do fungicida azoxistrobina (0,5mg/L) ocasionou a erradicação dos girinos, mas a concentração intermediária afetou negativamente o crescimento dos girinos. Hanlon *et al.*, (2012) expuseram girinos da espécie *Lithobates sphenoccephalus* ao efeito do fungicida tiophanatemethyl numa concentração de (0,6mg/L) sob condições de laboratório. Descobriram que a exposição ao fungicida tiophanatemethyl aumentou a massa dos girinos e o comprimento, assim sendo conclui-se que a exposição ao tiophanatemethyl facilita o crescimento e o desenvolvimento, possivelmente devido à mortalidade de alguns patógenos que afetam o desempenho dos girinos. De modo, a expandir nossa análise dos efeitos dos fungicidas sobre os girinos, Relyea & Hoverman (2008) expuseram três espécies de anfíbios (*Rana sylvatica*, *R. pipiens*, e *Bufo americanus*) ao fungicida mancozeb (75% de ingrediente ativo) em três concentrações (16, 80 e 400 mg/L). O fungicida mancozeb extirpou os girinos na concentração elevada (400mg/L) dentro de 30 dias de exposição. No mais, as concentrações intermediárias (16 e 80mg/L) do fungicida mancozeb não erradicaram os girinos, mas influenciaram positivamente na taxa de crescimento.

Por sua vez, os ingredientes ativos sabidamente aplicados na área de estudo, sabemos que os inseticidas mais amplamente utilizados são acefato, profenofos e cipermetrina. Geen *et al.*, (1984) expuseram larvas de salamandra *Ambystoma gracile* ao efeito do inseticida acefato. O LC₅₀ foi de 8816mg/L, mas a taxa de crescimento diminuiu quando as larvas foram expostas em concentração de 798mg/L. Xianbin *et al.*, (2010) expuseram larvas de anfíbios da espécie *Rana spinosa* ao efeito do inseticida profenofos. O estudo mostrou que o inseticida profenofos é altamente letal para os girinos de *R.spinosa* com valores de LC₅₀ de 1,59, 1,14, 0,77 e 0,58 mg/L⁻¹ a 24, 48, 72, e 96 horas respectivamente. Agostini *et al.*, (2010) expuseram girinos da espécie *Hypsiboas pulchellus* ao efeito do inseticida cipermetrina (25% de ingrediente ativo) em diferentes concentrações 0,1, 0,5, 1, 5, 10, 50, 100, 250, 500, 750, 1000, 2500, 7500, 10000 µg/L durante 96 horas. O LC₅₀ foi de 175,2 µg/L, já as anomalias dos girinos foram observadas entre 0,34 e 4,18 µg/L de cipermetrina e o efeito no comprimento foi observado a partir da concentração de 3,44 µg/L de cipermetrina. De modo, a expandir nossa análise dos efeitos dos inseticidas para girinos, Relyea (2004c) examinou a sobrevivência de seis espécies de girinos (*Rana sylvatica*, *R. pipiens*, *R. clamitans*, *R. catesbeiana*, *Bufo americanus*), na presença e na ausência de predadores expostos ao inseticida malation (50,6% de ingrediente ativo) em seis concentrações (0,1, 1, 5, 10, 20 mg/L). O pesticida malation foi moderadamente tóxico para todas as espécies de girinos em concentração (1,25-5,9 mg/l), mas uma das seis espécies, o pesticida tornou-se duas vezes mais letal quando combinado com predadores.

No entanto, a chave desta observação é de que o declínio da massa dos girinos ocorre quando expostos a predadores mais perigoso (libélulas) combinado com concentrações elevadas de pesticidas. Relyea *et al.*, (2005) expuseram girinos pertencentes às espécies (*Hyla versicolor*, *Bufo americanus* e *Rana pipiens*) ao inseticida malation (50,6% de ingrediente ativo) em concentração de 0,315mg/L. A exposição ao inseticida malation influenciou positivamente os girinos, com aumento de cinco vezes na sobrevivência total e na biomassa. Johansson *et al.*, (2006) expuseram girinos da espécie *Rana temporaria* aos inseticidas (esfenvalerate em concentrações de 0,0003, 0,0013, 0,005mg/L), (permetrina em concentrações de 0,002, 0,008, 0,032mg/L) e (pirimicarb em concentrações de 1, 4, 16mg/L) durante três dias de experimento. Deste modo, as concentrações elevadas dos inseticidas permetrina e pirimicarb, ocasionaram a erradicação dos girinos, mas a concentração intermediária de permetrina afetou negativamente o crescimento dos girinos. Segundo Relyea & Hoverman (2008) a exposição ao inseticida malation (50% de ingrediente ativo) em duas concentrações (0,50-1,00 mg L⁻¹) foi o suficiente para erradicar os girinos. No entanto, a exposição ao inseticida endossulfan (33% de ingrediente ativo) em três concentrações (0,2, 1, e 5 mg/l), extirpou os girinos na concentração mais elevada (5mg/L) em apenas 12 dias de exposição.

Portanto, elencando todos os fatores físico-químicos os únicos elementos que permanecem como plausíveis de estarem atuando no desempenho dos girinos é o manejo da cultura da soja que implica no uso constante dos agrotóxicos. Por fim, é factível acreditar que o plantio de soja desencadeia efeitos favoráveis e desfavoráveis de tal maneira que podemos sugerir um não efeito no desempenho dos girinos nos diferentes momentos do ciclo da soja.

Uma vez que, os anfíbios podem de certa forma, se “beneficiar” das aplicações dos pesticidas, através da eliminação dos predadores (libélulas) que são mais sensíveis aos pesticidas (Woin, 1998; Boone & Semlitsch, 2002; Mills & Semlitsch, 2004; Relyea *et al.*, 2005; Relyea & Hoverman 2008). Sugerimos que estudos futuros investiguem quais espécies que realmente depositam suas desovas e qual há quantidade de ovos postos depois dos eventos reprodutivos; estudar a riqueza, crescimento e desenvolvimento ao longo do ciclo da soja, bem como estudo de malformações; e também seria interessante investigar como os eventos de aplicações influenciam na sobrevivência dos girinos, bem como saber quais são os principais princípios ativos aplicado na lavoura de soja; e também seria importante investigar a movimentação dos anfíbios durante o plantio da soja.

