

RESSALVA

Atendendo solicitação do autor,
o texto completo desta tese será
disponibilizado somente a partir
de 01/03/2025



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
Câmpus de São José do Rio Preto

Wadson Rodrigues Rezende

**Avaliação de células imunológicas, do baço e do testículo de
Leptodactylus fuscus (Anura) em diferentes cenários
(área preservada, agricultura e área urbana).**

São José do Rio Preto
2023

Wadson Rodrigues Rezende

**Avaliação de células imunológicas, do baço e do testículo de
Leptodactylus fuscus (Anura) em diferentes cenários
(área preservada, agricultura e área urbana).**

Tese apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Biodiversidade, junto ao Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de São José do Rio Preto.

Financiadora: CAPES

Orientador: Prof. Dr. Classius de Oliveira

São José do Rio Preto
2023

Rezende, Wadson Rodrigues.

Avaliação de células imunológicas, do baço e do testículo de *Leptodactylus fuscus* (Anura) em diferentes cenários (área preservada, agricultura e área urbana). / Wadson Rodrigues Rezende. -- São José do Rio Preto, 2023
120 p.: : il., tabs.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto

Orientador: Classius de Oliveira

1. Anuros. 2. Imunidade celular. 3. Reprodução. 4. Antropização. 5. Poluição ambiental. I. Título.

Wadson Rodrigues Rezende

**Avaliação de células imunológicas, do baço e do testículo
de *Leptodactylus fuscus* (Anura) em diferentes cenários
(área preservada, agricultura e área urbana).**

Tese apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Biodiversidade, junto ao Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de São José do Rio Preto.

Financiadora: CAPES

Comissão Examinadora

Prof. Dr. Classius de Oliveira
UNESP – Câmpus de São José do Rio Preto
Orientador

Prof^a. Dr^a. Fernanda Cristina Alcantara dos Santos
UFG – Campus Samambaia, Goiânia - GO

Prof^a. Dr^a. Juliane Silberschmidt Freitas
UEMG – Câmpus de Ituiutaba - MG

Prof^a. Dr^a. Daniela de Melo e Silva
UFG – Campus Samambaia, Goiânia – GO

Prof. Dr. Carlos Eurico dos Santos Fernandes
UFMS- Campo Grande - MS

São José do Rio Preto
01 de março de 2023

Dedico a todos aqueles que ao meu redor, mesmo não entendendo o que faço, sempre estiveram ao meu lado. Dedico também a criança cientista que sempre viveu em mim.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, minha mãe Zoraide e meu pai Eliton, tenho em mim não só a vida que eles me deram, mas o infinito amor, apoio, confiança, e uma infinidade de outras coisas que renderiam outra tese. Cada palavra escrita aqui, antes de mais nada é dedicada a dar orgulho a eles.

Ao meu orientador Prof Dr. Classius de Oliveira e a Dr^a Lilian Franco-Belussi, mas antes mesmo a eles, a minha eterna orientadora Prof^a Dr^a Lia Raquel de Souza Santos, é difícil por em palavras o quanto eles me inspiraram, me transformaram, o quanto o mundo foi ampliado e minha visão se tornou vasta com o impulso que eles me deram.

Dedico mais ainda a todos os amigos, os de dentro e os que estão além dos muros da faculdade que levarei sempre comigo. Ao Tainã por estar comigo sempre por ser mais que um irmão, me acompanhando desde a entrada no primeiro laboratório, e por ser alguém que eu me inspiro. Ao Bruno, que se ele eu jamais conseguiria finalizar esse trabalho, sempre solícito. A Maysa, não só nossa técnica, mas uma pessoa colocada em minha vida para me ancorar nos dias difíceis e também alegrar nas inúmeras horas de laboratório. Dedico também a Rinneu, Rhayane, Gabriel, Luciana, Lara Zácari, Lara Gregorio, Erick, Ariane, Joice, e a todos que me aguentaram nesses últimos anos e que me ajudaram a seguir.

Ao IBILCE e ao Instituto Federal Goiano - Campus Rio Verde-GO, que além de instituições de ensino exímias, foram mais que essenciais na minha formação de vida e profissional.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES: 001 Wadson R.R) do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq: 304552/2019-4 – Classius O.) e da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP: 2018/01078-7 – Classius O.) aos quais agradeço, sem o auxílio financeiro se torna impossível produzir ciência de qualidade no Brasil.