Implicações para a conservação em paisagens agroindustriais

Uma vez que a agricultura é atividade econômica ao mesmo tempo essencial e impactante, muitos pesquisadores vêm repetidamente se perguntando como podemos conciliar a produção de alimentos com a conservação da biodiversidade. Para tanto, foram conceitualizadas duas estratégias opostas – na verdade extremos de um contínuo: a primeira, conhecida como ‘compartilhamento da terra’ (‘Land Sharing’), envolve a integração da conservação da biodiversidade e da produção agrícola na mesma área através da adoção de práticas agrícolas menos impactantes. Esta estratégia viria a um custo de menor produtividade e, portanto, necessidade de maior área de produção. A segunda alternativa, conhecida como ‘economia de terra’ (‘Land Sparing’), envolve a segregação espacial de áreas exclusivas para a conservação e de áreas exclusivas para a produção intensiva de culturas agrícolas. Por causa da alta produtividade, esta estratégia permitiria economizar terra em outras áreas para a conservação da biodiversidade (Green *et al.*, 2005; Phalan *et al.*, 2011). Atualmente, o modelo de produção de ‘economia de terra’ aparenta ser a alternativa mais favorável para a conservação da biodiversidade, uma vez que mais espécies são prejudicadas do que beneficiadas pela agricultura, mesmo em modelos de produção de baixa e média intensidade (Phalan *et al.*, 2011). Tal conclusão preliminar, no entanto, depende da premissa crucial de que a intensificação da agricultura em determinada área de fato libera espaço para conservação de habitats nativos (inúmeros fatos mostram que este não é necessariamente o caso; e.g., Ewers *et al.*, 2009) , bem como que o uso e manejo da terra permita a permeabilidade da matriz para o movimento dos indivíduos, considerando que a maior parte das populações na verdade estão estruturadas como metapopulações (Vandermeer & Perfecto 2006, Perfecto & Vandermeer 2008).

Considerando que dentro de um contexto industrial de produção agrícola a única possibilidade é a de ‘economia de terra’, resta discutir em que grau a matriz composta por pastagens e plantações de soja é permeável para o movimento da fauna na fronteira *agrícola* Amazônica, entendendo a permeabilidade como a capacidade da paisagem em facilitar o movimento da fauna (Metzger, 2001).

Para as libélulas fica latente a pergunta de como os adultos persistem na paisagem mesmo tendo suas larvas sistematicamente erradicadas. Diversos autores têm apontado que a persistência das populações em ambientes transformados pode ser atingida de três maneiras. Em primeiro lugar, uma espécie pode ter a tolerância ecológica necessária para sua sobrevivência e reprodução no ambiente modificado; são espécies generalistas, mas também robustas a perturbações ambientais. Em segundo lugar, dependendo de uma ampla variação genética, uma espécie pode se adaptar rapidamente às mudanças ambientais (Fischer 1958). Em terceiro lugar, uma espécie pode ter sucesso em ambientes instáveis migrando a habitats favoráveis, seja ao acaso ou de forma dirigida (Corbet, 1999).

Uma vez que adultos de libélulas Anisoptera foram observados sobrevoando e ovipondo em poças de plantações de soja, mas que suas larvas não sobrevivem nestes ambientes quando transplantadas, as populações de libélulas da área de estudo podem estar numa dinâmica de migração obrigatória com adultos explorando poças temporárias relativamente distantes como habitats larvais (Corbet, 1999). Na verdade, entre libélulas Anisoptera há espécies generalistas, que colonizam habitats efêmeros ou recém-formados, e com grande capacidade de deslocamento (Corbet, 1999). Por exemplo, libélulas Anisoptera frequentemente voam 2000-3000 km em uma geração, as quais são transportadas pelo vento, sendo capazes de cobrir grandes distâncias em curto espaço de tempo (Corbet, 1999). Como base de comparação, a poça do Retiro Alvorada mais distante de um riacho ou de uma represa esteve a apenas 3,2 km; já a poça do Retiro Alvorada mais distante da pastagem esteve a 35 km. Ou seja, a recolonização das poças de plantações de soja por libélulas Anisoptera provenientes de riachos e represas em áreas de preservação permanente adjacentes às plantações de soja, ou de poças em florestas, cerrados ou pastagens, parece trivial.

Com esta dinâmica podemos elucidar como os adultos de libélulas colonizam e recolonizam as poças temporárias, mesmo com suas larvas sendo extirpadas sistematicamente. Libélulas neste sistema muito provavelmente seguem uma dinâmica de metapopulação 'source-sink' (fonte-dreno; ver Pulliam, 1988) onde campos de soja são 'sinks' (drenos) e fragmentos de habitats nativos ou manchas de pastagem são 'sources' (fontes). Neste caso, não podemos deixar de notar o fato de que os adultos de libélulas estão fazendo uma escolha inadequada do sítio de oviposição ao efetuar postura em ambientes que não permitem o desenvolvimento de suas larvas. Tal escolha deve estar baseada em sinais não confiáveis da paisagem (disponibilidade e qualidade do habitat) (Schlaepfer *et al.*, 2002; Robertson & Hutto 2006). Portanto, a lavoura da soja (e possivelmente de muitas outras culturas agrícolas) origina um paradoxo; por um lado promove a formação de um elemento estrutural essencial para o sucesso de libélulas (as poças temporárias, mais comuns em ambientes convertidos que preservados; Schiesari dados não publicados), mas por outro envolve atividades de manejo (aplicações de pesticidas) proibitivas para o desenvolvimento de suas larvas. Neste arcabouço, fica claro que o ambiente de pastagens é permeável ao movimento dos adultos de libélulas e é hábitat para suas larvas – aparentemente, hábitat de boa qualidade a julgar pelos resultados dos experimentos e a alta densidade de larvas

amostradas em campo (Schiesari dados não publicados). Por sua vez, a plantação de soja é permeável ao movimento dos adultos de libélulas – exceto, possivelmente, ao redor dos dias de aplicação de pesticidas - mas não é habitat para suas larvas.

Em contrapartida, numerosas espécies de anfíbios têm sido capazes de persistir em paisagens agrícolas em todo mundo, apesar das profundas mudanças inerentes a esta atividade (Ouellet *et al.*, 1997; Harris *et al.*, 1998; Johnson *et al.*, 2002; Attademo *et al.*, 2005; Agostini, 2013). A persistência de anfíbios em paisagens modificadas pode, ao menos em parte, decorrer do fato de que a dinâmica de metapopulações parece descrever bem a dinâmica de muitas espécies (Knutson *et al.*, 2004): Dois fatores principais controlariam a dinâmica de metapopulações de anfíbios (Semlitsch 2000): (1) número ou densidade de dispersão individual entre poças e (2) densidade e distribuição das poças na paisagem, que determina as distâncias de dispersão e a probabilidade de poças colonizadas. Ao contrário de libélulas, anfíbios são organismos com forte tendência filopátrica e que não podem dispersar longas distâncias por causa de limitações fisiológicas sobre a perda de água. Dados limitados indicam que espécies de Bufonidae dispersam entre 0 e 229 metros, Hylidae entre 0 e 102 metros, Leptodactylidae entre 0 e 35 metros e Ranidae entre 0 e 1,600 metros (Wells, 2007). Mais uma vez, 3,2 km separaram a poça do Retiro Alvorada mais distante de um riacho ou de uma represa. Portanto, as distâncias são muito superiores à capacidade de dispersão da maior parte das espécies de anfíbios. Por outro lado, a matriz de soja estudada tem densidade relativamente alta de poças (~ cerca de 7 poças por km de estrada; Schiesari dados não publicados) distribuída de forma homogênea, uma vez que as poças ocorrem principalmente nas quinas de cada talhão. Deste modo, é razoável imaginar que mesmo indivíduos de famílias com capacidade de dispersão moderada poderão ir de uma poça a outra, desde que tolerem as condições mais severas de risco de dessecação em plantações, e as perturbações relacionadas ao manejo da terra. Neste contexto, fica claro que tanto o ambiente de pastagem como o ambiente de plantação de soja são permeáveis ao movimento dos adultos de anfíbios (do contrário não seriam lá encontradas suas larvas), mas também são habitat para suas larvas. Os dados dos experimentos, e as densidades populacionais de girinos (Schiesari, dados não publicados) sugerem que pastagens são habitat de maior qualidade que plantações de soja; por sua vez, os dados dos experimentos sugerem que determinadas fases do ciclo da soja são favoráveis ao desenvolvimento de anfíbios, enquanto outras são francamente desfavoráveis. É factível, portanto que anfíbios nas paisagens estudadas realmente estejam em dinâmica de metapopulação.