*“Por trás da montanhas o sol vai deitar
A luz dessa torre não é mais meu lar
Eu acendo a fogueira e durmo no chão
Trocando o abrigo pela vastidão
Ouço o chamado de terras além
Que revelam as trilhas dos dias que vem
E eu sigo vagando nos dias que vem
Tão pouca comida e água pra mim
O corpo diz “não”, mas a estrada diz “sim”
Eu sou tão pequeno na imensidão
Que o único alento vem de uma canção
Sinto o chamado de terras além
Procure guiar-me nos dias que vem
Prometam ajudar-me com os dias que vem
Enfrento a aventura com esse refrão
Nem todos que vagueiam perdidos estão
Não importa a tristeza nem a solidão
Nem todos que vagueiam perdidos estão.”*

Canção adaptada da obra de J.R.R.
Tolkien

RESUMO

A atividade humana gera uma variedade de resíduos químicos (e.g. agroquímicos, fertilizantes agrícolas, metabólitos de fármacos, resíduos da queima de combustíveis, metais pesados) que são lançados no meio ambiente. Alguns desses compostos apresentam grande potencial de desregulação endócrina, interferindo na sinalização normal do organismo. Os anfíbios, por terem características particulares, são sensíveis à contaminação ambiental, que pode gerar efeitos deletérios em seus sistemas, em especial o imunológico e reprodutor. Tem-se proposto uma inter-relação entre as respostas imunes e a reprodutivas, de forma que a resposta de um pode alterar a resposta do outro. Nesse contexto, este trabalho teve por objetivo, avaliar como diferentes paisagens antropizadas (área agrícola e urbana) alteram a imunidade celular e a morfologia esplênica, bem como a morfometria testicular de *Leptodactylus fuscus*; e se há uma inter-relação entre suas respostas. Foram analisados biomarcadores morfométricos imunológicos (contagem diferencial de leucócitos, densidade estrutural volumétrica e quantificação de mastócitos do baço) e reprodutivos (área locular e dos cistos espermatogênicos), e índice de massa escalonar (IME), para estimar a condição corporal, em anuros coletados em diferentes cenários (cultivo de soja, cana, indústria sucroalcooleira, área urbana e unidade de conservação). Com esses marcadores, foram realizadas análises comparativas correlacionais, visando estabelecer a relação entre os sistemas. Com relação aos marcadores imunes, no baço dos animais em áreas impactadas, houve uma diminuição da polpa branca e um aumento da polpa vermelha, e na frequência de mastócitos e das células pigmentares (melanomacrófagos). Já os leucócitos apresentaram variação na composição dos diferentes tipos celulares, havendo um aumento de linfócitos e neutrófilos e diminuição de basófilos, eosinófilos e monócitos. Quanto à morfometria testicular, os animais de ambientes antrópicos apresentaram um aumento dos cistos espermatogênicos, de modo que, cada cenário exerceu pressões diferentes nas proporções dos cistos. O IME evidenciou um maior número de correlações positivas (ainda que fracas) com parâmetros reprodutivos (área locular, e cistos de espermatogônias e espermatócitos). Ainda que não tenhamos encontrados relações diretas entre os marcadores dos sistemas, os animais por apresentarem boas condições corporais aparentemente podem manter tanto uma boa resposta reprodutiva quanto uma resposta imune sistêmica, nos ambientes antrópicos. Essas respostas podem ser produto de adaptações que espécies generalistas podem apresentar, capacitando-as a se manter nesses ambientes alterados.

Palavras-chave: Anuros. Imunidade celular. Morfometria esplênica. Morfometria testicular. Poluição ambiental.

ABSTRACT

Human activity generates a variety of chemical residues (e.g. agrochemicals, agricultural fertilizers, drug metabolites, fuel combustion residues, heavy metals) that are released into the environment. Some of these compounds have great potential for endocrine disruption, interfering with the body's normal signaling. Amphibians, due to their particular characteristics, are sensitive to environmental contamination, which can have deleterious effects on their systems, especially the immune and reproductive systems. An interrelationship between immune and reproductive responses has been proposed, so that the response of one can alter the response of the other. In this context, this work aimed to evaluate how different anthropized landscapes (agricultural and urban areas) alter cellular immunity and splenic morphology, as well as testicular morphometry of *Leptodactylus fuscus*; and whether there is an interrelationship between your responses. Immunological morphometric biomarkers (differential leukocyte count, volumetric structural density and quantification of splenic mast cells) and reproductive (locular area and spermatogenic cysts area) and scaled mass index (SMI) were analyzed to estimate body condition in anurans collected in different scenarios (soybean, sugarcane cultivation, sugar and alcohol industry, urban area and conservation unit). With these markers, correlational comparative analyzes were performed, aiming to establish the relationship between the systems. Regarding immune markers, in the spleen of animals in impacted areas, there was a decrease in white pulp and an increase in red pulp, and in the frequency of mast cells and pigment cells (melanomacrophages). Leukocytes, on the other hand, showed variation in the composition of different cell types, with an increase in lymphocytes and neutrophils and a decrease in basophils, eosinophils and monocytes. As for testicular morphometry, animals from anthropic environments showed an increase in spermatogenic cysts, so that each scenario exerted different pressures on the proportions of cysts. The IME showed a greater number of positive correlations (albeit weak) with reproductive parameters (locular area, and spermatogonial and spermatocyte cysts). Although we did not find direct relationships between the markers of the systems, the animals, because they presented good body conditions, apparently can maintain both a good reproductive response and a systemic immune response, in anthropic environments. These responses may be the product of adaptations that generalist species may present, enabling them to maintain themselves in these altered environments.