Portanto, fica clara a importância de aumentar a permeabilidade da matriz, pois será nas matrizes agrícolas que fração significativa da biodiversidade do mundo estará localizada. Mas a única forma de criar um sistema agrícola mais permeável aos organismos é através da adoção de práticas menos danosas ao ambiente. Práticas estas que visariam um uso mais racional e consciente dos agrotóxicos, uma vez que, nossos dados experimentais sugerem que os organismos aquáticos são rapidamente erradicados da matriz após aplicação de agrotóxicos. Tais mudanças no manejo se torna imprescindível para garantir a qualidade e a

permeabilidade da matriz, mas para tanto há necessidade de um plano de longo prazo, focado na construção de uma paisagem com maior heterogeneidade dentro e entre as paisagens fragmentadas, a fim de gerar mudanças minimamente factuais para garantir a permeabilidade e a qualidade da matriz.

Posto isso, a sobrevivência e a circulação das populações através da matriz é um processo fundamental para o funcionamento da dinâmica na paisagem agroindustrial. Mas os processos são ameaçados constantemente pela redução da qualidade e da perda dos habitats. Todavia, atualmente é crescente a preocupação da adequação dos sistemas de produção com o meio ambiente, uma vez que, a preservação da biodiversidade em ambiente agrícola é importante para a sustentabilidade agrônômica. Novamente a sustentabilidade agrônômica pode vir através da redução do uso dos agrotóxicos conforme foi demonstrado em campos de arrozais, que exibem altos níveis de biodiversidade (Cohen *et al.*, 1994; Schoenly *et al.*, 1998; Mello, 2013), que conseqüentemente reduz as pragas, já que os predadores naturais são mantidos (Way & Heong 1994; Sttle *et al.*, 1996).

No entanto, para a sustentabilidade agrônômica se torna imprescindível um plano, focado na qualidade da matriz agrícola. Para tanto, as mudanças não podem ser unilaterais, mas sim coletiva por parte de todas as esferas que mantêm o agronegócio, ou seja, o governo carece gerar incentivos para garantir a preservação dos ambientes aquáticos temporários imersos nas matrizes e para melhorar as práticas agrícolas, não só para aumentar a produção, pois o aumento da produtividade agrícola que desfrutamos é resultado da redução das populações aquáticas e terrestres em escala global. Deste modo, o modelo de produção industrial atual é baseado na destruição sistemática dos ecossistemas devido ao enorme consumo de agrotóxico.

Como reflexão final, vale a pena perguntar; se as agências governamentais têm como objetivo buscar formas alternativas de produção para minimizar os efeitos deletérios do modelo atual?

CONCLUSÕES

1. O desempenho dos organismos aquáticos variou significativamente ao longo do gradiente de intensidade de uso da terra.
2. Tanto para girinos como para libélulas, as condições ambientais em poças de pastagens foram tão ou mais favoráveis para a sobrevivência, o crescimento e o desenvolvimento dos indivíduos do que as condições ambientais em poças de cerrado.
3. Por sua vez, as condições ambientais em poças de plantações de soja tiveram efeito variável para girinos e libélulas. Girinos de *Physalaemus cuvieri* tiveram desempenho similar ou superior aos controles em plantações de soja com 10 e 55 dias, mas mortalidade total em plantações de soja com 50 dias. Portanto práticas específicas de manejo aparentam modular o desempenho de *P. cuvieri* ao longo do ciclo de plantio.

4. Já ninfas de libélulas se mostraram demasiadamente sensíveis e foram consistentemente eliminadas de plantações de soja independente da fase do ciclo de plantio. A coincidência temporal entre a aplicação de pesticidas e a mortalidade de ninfas de libélulas no campo sugere que a principal causa da eliminação de ninfas de libélulas em plantações de soja é a contaminação por pesticidas.

5. Estes resultados têm importantes implicações para nossa conceptualização da permeabilidade de paisagens agroindustriais para a fauna aquática e semiaquática e, portanto, para a conservação da biodiversidade em paisagens agroindustriais. Ao menos no que diz respeito ao hábitat larval, pastagens se mostraram ambientes de alta permeabilidade para a colonização tanto de girinos como de libélulas. Por sua vez, plantações de soja aparentam ser impermeáveis para o desenvolvimento das larvas de libélulas e temporalmente permeáveis para o desenvolvimento de girinos. Os resultados aparentam ser robustos para representantes de três famílias de libélulas e três espécies de três famílias de girinos.

REFERÊNCIAS

ALONSO, A. & CAMARGO, J. A. Toxic effects of unionized ammonia on survival and feeding activity of the freshwater amphipod *Eulimnogammarus toletanus* (Gammaridae, Crustacea). *Environmental Contamination Toxicology*. vol. 72. pp. 1052–1058. 2004.

ALONSO, A. Valoración de la degradación ambiental y efectos ecotoxicológicos sobre la comunidad de macroinvertebrados bentónicos en la cabecera del río Henares. 2005. Dissertação (Doutorado) Universidad de Alcalá de Henares (Madrid), Spain.

ALFORD, R.A. Ecology: resource use, competition and predations. En: McDiarmid, R. W., ALTIG, R. (eds). *Tadpoles*. The University of Chicago Press. Chicago. USA. pp. 240-278. 1999.

AGOSTINI, G.M.; NATALE, G.S.; RONCO, A.E. Lethal and sublethal effects of cypermethrin to *Hypsiboas pulchellus tadpoles*. *Ecotoxicology*. vol. 19. pp. 1545-1550. 2010.

AGOSTINI, L. C. M. G. Ecotoxicología de anfibios em agroecossistemas del norete de la región pampeana. 2013. Dissertação (Doutorado) Universidad Nacional de la Plata Facultad de Ciencias Exactas.

ATTADEMO, A.; PELTZER, P.; LAJMANOVICH, R. Amphibians occurring in soybean and implications for biological control in Argentina. *Agriculture, Ecosystems & Environment*. vol. 106. pp. 389-394. 2005.

BAESE, F.; ELSENBEEER, H.; NEIL, C.; KRUSCHE, A. E. Differences in throughfall and net precipitation between soybean and transitional tropical forest in the southern Amazon, Brazil. *Agriculture Ecosystems and Environment*. 159. pp 19-28, 2012.

BARTH, B. J. & WILSON, R.S. Life in acid: interactive effects of pH and natural organic acids on growth, development and locomotor performance of larval striped marsh frogs (*Limnodynastes peronei*). *The Journal of Experimental Biology*. vol. 213. pp. 1293-1300. 2010.

BAKER, J. M & WAIGHTS, V. The effects of nitrate on tadpoles of the tree frog (*Litoria caerulea*). *Herpetological Journal*. vol. 4. 106-108. 1994.

BILOTTA, G. S. & BRAZIER, R. E. Understanding the influence of suspended solids on water quality and aquatic biota. *Elsevier*. vol. 42. pp. 2849-2861. 2008.

BISHOP, C. A.; ASHPOLE, S. L.; EDWARDS, M. A.; GRAHAM van AGGELEN.; ELLIOTT. J. E. Hatching success and pesticide exposure in amphibia living in agricultural habitats of the south okanagan valley british columbia, Canada (2004-2006). *Environmental Toxicology and Chemistry*. vol.29(7). pp. 1593-1603, 2010.

BISHOP, C. A.; MAHONY, N. A.; STRUGER, J. Ng. P.; PETTIT, K. E. Anuran development, density and diversity in relation to agricultural activity in the Holland River watershed, Ontario, Canada (1990-1992). *Environment Monitor Assess*. vol. 57. pp. 21-43. 1999.

BELLIZE, L.; ILHA, P.; SCHIESARI, L. Ontogenetic Variation in the Sensitivity of the Glabiator Frog, *Hypsiboas faber*, to Inorganic Nitrogen. *BioOne*. vol. 103(1). pp. 14-21. 2015.

BELL, H. L. Effects of low pH on the survival and emergence of aquatic insects. *Water Research Pergamon Press*. vol. 5. pp. 313-319. 1971.

BOONE, M. D.; SEMLITSCH, R. D. Interactions of an insecticide with competition and pond drying in amphibian communities. *Ecological Applications*. vol. 12. pp. 307-316.2002.

BOONE, M. D.; SEMLITICH, R. D.; FAIRCHILD, J. F.. ROTHERMAL, B. B. Effects of an insecticide on amphibians in large-scale experimental ponds. *Ecological Applications*. vol. 14. pp. 685-691. 2004.

BOURASSA, N. & CATTANEO, A. Responses of a lake outlet community to light and nutrient manipulation: effects on periphyton and invertebrate biomass and composition. *Freshwater Biology*. vol. 44(4). pp. 629-639. 2000.

BURTON, T. M & LIKENS, G. E. Energy flow and nutrient cycling in salamander population in the Hubbard Brook experimental forest, New Hampshire. *Ecology*, 56, pp. 1068-1080, 1975.

BRANCO, S. M. Alteração das características físicas devidas à poluição. In: Água Qualidade, Padrões de potabilidade e poluição. CETESB – Centro tecnológico de Saneamento Básico, São Paulo. pp. 182-190. 1969.

BRANDO, P. M.; COE, M. T.; DeFRIES, R.; AZEVEDO, A. A. Ecology, economy and management of na agroindustrial frontier landscape in the southeast Amazon. *Philosophical Transactions of the Royal Society Biological* vol. 368. 2013.

BRIDGES, C. M.; BOONE, M. D. The interactive effects of UV-B and insecticide exposure on tadpole survival, growth and development. *Biology Conservation*. vol. 113. pp. 49-54. 2003.

BRUNELLI, E.; BERNABÓ, I.; BERG, C.; LUNDSTEDT, K.; BONACCI, A.; TRIPEPI, S. Environmentally relevant concentrations of endosulfan impair development, metamorphosis and behavior in bufo bufo tadpoles. *Aquatic Toxicology*. vol. 91. pp. 135-142. 2009.

CAMARGO, J. A. & ALONSO, A. Ecological and toxicological effects of inorganic nitrogen pollution in aquatic ecosystems: A global assessment. *Environment International*. vol 32. pp. 831-849. 2006

CAMARGO, J. A.; ALONSO A.; SALAMANCA, A. Nitrate toxicity to aquatic animals: a review with new data for freshwater invertebrates. *Chemosphere*. vol.58. pp.1255–67. 2005a.

CARRILLO, J. A. G. Toxicidade de insecticidas sobre tres especies de depredadores de *Diaphorina citri* (Hemiptera: Liviidae). 2014. Dissertação (Mestrado) Institución de ensenanza e investigación em ciências agrícolas.

CETESB. Relatório de Qualidade das Águas Interiores do Estado de São Paulo. vol.1. pp. 307. 2004.

COHEN, J. E.; SCHOENLY, K.; HEONG, K. L.; JUSTO, H.; ARIDA, G.; BARRION, A. T.; LITSINGER, J. A. A food web approach to evaluations of the effects of insecticide spraying on insect pest population dynamics in a Philippine irrigated rice ecosystem. *Journal Apply Ecology*. vol.31. pp. 747-763. 1994.

CORBET, P. S. (1999) *Dragonflies: Behaviour and Ecology of Odonata*. Harley Books, Colchester, UK.

COTHRAN, R. D.; RADARIAN, F.; RELYEA, R. A. Altering aquatic food weeb with a global insecticide: arthropod - amphibian link in mesocosms that simulate pond communities. *The North American Benthological Society*. vol. 30. pp. 893-912. 2011.

CUPPEN, J. G. M.; VAN den BRINK, P. J.; CAMPS, E.; UIL, K. F.; BROCK, T. C. M. Impact of the fungicide carbendazim in freshwater microcosm. I. Water quality, breakdown of particulate organic matter and responses of macroinvertebrates. *Aquatic Toxicology*. vol. 48. pp. 233-250. 2000.

CLEMENTS, W. H & ROHR, J. R. Community responses to contaminants: using basic ecological principles to predicts ecotoxicological effects. *Society of Environmental Toxicology and Chemistry*. vol. 28, pp 1789-1800, 2009.

CHASE, J. M. Experimental evidence for alternative stable equilibria in a benthic pond food web. *Ecology Letters*. vol. 6(8). pp. 733-741. 2003

CHENG, S-Y.; TSAI, S-J, CHEN, J-C. Accumulation of nitrate in the tissues of *Penaeus monodon* following elevated ambient nitrate exposure after different time periods. *Aquatic Toxicology*. vol. 56. pp. 133–146. 2002.

Da Silva, F. R., Do Prado, V. H., Rossa-Feres, D. C. (2010). "Amphibia, Anura, Hylidae, *Dendropsophus melanargyreus* (Cope, 1887): Distribution extension, new state record and geographic distribution map." *CheckList*, vol. 6(3). pp. 402-404.

DAVIDSON, C. Declining downwind: amphibian population declines in California and historical pesticide use. *Ecological Applications*. vol. 14. pp. 1892-1902. 2004.

DEVINE, G. J. & FURLONG, M. J. Insecticide use: contexts and ecological consequences. *Agriculture and Human Values*. vol. 24. pp. 281-306. 2007.

DEWEY, S. Effects of the herbicide atrazine on aquatic insect community structure and emergence. *Ecology*. vol. 67. pp. 148-162. 1986.

DOKA, S, E.; MCNICOL, D. K.; MALLORY, M. L.; WONG, I.; MINNS, C. K.; YAN, N. D. Assessing potencial for recovery of biotic richness and indicador species due to changes in acid deposition and lake pH in five areas of southeastern Canada. *Environmental Monitoring and Assessment*. vol. 88. pp. 53-101. 2003.