Keywords: Anurans. Cellular immunity. Splenic morphometry. Testicular morphometry. Environment pollution.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- (INTRODUÇÃO) Figura 1:** Morfologia do baço de *Leptodactylus fuscus*: Em **A** grande aumento do órgão, sendo possível evidenciar em **B** a disposição difusa da (polpa branca) corado mais intensamente, bem como a distribuição da polpa vermelha. Em **C** ressalta-se a capsula de tecido conjuntivo, que envolve externamente o órgão (ponta de seta), e também a presença de melanomacrófagos (seta), na polpa vermelha. **Pb** – Polpa branca; **Pv**- Polpa vermelha. Coloração H-E. 6
- (INTRODUÇÃO) Figura 2:** Leucócitos de *Leptodactylus fuscus*. **A**- linfócito; **B**- neutrófilo; **C**- basófilo; **D**- eosinófilo; **E**- Monócito. Coloração azul de toluidina com boráx. 8
- (INTRODUÇÃO) Figura 3:** Arquitetura testicular de *L. fuscus*. Em **A** grande aumento do órgão, em **B** ressalta-se os lóculos seminíferos (circunscritos em preto), esses lóculos se apresentando formatos arredondados/ovalados. Em **C**, ampliação da unidade seminífera evidenciando os cistos germinativos em diferentes estágios de diferenciação, retidos pelas células de Sertoli (setas pretas). **Sg**- espermatogônias; **Sc**- espermátocitos; **Sm**- espermátides; **Sz**- espermatozoides. Coloração H-E 10
- (MATERIAL E MÉTODOS: GERAL) Figura 4:** Imagens dos pontos de coletas de *Leptodactylus fuscus*: **A**- Unidade de conservação (Parque Nacional das Emas, Mineiros-GO); **B**- plantação de soja (Rio Verde- GO); **C**- plantação de cana associada a usina (Paraúna-GO); **D**- plantação de cana (São José do Rio Preto- SP); **E**- ambiente urbano (São José do Rio Preto- SP). Fonte: Google Earth. 15
- (MATERIAL E MÉTODOS: GERAL) Figura 5:** Caracterização dos ambientes amostrados: **A**- Unidade de conservação (Parque Nacional das Emas, Mineiros-GO); **B**- plantação de soja (Rio Verde- GO); **C**- plantação de cana associada a usina (Paraúna-GO); **D**- plantação de cana (São José do Rio Preto- SP); **E**- ambiente urbano (São José do Rio Preto- SP). Classificação de acordo com o Google Earth para os anos de 2018, 2019 e 2020. Raio de 2km 16
- (CAPÍTULO 1) Figura 1** – Imagens dos pontos de coletas de *Leptodactylus fuscus*: **A**- Unidade de conservação (Parque Nacional das Emas, Mineiros-GO); **B**- plantação de soja (Rio Verde- GO); **C**- plantação de cana associada a usina (Paraúna-GO); **D**- plantação de cana (São José do Rio Preto- SP); **E**- ambiente urbano (São José do Rio Preto- SP). Fonte: Google Earth. 48
- (CAPÍTULO 1) Figura 2** – Caracterização dos ambientes amostrados: **A**- Unidade de conservação; **B**- SOJA_GO; **C**- CANA_GO; **D**- CANA_SP; **E**- URBANO_SP. Classificação de acordo com o Google Earth para os anos de 2018, 2019 e 2020. Raio de 2km. 49

(CAPÍTULO 1) **Figura 3** – Morfologia do baço de *L. fuscus* na unidade de 50
conservação: Em **A** grande aumento do órgão, sendo possível em **B** evidenciar
a disposição difusa da (polpa branca) corado mais intensamente, bem como a
distribuição da polpa vermelha. Em **C** ressalta-se a capsula de tecido
conjuntivo, que envolve externamente o órgão (ponta de seta), e também a
presença de melanomacrófagos (seta) e um mastócito (**D**), na polpa vermelha.
Pb – Polpa branca; **Pv**- Polpa vermelha. Coloração H-E e azul de toluidina com
boráx.