DIAMOND, J. M.; MACKLER, D. G.; RASNAKE, W. J.; GRUBER, D. Derivation of site-specific ammonia criteria for an effluent dominated headwater stream. *Environmental Toxicology and Chemistry*. vol. 12. pp. 649-658. 1993.

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Plano Nacional de Agroenergia 2006-2011. 2006.

ESTEVES, F. A. 1998. Fundamentos de Limnologia. 2ª ed. Editora Interciência, Rio de Janeiro.

EWELL, W. S.; GORSUCH, J. W.; KRINGLE, R. O.; ROBILLARD, K. A.; SPIEGEL, R. C. Simultaneous evaluation of the acute effects of chemicals on seven aquatic species. *Environmental Toxicology Chemical*. vol. 5. pp. 831-840. 1986.

FAO Food Agricultural Organization of the United Nations (2002) Agricultural Mundial: Hacia los Años 2015/2030. Informe resumido. <http://www.fao.org/docrep/004/y3557s/y3557.htm>. [Acesso Abril 2015].

FAHRIG, L. Effects of Habitat Fragmentation on Biodiversity. *Annual Reviews Ecology Evolution Systematic*. vol.34. pp. 487-515. 2003.

FELLERS, G. M.; McCONNEL, L.L.; PRATT, D.; DATTA, S. Pesticides in mountain yellow-legged frogs (*Rana muscosa*) from the sierra Nevada mountains of California, USA. *Environmental Toxicology and Chemistry*. vol. 23(9). pp. 2170-2177. 2004.

FISCHER, Z. Influence exerted by temperature on the development of eggs of *Lestes sponsa* Leach. *Ekol Polska*. vol. 4. pp. 305-309. 1958.

FISCHER, G.; SHAH, M.; VELTHUIZEN, H.; NACHTERGAELE, F. Global agro-ecological assessment for agriculture in the 21st century. Laxenburg, Austria and Rome, Italy: International Institute for Applied Systems Analysis and the Food and Agriculture Organization of the United Nations. pp. 33, 2001.

GASCON, C.; COLLINS, J. P.; MOORE, R. D.; CHURCH, D. R.; MCKAY, J. E.; MENDENSON III, J. R. (Org). Amphibian conservation action plan. Gland, Switzerland: *The World Conservation Union*. pp 62, 2005.

GOSNER, K. L. A simplified table for staging anuran embryos and larvae. *Herpetology*, 16: pp 183-190, 1960.

GEEN, G. H.; McKEOWN, B. A.; WATSON, T. A.; PARKER, D. B. Effect of acephate (orthene®) on development and survival of the salamander *Ambystoma gracile* (Baird). vol. 19(2). pp. 157-170. 1984.

GREEN, R. E.; CORNELL, S. J.; SCHARLEMANN, J. P. W.; BALMFORD, A. Farming and the fate of wild nature. *Science* vol. 307, pp 550-554, 2005.

GREULICH, K.; PFLUGMACHER, S. Differences in susceptibility of various life stages of amphibians to pesticide exposure. *Aquatic Toxicology*. vol. 65(3). pp. 329-336. 2003.

GRIFFIS-KYLE, K. L. Sublethal effects of nitrite on eastern tiger salamander (*Ambystoma tigrinum tigrinum*) and wood frog (*Rana sylvatica*) embryos and larvae: implications for field population. *Aquatic Ecology*. vol. 41. pp. 119-127. 2007.

GRIFFIS-KYLE, K. L. Ontogenic delays in effects of nitrite exposure on tiger salamanders (*Ambystoma tigrinum tigrinum*) and frogs (*Rana sylvatica*). *Environmental Toxicology and Chemistry*. vol. 24. pp. 1523-1527. 2005.

GRONER, M. L & RELYEA, R. A. A tale of two pesticides: how common insecticides affect aquatic communities. *Freshwater Biology*. pp. 1-14. 2011.

HANLON, S. M.; KERBY, J. L.; PARRIS, M. J. Unlikely Remedy: Fungicide Clears Infection from Pathogenic Fungus in Larval Southern Leopard Frogs (*Lithobates sphenoccephalus*). *Plos One*. vol. 7(8). pp. 1-8. 2012.

HAMASAKI, K.; YAMANAKA, T.; TANAKA, K.; NAKATANI, Y.; IWASAKI, N.; SPRAGUE, S. D. Environmental characteristics accounting for odonate assemblages in rural reservoir ponds in Japan. *Japan International Research Center for Agricultural Sciences*. 45 (2): pp. 187-196 (2011).

HARRIS, M.; BISHOP, C.; STRUGER, J. The functional integrity of northern leopard frog (*Rana pipiens*) and green frog (*Rana clamitans*) populations in orchard wetlands. Effects of pesticides and eutrophic conditions on early life stage. *Environmental Toxicological and Chemistry*. vol. 17(7). pp. 1351-1363. 1998.

HANSKI, I. Metapopulation dynamics. *Nature*. vol. 396. pp. 41-49, 1999.

HARDERSEN, S. & WRATTEN, S. D. The effects of carbaril exposure of the penultimate larval instars of *Xathocnemis zealandica* on emergence and fluctuating asymmetry. *Ecotoxicology*. Vol. 7. Pp. 297-304. 1998.

HATCH, A. C & BLAUSTEIN, A. R. Combined effects of UV-B, nitrate and low pH reduce the survival and activity level of larval Cascades Frogs (*Rana cascadae*). *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. vol. 39. pp. 494-499. 2000.

HECNAR, S. J. Acute and chronic toxicity of ammonium nitrate fertilizer to amphibians from southern Ontario. *Environmental Toxicology and Chemistry*. vol. 14(12). pp. 2131-2137. 1995.

HOOPER, D. U.; ADAIR, E. C.; BRADLEY, J. C.; BYRNES, J. E. K.; HUNGATE, B. A.; MALUTICH, K. L.; GONZALEZ, A.; DUFFY, E.; GAMFELDT, L.; O'CONNOR, M. I. A global synthesis reveals biodiversity loss as a major driver of ecosystem change. *Nature*. vol.1. pp. 1-5. 2012.

HORNE, M. T & DUNSON, A. W. Effects of low, metals, and water hardness on larval amphibians. *Archives environmental contamination toxicology*. vol. 29. pp. 500-505. 1995.

HOWE, G. E.; GILLIS, R.; MOWBRAY, R. C. Effects of chemical synergy and larval stage on the toxicity of atrazine and alachlor to amphibian larvae. *Environmental Toxicology and Chemistry*. vol. 17(3). pp. 519-525. 1998.

HOFF, K. S.; BLAUSTEIN, A. R.; McDIARMID, R. W.; ALTIG, R. 1999. Behavior: interactions and their consequences. In: Tadpoles: The Biology of Anuran Larvae. Ed: McDiarmid, R. W., ALTIG, R. (eds). *Tadpoles*. The University of Chicago Press. Chicago. USA. pp. 240-278. 1999.

ILHA, P & SCHIESARI, L. Lethal and sublethal effects of inorganic nitrogen on gladiator frog (*Hypsiboas faber*, Hylidae). *Copeia*. vol. 2014(2). pp. 221-230. 2014.