(CAPÍTULO 1) **Figura 4** – Composição estrutural do baço de *L. fuscus*: em **A**, 50
o percentual de cada componente considerando a análise agrupada; em **B**, os
percentuais considerando os cenários amostrados de maneira individualizada.
MMc - Melanomacrófagos. **UC**- Unidade de conservação; **Antrop_GO** –
Antropizado_GO; **Antrop_SP** – Antropizado_SP; **SJ_GO** – Soja_GO; **CN_GO** –
Cana_GO; **CN_SP** – Cana_SP; **UR_SP** – Urbano_SP.

(CAPÍTULO 1) **Figura 5** – Composição estrutural do baço de *L. fuscus*: em 51
A,C,E e **G**, o percentual de cada componente considerando a análise
agrupada; em **B,D,F**,e **H** os percentuais considerando os cenários amostrados
de maneira individualizada. **MMc** - Melanomacrófagos. **UC**- Unidade de
conservação; **Antrop_GO** – Antropizado_GO; **Antrop_SP** – Antropizado_SP;
SJ_GO – Soja_GO; **CN_GO** – Cana_GO; **CN_SP** – Cana_SP; **UR_SP** –
Urbano_SP.

(CAPÍTULO 1) **Figura 6** – Frequência de mastócito no baço de *L. fuscus*: em 52
A, medias considerando a análise agrupada; em **B**, a frequência para os
cenários amostrados de maneira individualizada. **UC**- Unidade de
conservação; **Antrop_GO** – Antropizado_GO; **Antrop_SP** – Antropizado_SP;
SJ_GO – Soja_GO; **CN_GO** – Cana_GO; **CN_SP** – Cana_SP; **UR_SP** –
Urbano_SP. O “*” evidencia a diferença estatística em comparação a unidade
de conservação ($p<0.05$), os dados apresentados em média $\pm$ SE.

(CAPÍTULO 1) **Figura 7** – Área de melanina no baço de *L. fuscus*: em **A**, as 52
medias considerando a análise agrupada; em **B**, os valores encontrados nos
cenários amostrados de maneira individualizada. **UC**- Unidade de
conservação; **Antrop_GO** – Antropizado_GO; **Antrop_SP** – Antropizado_SP;
SJ_GO – Soja_GO; **CN_GO** – Cana_GO; **CN_SP** – Cana_SP; **UR_SP** –
Urbano_SP. O “*” evidencia a diferença estatística em comparação a unidade
de conservação ($p<0.05$), os dados apresentados em média $\pm$ SE.

(CAPÍTULO 1) **Figura 8** – Percentual de leucócitos de *L. fuscus*: as letras **A**, 54
C, **E**, **G** e **I** representam os dados tratados de forma agrupada, já em **B**, **D**, **F**,
H e **J** os dados estão representados de maneira separada. **UC**- Unidade de
conservação; **Antrop_GO** – Antropizado_GO; **Antrop_SP** – Antropizado_SP;
SJ_GO – Soja_GO; **CN_GO** – Cana_GO; **CN_SP** – Cana_SP; **UR_SP** –
Urbano_SP. O “*” evidencia a diferença estatística em comparação a unidade
de conservação ($p<0.05$). Os dados apresentados em média $\pm$ SE.

(CAPÍTULO 2) **Figura 1**: Imagens dos pontos de coletas de *Leptodactylus* 87
fuscus: **A**- Unidade de conservação (Parque Nacional das Emas, Mineiros-
GO); **B**- plantação de soja (Rio Verde- GO); **C**- plantação de cana associada
a usina (Paraúna-GO); **D**- plantação de cana (São José do Rio Preto- SP); **E**-
ambiente urbano (São José do Rio Preto- SP). Fonte: Google Earth.

(CAPÍTULO 2) **Figura 2:** Caracterização dos ambientes amostrados: **A-** 88
Unidade de conservação; **B-** SOJA_GO; **C-** CANA_GO; **D-** CANA_SP; **E-**
URBANO_SP. Classificação de acordo com o Google Earth para os anos de
2018-2020. Raio de 2km.

(CAPÍTULO 2) **Figura 3:** Arquitetura testicular de *L. fuscus*. Em **A** os lóculos 88
seminíferos circunscritos em preto, para nossa amostra, esses lóculos se
apresentaram com formas arredondadas com área média de
 $23167,8 \pm 1678,7 \mu\text{m}^2$. Em **B**, ampliação da unidade seminífera evidenciando os
cistos germinativos em diferentes estágios de diferenciação, retidos pelas
células de Sertoli (setas pretas). **Sg-** espermatogônias; **Sc-** espermátocitos;
Sm- espermátides; **Sz-** espermatozoides. Coloração H-E

(CAPÍTULO 2) **Figura 4:** Área média dos parâmetros morfométricos 89
testiculares de *L. fuscus*: as letras **A, C, E, G e I** representam os dados tratados
de forma agrupada, já em **B, D, F, H e J** os dados estão representados de
maneira separada. **UC-** Unidade de conservação; **Antrop_GO** –
Antropizado_GO; **Antrop_SP** – Antropizado_SP; **SJ_GO** – Soja_GO; **CN_GO**
– Cana_GO; **CN_SP** – Cana_SP; **UR_SP** – Urbano_SP. O “*” evidencia a
diferença estatística em comparação a unidade de conservação ($p < 0.05$). Os
dados apresentados em média $\pm$ SE.

(CAPÍTULO 3) **Figura 1:** Correlograma dos marcadores imunes e 113
reprodutivos. **IME-** Índice de massa escalonar; **Gonia** – espermatogônia; **Cito**
– espermátocito; **Sptz** - espermatozoide; **Tide**– espermátide; **Mast_Test**–
mastócito testicular; **Mast_baco**- mastócito no baco; **Pig_Baco**- pigmentação
no baco; **P_Branca**– Polpa Branca; **P_Vermelha**– Polpa vermelha; **Vasos**–
vasos sanguíneos; **Melano**– melanócitos; **Linf** – linfócito; **Neut**– neutrófilos;
Baso– Basófilos; **Eosi**– Eosinófilos; **Mono**– Monócitos.

(CAPÍTULO 3) **Figura 2** – Análise dos componentes principais com dados 114
agrupados em **A**, e separados em **B**. **Vetores:** **SMI-** Índice de massa
escalonar; **Gonia** – espermatogônia; **Cito** – espermátocito; **Tide**–
espermátide; **Sptz** - espermatozoide; **Mast_Test**– mastócito testicular;
Mast_baco- mastócito no baco; **Pig_Baco**- pigmentação no baco; **P_Branca**–
Polpa Branca; **P_Vermelha**– Polpa vermelha; **Vasos**– vasos sanguíneos;
Melano– melanócitos; **Linf** – linfócito; **Neut**– neutrófilos; **Baso**– Basófilos;
Eosi– Eosinófilos; **Mono**– Monócitos. **Grupos:** **UC** – Unidade de conservação;
SJ_GO – Soja_GO; **CN_GO**- Cana_GO; **CN_SP**- Cana_SP; **UR_SP**-
Urbano_SP.