ILHA, P. R. J. Efeitos letais e subletais da poluição por nitrogênio inorgânico em larvas de anuros. 2010. Dissertação (Mestrado) na Universidade de São Paulo.

JONES, D. K., HAMMOND, J. R., RELYEA, R. A. Roundup and amphibians: the importance of concentration, application time, and wetland stratification. *Environmental Toxicology and Chemistry*. vol 29. Pp 2016-2025. 2010.

JOFRE, M. B & KARASON, W. H. Direct effect of ammonia on three of north american anuran amphibians. *Environmental Toxicology and Chemistry*. vol. 18(8). pp. 1806-1812. 1999.

JOHANSSON, M.; PIHA, H.; KYLIN, H.; MERILA, J. Toxicity of six pesticides to common frog (*Rana Temporaria*) tadpoles. *Environmental Toxicology and Chemistry*. vol. 25(12). pp. 3164-3170. 2006.

JOHANSSON, M.; RASANEN, K.; MERILA, J. Comparison of nitrate tolerance between different populations of the common frog. *Rana temporaria*. *Aquatic Toxicological*. vol. 54. pp.1-14. 2001.

JINGUJI, H.; THUYET, D. Q.; UEDA, T.; WATANABE, H. Effects of imidacloprid and Fipronil pesticide application on *Sympetrum infuscatum* (Libellulidae: Odonata) larvae and adults. *Springer*. vol.11. pp. 277-284. 2013.

LINDERNMAYER, D. B. & FISCHER, J. Habitat fragmentation and landscape change: an ecological and conservation synthesis. Island Press. Washington D.C. 2006.

LEMLY, A. D. Modification of benthic insect communities in polluted stream: combined effects of sedimentation and nutrient enrichment. *Hydrobiologia*. vol. 87. pp. 229-245. 1982.

LEWINSOHN, T. M. & PRADO, P. I. Quantas espécies há no Brasil. *Megadiversidade*. vol. 1: pp 37-42, 2005.

LOCH, A. D. Mortality and recovery of eucalypt beetle pest and beneficial arthropod populations after commercial application of the insecticide alpha-cypermethrin. *Forest Ecology and Management*. vol. 217. pp. 255-265. 2005.

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

MARCO, A.; QUILCHANO, C & BLAUSTEIN, A. R. Sensitivity to nitrate and nitrite in pond-breeding amphibians from the Pacific Northwest. *Environmental Toxicology and Chemistry*. vol. 18. pp. 2836-2839. 1999.

MEDEIROS, M. B.; ROCHA, A. J. A. Caracterização das comunidades de macroinvertebrados bentônicos do córrego Riacho Fundo – Brasília/DF, visando a utilização destas como bioindicadores de ambientes alterados. In. LEITE, L, L.; SAITO, C. H. (Org). Contribuição ao Conhecimento Ecológico do Cerrado. Brasília: Editora da Universidade de Brasília. pp. 135-141. 1997.

MELLO, I. C. M. F. Resiliência da comunidade de macroinvertebrados aquáticos após aplicação dos agrotóxicos nas lavouras de arroz irrigado no sul do Brasil. 2013. Dissertação (Mestrado) na Universidade do Vale do Rio dos Sinos – UNISINOS.

MARTINELLI, L.A.; NAYLOR, R.; VITOUSEK, P.M.; MOUTINHO, P. Agriculture in Brazil: impacts, costs, and opportunities for a sustainable future. *Current Opinion in Environmental Sustainability*. vol.2. pp. 431-438. 2010.

MARTINELLI, L. A.; FILOSO, S. Expansion of sugarcane ethanol production in Brazil: Environmental and Social challenges. *Ecological Applications*, vol. 18(4). pp 885-898, 2008.

METZGER, J. P. O que é ecologia de paisagens? *Biota Neotropical*. vol. 1(1). pp. 1-9. 2001.

MILLS, N. E & SEMLITSCH, R. D. Competition and Predation Mediate the Indirect Effects of an Insecticide on Southern Leopard Frogs. *Ecological Applications*. vol. 14(4). pp. 1041-1051. 2004.

MOUTINHO, M. F. Ecotoxicidade comparativa dos herbicidas de cana-de-açúcar sobre larvas de anfíbios. 2013. Dissertação (Mestrado) na Universidade de São Paulo.

MORGAN, M. K. Teratogenic potencial of atrazine and 2,4D using FETAX. *Journal of Toxicology and Environmental Health*. vol. 48(2). pp. 151-168. 1996.

McDIARMID, R. W., ALTIG, R. (eds). *Tadpoles*. The University of Chicago Press. Chicago, USA. pp. 444. 1999.

MUGNAI, R.; J.L. NESSIMIAN & D.F. BAPTISTA. 2010. Manual de identificação de macroinvertebrados aquáticos do estado do Rio de Janeiro. Technical Books Editora, Rio de Janeiro.

MUMMERT, A. K.; NEVES, R. J.; NEWCOMB, T.; CHERRY, D. Sensitivity of juvenile freshwater mussels (*Lampsilis fasciola*, *Villosa iris*) to total and un-ionized ammonia. *Environmental Toxicology and Chemistry*. vol. 22(11). pp. 2545-2553. 2003.

NEPSTAD, D. C.; STICKLER, C. M.; ALMEIDA, O. T. Globalization of the Amazon soy and beef industries: opportunities for conservation. *Conservation Biology* vol. 20, pp 1595-1603. 2006.

ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS, 2012. *World Population Prospects: The 2012 Revision*. <http://esa.un.org/wpp/>

OLIVEIRA, A. C. M. & SANTOS, P. G. P. Introdução Geral. In: OLIVEIRA, A. C. M.; SANTOS, J. B.; SANTOS-COSTA, M. C. (org). Os animais da Tanguro Mato Grosso. Pará: MPEG, UFPA, IPAM, 2010.

OPDAM, P. Metapopulation theory and habitat fragmentation: a review of holarctic breeding birds studies. *Landscape Ecology*. vol.5, pp 93-106. 1991.

OUELLET, M.; BONIN, J.; RODRIGUES, J.; DesGRANGES, J.L.; LAIR, S. Hindlimb deformities (ectromelia, ectrodactyly) in free-living anurans from agricultural habitats. *Journal of Wildlife Diseases*. vol. 33(1). pp. 95-104. 1997.

PEHEK, E. L. Competition, pH, and the Ecology of Larval *Hyla Andersonii*. *Ecology*. vol. 76(6). pp. 1786-1793. 1995.

POMBAL Jr, J. P & HADDAD, C. F. B. 2007. Estratégias e modos reprodutivos em anuros, pp. 101-116. In: Nascimento, L.B., M.E. Oliveira (eds.). *Herpetologia do Brasil II*. Belo Horizonte, Sociedade Brasileiro de Herpetologia, 345p.

PELTZER, P. M.; LAJMANOVICH, R. C.; SÁNCHEZ-HERNANDEZ, J. C.; CABAGNA, M. C.; ATTADEMO, A. M.; BASSO, A. Effects of agricultural pond eutrophication on survival and health status of *Scinax nasicus* tadpoles. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. vol. 70. pp. 185-197. 2008.