LISTA DE TABELAS

(CAPÍTULO 1) Tabela 1 – Proporções detalhadas dos tipos de uso de solo encontrados nos pontos amostrados num raio de 2km.	55
(CAPÍTULO 1) Tabela 2 – Análises das amostras de água coletadas nos diferentes ambientes estudados. nq – não quantificado; LQ/Faixa - limite de quantificação; UC – unidade de conservação.	56
(CAPÍTULO 1) Tabela 3 – Parâmetros físico-químicos das amostras de água das proximidades dos ambientes onde foram coletados os indivíduos de <i>L. fuscus</i> .	58
(CAPÍTULO 1) Tabela 4 – Média dos valores encontrados nos parâmetros biométricos. CRC – Comprimento rostro-cloacal; ISS – Índice esplenossomático; IME – índice de massa escalonar. Média ± SE.	59
(CAPÍTULO 1) Tabela 5 – Valores estatísticos encontrados nos parâmetros biométricos, considerando como significativo $p < 0.05$. CRC – Comprimento rostro-cloacal; ISS – Índice esplenossomático; IME – índice de massa escalonar UC - Unidade de conservação; Antrop_GO – Antropizado_GO; Antrop_SP – Antropizado_SP; SJ_GO – Soja_GO; CN_GO – Cana_GO; CN_SP – Cana_SP; UR_SP – Urbano_SP.	60
(CAPÍTULO 1) Tabela 6 - Média dos valores encontrados para os componentes estruturais do baço. Média ± SE.	61
(CAPÍTULO 1) Tabela 7 - Valores estatísticos encontrados os componentes estruturais do baço, considerando como significativo $p < 0.05$. UC - Unidade de conservação; Antrop_GO – Antropizado_GO; Antrop_SP – Antropizado_SP; SJ_GO – Soja_GO; CN_GO – Cana_GO; CN_SP – Cana_SP; UR_SP – Urbano_SP.	62
(CAPÍTULO 1) Tabela 8 - Valores estatísticos encontrados os componentes estruturais do baço, considerando como significativo $p < 0.05$. UC - Unidade de conservação; Antrop_GO – Antropizado_GO; Antrop_SP – _SP; SJ_GO – Soja_GO; CN_GO – Cana_GO; CN_SP – Cana_SP; UR_SP – Urbano_SP.	63
(CAPÍTULO 2) Tabela 1 – Parametros climáticos médios dos ambientes amostrados, referentes aos respectivos anos de coleta. UC - Unidade de conservação.	91
(CAPÍTULO 2) Tabela 2 – Proporções dos tipos de uso do solo num raio de 2km dos pontos amostrados. UC - Unidade de conservação.	91
(CAPÍTULO 2) Tabela 3 – Análises das amostras de água coletadas nos diferentes ambientes estudados. nq – não quantificado; LQ/Faixa - limite de quantificação; UC – unidade de conservação.	92

(CAPÍTULO 2) Tabela 4 – Parâmetros físico-químicos das amostras de água das proximidades dos ambientes onde foram coletados os indivíduos de <i>L. fuscus</i> .	94
(CAPÍTULO 2) Tabela 5 – Média dos valores encontrados nos parâmetros biométricos. CRC – Comprimento rostro-cloacal; IGS – Índice gonadossomático. Média $\pm$ SE.	94
(CAPÍTULO 2) Tabela 6 - Valores estatísticos encontrados nos parâmetros biométricos, considerando como significativo $p < 0.05$. CRC – Comprimento rostro-cloacal; IGS – Índice gonadossomático; UC - Unidade de conservação; Antrop_GO – Antropizado_GO; Antrop_SP – Antropizado_SP; SJ_GO – Soja_GO; CN_GO – Cana_GO; C_SP – Cana_SP; UR_SP – Urbano_SP.	95
(CAPÍTULO 2) Tabela 7 - Média da área dos parâmetros morfométricos testiculares. A.LOC – área locular; Sg - espermatogônias; Sc - espermátocitos; Sm - espermátides; Sz - espermatozoides. Média $\pm$ SE.	96
(CAPÍTULO 2) Tabela 8 - Valores estatísticos encontrados para os parâmetros morfométricos testiculares, considerando como significativo $p < 0.05$. A.LOC – área locular; Sg - espermatogônias; Sc - espermátocitos; Sm - espermátides; Sz : espermatozoides; UC - Unidade de conservação; Antrop_GO – Antropizado_GO; Antrop_SP – Antropizado_SP; SJ_GO – Soja_GO; CN_GO – Cana_GO; CN_SP – Cana_SP; UR_SP – Urbano_SP.	97
Apêndice A – Proporções detalhadas dos tipos de uso de solo encontrados nos pontos amostrados num raio de 2km.	143
Apêndice B – Análises das amostras de água coletadas nos diferentes ambientes estudados. nq – não quantificado; LQ/Faixa - limite de quantificação; UC – unidade de conservação.	144
Apêndice C – Parâmetros físico-químicos das amostras de água das proximidades dos ambientes onde foram coletados os indivíduos de <i>L. fuscus</i> .	146
Apêndice D – Valores estatísticos da correlação entres os marcadores imunes e reprodutivos realizadas no Capítulo 3. Em A valor de p , sendo considerado significativo $p \leq 0.05$; em B os valores de r. IME- Índice de massa escalonar; Gonía – espermatogônia; Cito – espermátócito; Tide– espermátide; Sptz - espermatozoide; Mast_Test– mastócito testicular; Mast_baco- mastócito no baco; Pig_Baco- pigmentação no baco; P_Branca– Polpa Branca; P_Vermelha– Polpa vermelha; Vasos– vasos sanguíneos; Melano– melanócitos; Linf – linfócito; Neut– neutrófilos; Baso– Basófilos; Eosi– Eosinófilos; Mono– Monócitos.	147
Apêndice E – Valore estáticos significativos da análise dos componentes principais realizadas no Capítulo 3. Legenda: Vetores: Area_loc: área locular; Cito – espermátócito; SMI- Índice de massa escalonar; P_Vermelha– Polpa vermelha; Gonía – espermatogônia; Tide– espermátide; Sptz - espermatozoide; Neut– neutrófilos; Vasos– vasos sanguíneos; Eosi– Eosinófilos; P_Branca– Polpa Branca; Melano – melanócitos; Pig_Baco- pigmentação no baco; Baso - basófilo.	148