PULLIAM, H. R. Sources, sinks and population regulation. *The American Naturalist*. Vol 132. Pp 652-661. 1988.

PUNZO, F. Effects of low environmental pH and temperature on hatching and metabolic rates in embryos of *Anax Junius drury* (Odonata: Aeshnidae) and the role of hypoxia in the hatching process. *Comparative Biochemistry and Physiology*. vol 91. pp. 333-336. 1988.

PHALAN, B.; ONIAL, M.; BALMFORD, A.; GREEN, R. R. Reconciling food production and biodiversity conservation: Land sharing and land sparing compared. *Science* vol. 333. pp 1289-1291, 2011.

UETANABARO, M., PRADO, C. P. A., RODRIGUES, D. J. GORDO, M. & CAMPOS. Z. 2008. Guia de Campo dos Anuros do Pantanal Sul e Planaltos de Entorno. Campo Grande, MS: Editora UFMS; Cuiabá: Ed. UFMT.

ULTSCH, G. U.; BRADFORD, D. F.; FRED, J. Physiology: Coping with the Environment. En: McDiarmid, R. W., ALTIG, R. (eds). *Tadpoles*. The University of Chicago Press. Chicago. USA. pp. 189-214. 1999.

RIBEIRO, R. S., EGITO, G. T. B. T. & HADDAD, C. F. B. 2005. Chave de identificação: anfíbios anuros da vertente de Jundiá da Serra do Japi, Estado de São Paulo. *Biota Neotropica*. 5(2): <http://www.biotaneotropica.org.br>

RICHARDS, S. M.; KENDALL, R. J. Physical effects of chlorpyrifos on two stages of *Xenopus laevis*. *Journal of Toxicological Health*. vol. 66(1). pp. 75-91. 2003.

RELYEA, R. A. Growth and survival of five amphibian species exposed to combinations of pesticides. *Environmental Toxicology and Chemistry*. vol. 23. pp. 1737-1742. 2004b

RELYEA, R. A. Synergistic impacts of malathion and predatory stress on six species of North American tadpoles. *Environmental Toxicology and Chemistry*. vol. 23. pp. 1080-1084. 2004c.

RELYEA, R. A.; SCHOEPPNER, N. M.; HOVERMAN, J. T. Pesticides and amphibians: The importance of community context. *Ecological Applications*, vol. 15(4), pp 1125-1134, 2005.

RELYEA, R. A. The impact of insecticides and herbicides on the biodiversity and productivity of aquatic communities. *Ecological Applications*. vol. 15(2). pp. 618-627. 2005.

RELYEA, R. A & HOVERMAN, J. Interactive effects of predators and a pesticide on aquatic communities. *Oikos*, vol. 117: pp 1647-1658, 2008.

RELYEA, R. A.; DIECKS, N. An unforeseen chain of events: lethal effects of pesticides on frogs at sublethal concentrations. *Ecological Applications*. vol. 18(7): 1728-1742. 2008.

RELYEA, R. A. New effects of Roundup on amphibians: predators reduce herbicide mortality while herbicides induce anti-predator morphology. *Ecological Applications*. vol 22. pp. 634-647. 2012.

RICHARDSON, J. Acute ammonia toxicity for eight New Zealand indigenous freshwater species. *New Zealand Journal Marine and Freshwater Research*. vol. 31. pp. 185-190. 1997.

ROBERTSON, B. A. & HUTTO, R. "A framework for understanding ecological traps and an evaluation of existing evidence." *Ecology*. vol. 87(5). pp. 1075-1085. 2006.

ROSSA-FERES, D. C.; JIM, J. & FONSECA, M. G. Diets of tadpoles from a temporary pond in southeastern Brazil (Amphibia, Anura). *Revista Brasileira de Zoologia*. vol. 21(4). pp. 745-754. 2004.

ROHR, J. R.; KERBY, J. L.; SIH, A. Community ecology as a framework for predicting contaminant effects. *Ecology Evolution*, vol. 21 pp 606-613. 2006.

ROUSE, J. D.; BISHOP, C. A.; STRUGER, J. Nitrogen pollution: an assessment of its threat to amphibian survival. *Environmental Health Perspect.* vol. 107. pp 799-803. 1999.

ROUZMAN, K.K.; DOULL, J.; HAYES, Jr. W.J. Dose and time determining, and other factors influencing, toxicity. In: Krieger R (ed). *Hayes Handbook of Pesticide Toxicology*. Academic Press, San Diego. USA. pp. 3-110.

SANTOS, B. G. Efeitos diretos e indiretos de fertilizantes sobre comunidades aquáticas experimentais. 2013. Dissertação (Mestrado) na Universidade de São Paulo.

SEMLITSCH, R. D. Principles for management of aquatic breeding amphibians. *Journal of Wildlife Management*. vol. 64. pp. 615-631. 2000.

SOARES, LÚCIO de CASTRO. "Limites meridionais e Orientais da área de ocorrência da floresta amazônica em território brasileiro". *Revista Brasileira de Geografia*, ano 15, vol. 1. pp. 3-122, 1953.

SOUZA, L. O. I.; COSTA, J. M., OLDRINI, B. B. 2007. Odonata. On-line: Identificação de larvas de Insetos Aquáticos do Estado de São Paulo. Froelich, C.G. (org.). Available from: http://sites.ffclrp.usp.br/aquadoce/guia_online (accessed 20 August 2014).

SCHIESARI, L. C. 2004. *Performance tradeoffs across resource gradients in anuran larvae*. Tese de Doutorado. The University of Michigan, Department of Ecology and Evolutionary Biology *Ann Arbor*, Michigan, USA. pp 278.

SCHIESARI, L. C. Pond canopy cover: a resource gradient for anuran larvae. *Freshwater Biology*, vol. 51: pp 412-423, 2006.

SCHIESARI, L.; GRILLITSCH, B.; GRILLITSCH, H. Biogeographic biases in research and their consequences for linking amphibian declines to pollution. *Conservation Biology*, vol. 21(2): pp 465-471, 2007.

SCHIESARI, L. C.; WERNER, E. E.; GEORGE, W. K. Carnivory and resource-based niche differentiation in anuran larvae: implication for food web and experimental ecology. *Freshwater Biology*, vol. 54: pp 572-586, 2009.

SCHIESARI, L. Ecologia e Ecotoxicologia de ambientes aquáticos em uma paisagem agroindustrial. 2010. Dissertação (Livre-Docente em Ecologia) na Escola de Artes, Ciências e Humanidades da Universidade de São Paulo.

SCHIESARI, L. C. & GRILLITSCH, B. The ecotoxicology of agroindustrial farming in Southern Amazon. In. 6th SETAC World Congress. 2012.

SCHIESARI, L.; WAICHMAN, A.; BROCK, T.; ADAMS, C.; GRILLITSCH, B. Pesticide use and biodiversity conservation in the Amazonian agricultural frontier. *Philosophical Transactions of the Royal Society Biological* vol. 368, 2013.

SCHOENLY, K. G.; BARRION, J. A. T.; HARRIS, M. K.; BOTRELL, D. G. Analysis of invertebrate biodiversity in a Philippine farmer's irrigated field. *Environmental Entomology*. vol. 27. pp. 1125-1136. 1998.