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Antrop_GO	Antropizado – GO
Antrop_SP	Antropizado - SP
CRC	Comprimento rostro-cloacal
DEs	Desreguladores endócrinos
DEV	Densidade estrutural volumétrica
H-E	Hematoxilina-eosina
ICC	Índices de condições corporais
IGS	Índice gonadossomático
IME	Índice de massa escalonar
ISS	Índice esplenossomático
MMc	Melanomacrófago
Sc	Espermátocios
Sg	Espermatogônias
Sm	Espermátides
Sz	Espermatozoides
UC	Unidade de conservação

LISTA DE SÍMBOLOS

mm	Milímetro
g	Gramma
g/L	Gramma por litro
μm	Micrómetro
μm²	Micrómetros cuadrados
Km	Quilómetros

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	1
1.1	Alterações ambientais não naturais: pressões antrópicas e seus impactos	1
1.2	Anuros e cenários antrópicos	2
1.3	Espécie modelo e biomarcadores	4
1.3.1	Baço	5
1.3.2	Sangue: leucócitos	6
1.3.3	Sistema reprodutor masculino: testículos	8
1.4	Poluição antrópica, sistema imune, sistema reprodutor: interações	11
2	OBJETIVOS	12
3	MATERIAL E METODOS: GERAL	13
3.1	Ambientes amostrados	13
3.2	Análises de água	16
3.3	Licenças e procedimentos éticos	17
4	RESULTADOS	17
	Capítulo 1	18
	Capítulo 2	64
	Capítulo 3	73
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS	115
6	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	116
7	APÊNDICES	143

1. INTRODUÇÃO

1.1. Alterações ambientais não naturais: pressões antrópicas e seus impactos

As modificações nas paisagens naturais, devido às atividades humanas, infringem forte pressão as comunidades de organismos. Atividades como a agricultura, agroindústria e a expansão urbana, causam fragmentação de habitats, demandam grandes recursos hídricos e geram inúmeros resíduos, que sem o devido tratamento, impactam diversos níveis ecológicos (Ehrenfeld, 2000; McKinney, 2002; Foley et al., 2005; Grimm et al., 2008; Nellemann et al., 2009; Schiesari e Grillitsch, 2011; Hansen et al., 2012; Newbold et al., 2015; Newbold, 2018; Beckmann et al., 2019; Cordier et al., 2021; Pongratz et al., 2021).

Cada um desses cenários antrópicos apresenta características distintas, podendo influenciar os ecossistemas, as atividades agrícolas necessitam de grandes extensões de terras, do território brasileiro até o ano de 2021 cerca de 84 mil hectares foi de área plantada, sendo soja e cana os plantios mais expressivos (CONAB, 2022a; IBGE, 2023; MapBiomass, 2023). As modificações geradas pela agricultura podem alterar propriedades do solo, aumentar a emissão de gases do efeito estufa (Pongratz et al., 2021) e, além disso, utilizam de uma gama de compostos químicos, os agroquímicos, aplicados para correções e fertilização dos solos e para o controle de pragas dos cultivos, contaminando em grande escala tanto os ambientes terrestres quanto os aquáticos (Clay, 2004; Cunha et al., 2008; Schiesari e Grillitsch, 2011).

Quando o foco são as indústrias, enfaticamente a sucroalcooleira, a quantidade de resíduos produzidos é inúmera, no Brasil a cana-de-açúcar foi o maior plantio em quantidade produzida em 2021 (cerca de 716 de toneladas) (IBGE, 2023), como a maior parte é destinada à produção de biocombustível, foi gerado cerca de 26,59 bilhões de litros de etanol (CONAB, 2022b). Durante a produção, há a aplicação ou formação de compostos xenobióticos, iniciando no processo de plantio, onde se aplicam diversos agroquímicos e fertilizantes orgânicos e inorgânicos (Cantarella e Rossetto, 2010; Schiesari e Grillitsch, 2011), sendo registrados 126 ingredientes ativos (MAPA, 2023) e principalmente a fertirrigação com a vinhaça, um subproduto formado durante a

produção de etanol (Rebelato et al., 2013; Fuess et al., 2018), rico em matéria orgânica, fosforo potássio e nitrogênio, cujo uso contínuo pode modificar a composição iônica do solo, e contaminar os leitos de água próximos (Filoso et al., 2015; Fuess et al., 2018; 2021; Acayaba et al., 2021). Ocorrem também outros resíduos ao longo do processo como, resíduos de graxas e lubrificantes dos maquinários, escoamento da limpeza, entre outros (Rebelato et al., 2013).