SCHLAEPFER, M. A.; RUNGE, M. C.; SHERMAN, P. W. "Ecological and evolutionary traps." *Trends in Ecology & Evolution*. vol. 17(10). pp. 474-480. 2002.

STTLE, W. H.; ARIAWAN, H.; ASTUTI, E. T.; CAHYANA, W. Managing tropical rice pests through conservation of generalist enemies and alternative prey. *Ecology*. vol.77. pp. 1975-1988. 1996.

STUART, S. N.; CHANSON, J. S.; COX N. A.; YOUNG, B. E.; RODRIGUES, A. S. L.; FISCHMAN, D. L.; WALLER, R. W. Status and trends of amphibian declines and extinctions worldwide. *Science*, vol. 306: pp 1783-1786, 2004.

SCHUYTEMA, G. S.; NEBEKER, A. V. Comparative toxicity of ammonium and nitrate compounds to pacific treefrog and African clawed frog tadpoles. *Environmental Toxicological Chemical*. vol. 18. pp. 2251-2257. 1999.

SCHMUTZER, A. C.; GRAY, M. J.; BURTON, E. C.; MILLER, D. L. Impacts of cattle on amphibian larvae and the aquatic environment. *Freshwater Biology*. vol. 53. pp. 2613-2625. 2008.

SCHROER, A. F. W.; BELGERS, J. D. M.; BROCK, T. C. M.; MATSER, A. M. MAUND, S. J.; VAN den BRINK. Comparison of laboratory single species and field population-level effects of the pyrethroid insecticide – cyhalothrin on freshwater invertebrates. *Environmental Contamination and Toxicology*. vol. 46. pp. 324-335. 2004.

SMITH, M. J.; SCHREIBER, E. S. G.; SCROGGIE, M. P.; KOHOUT, M.; OUGH, K. POTTS, J.; LENNIE, R.; TURNBULL, D.; JIN, C.; CLANCY, T. Association between anuran tadpoles and salinity in a landscape mosaic of wetlands impacted by secondary salinization. *Freshwater Biology*. vol. 52(1). pp. 75-84. 2006.

VANDERMEER, J & PERFECTO, I. The agricultural matrix and a future paradigm for conservation. *Conservation Biology*, vol. 21 pp 274-277, 2006.

TILMAN, D.; FARGIONE, J.; WOLFF, B.; D'ANTONIO, C.; DOBSON, A.; HOWARTH, R. Forecasting agriculturally driven global environmental change. *Science*. vol 292. pp. 281-284. 2001.

THOMAS, S.; GAISER, E. E.; TOBIAS, F. A. Effects of shading on calcareous benthic periphyton in a short hydroperiod oligotrophic wetland (Everglades, FL, USA). *Hydrobiologia*. vol. 569. pp. 209-221. 2006.

TSCHARNTKE, T.; KLEIN, A. M.; KRUESS, A.; INGOLF, S. D.; THIES, C. Landscape perspective on agricultural intensification and biodiversity – ecosystem service management. *Ecology Letters*. vol. 8. pp. 857-874. 2005.

VASCONCELOS, A. M. Avaliação dos efeitos do agrotóxico Vertimec 18CE sobre girinos de *Lithobates catesbeianus* (Amphibia, Anura, Ranidae). 2014. Dissertação (Doutorado). Universidade de São Paulo.

VAN DIJK, T. C.; VAN STAALDUINEN, M. A.; VAN DER SLUIJS, J. P. Macro-invertebrate decline in surface water polluted with imidacloprid. *Plos one*. vol. 8. pp. 1-10. 2013.

XIANBIN, L.; SHAONAN, L.; SHAOYING, L.; GUONIAN, Z. Lethal effect and in vivo genotoxicity of profenofos to chinese native amphibian (*Rana spinosa*) tadpoles. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. vol. 59 (3). pp. 478-483. 2010.

ZAFAR, M. I.; BELGERS, J. D. M.; WIJNGAARDEN, R. P. A.; MATSER, A. Ecological impacts of time-variable exposure regimes to the fungicide azoxystrobin on freshwater communities in outdoor microcosms. *Ecotoxicology*. vol. 21. pp. 1024-1038. 2012.

KEDWARDS, T. J.; MAUND, S. J.; CHAPMAN, P. F. Community level analysis of ecotoxicological field studies: I. Biological Monitoring. *Environmental Toxicology and Chemistry*. vol. 18(2). pp. 149-157. 1999.

KERBY, J. L.; RICHARDS-HRDLIČKA, K. L.; STORFER, A.; SKELLY, D. An examination of amphibian sensitivity to environmental contaminants: are amphibians poor canaries? *Ecology Letters*. vol. 12 pp 1-8. 2009.

KEFFORD, J. B.; ZALIZNIAK, L.; DUNLOP, E. J.; NUGEGODA, D.; CHOY, S. How are macroinvertebrates of slow flowing lotic systems directly affected by suspended and deposited sediments? *Environmental Pollution*. vol. 158 pp 543-550. 2010.

KELSO, B. H.L; GLASS, D.M.; SMITH, R. V. Toxicity of nitrite in freshwater invertebrates. In. WILSON, W. S.; BALL, A. S.; HILTON, R. H. ed. Managing risks of nitrites to human and the environmental. Cambridge: *Royal Society of Chemistry*. pp. 88-175. 1999.

KNUTSON, M. G.; RICHARDSON, W. B.; REINEKE, D. M.; GRAY, B. R.; PARMELLE, J.R.; WEICK, S. E. Agricultural ponds support amphibian populations. *Ecological Application*. vol. 14 pp 1950-1957. 2004.

WAY, J. M.; NEWMAN, J. F.; MOORE, N. W.; KNAGGS, F. W. Some Ecological Effects of the Use of Paraquat for the Control of Weeds in Small Lakes. *British Ecological Society*. vol. 8(2). pp. 509-532. 1971.

WAY, J.M. & HEONG, K.L. The role of biodiversity in the dynamics and management of insect pest of topical irrigated rice – a review. *Bull Entomology Research*. vol. 84. pp. 567-587. 1994.

WELBORN, G. A.; SKELLY, D. K.; WERNER, E. E. Mechanisms creating community structure across a freshwater habitat gradient. *Annual Review of Ecology*, vol. 27: pp 337-363, 1996.

WELLS, K. D. ed. The Ecology and Behavior of Amphibians. London. The University of Chicago Press. 2007.

WIJNGAARDEN, R. P. A.; BELGERS, D. J. M.; ZAFAR, M. I.; MATSER, A. M.; BOERWINKEL, M.C.; ARTS, G.H.P. Chronic aquatic effect assessment for the fungicide azoxystrobin. *Environmental Toxicology and Chemistry*. vol. 33(12). pp. 2775-2785. 2014.

WOOD, S. L. R & RICHARDSON, J. S. Impact of sediment and nutrient inputs on growth and survival of tadpoles of the Western Toad. *Freshwater Biology*. vol. 54. pp. 1120-1134. 2009.

WOIN, P. Short and long term effects of the pyrethroid insecticides fenvalerate on an invertebrate pond community. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. vol 41. pp. 137-156. 1998.