A urbanização é um dos cenários antrópicos mais complexos, estimar os resíduos por eles produzidas, se torna bastante complicado devido às inúmeras fontes de contaminação dos ambientes, principalmente aquáticos, que sofrem a influência de descargas a longo prazo de águas residuais domésticas e industriais, escoamento de águas pluviais, derrames acidentais e despejo direto de resíduos sólidos—(Mackintosh e Davis, 2013). A variedade de compostos encontrados é grande, desde farmacêuticos, hormônios, produtos cosméticos (Tijani et al., 2016; Da Silva et al., 2018; Matthiessen et al., 2018), metais pesados (Esbaugh et al., 2018; Gosset et al., 2020), subprodutos industriais como desinfetantes, resíduos de queima incompleta de combustíveis fósseis (Juhasz e Naidu, 2000; Zakaria et al., 2002; Srogi, 2007; Richardson, 2008; Bukowska et al., 2022), que mesmo após o tratamento da água ainda persistem (Rai, 2008; 2009; Wee et al., 2019; Jiang et al., 2020; Gosset et al., 2020).

Muitos desses resíduos provenientes dos diferentes tipos de poluição antrópica, podem ser considerados como potenciais desreguladores endócrinos (DEs) (Tijani et al., 2016; Da Silva et al., 2018), podendo interferir na sinalização fisiológica normal, de organismos que vivem nesses ambientes como os anfíbios (Kloas, 2002; Kolpin et al., 2002; Hayes et al., 2006; 2010a; Srogi, 2007; Richardson, 2008; Chang et al., 2009; Esbaugh et al., 2018; Da Silva et al., 2018; Matthiessen et al., 2018).

1.2. Anuros e cenários antrópicos

Os anfíbios formam um grupo bastante diverso e amplamente distribuído ao longo do mundo, sendo registradas 8524 espécies (AmphibiaWeb, 2022), só no Brasil são 1188 catalogadas, sendo 1144 da ordem Anura (Segalla et al., 2021). Entretanto, esses animais são extremamente vulneráveis a mudanças ambientais e estão constantemente expostos a algum tipo de pressão antrópica

e poluição química (Schiesari et al., 2007; Esbaugh et al. 2018; Da Silva et al., 2018; Jasrotia et al., 2021), o que contribui para o declínio mundial desses organismos (Blaustein et al., 2011; Catenazzi, 2015, Grant et al., 2020).

A susceptibilidade desses organismos se dá em função de um conjunto de características ecológicas e morfofuncionais muito particulares, como ovos sem casca, ciclo de vida bifásico, sendo o estágio larval aquático e o estágio adulto terrestre, na maioria das espécies (Blaustein et al., 1994; 2011; Hamlin e Guillette Jr, 2010; Yang et al., 2021), fazendo com que estejam expostos a poluentes provenientes desses dois tipos de ambientes (Schiesari et al., 2007; Tamschick et al., 2016a, 2016b). Além disso, possuem alta permeabilidade cutânea envolvida nas trocas gasosas, o que os torna suscetíveis a fatores de estresse físico-químicos, como a radiação ultravioleta, agentes patogênicos ou xenobióticos (Quaranta et al., 2009; Verrell, 2000; Dohm et al., 2008). Esses animais também apresentam uma mobilidade relativamente reduzida, sendo em geral, filopátricos, de forma que os indivíduos se reproduzam nos mesmos ambientes que se desenvolveram antes da metamorfose (Reading et al., 1991; Blaustein et al., 1994; Semlitsch, 1998), tornando-os altamente vulneráveis as mudanças ambientais.

Por estarem distribuídos em diversos ambientes, os anuros estão extensivamente expostos a ambientes antrópicos e seus poluentes, os efeitos que os DEs produzem nos anuros são vastos, interferindo desde a razão sexual (Goleman et al., 2002; Bogi et al., 2003; Mackenzie et al., 2003; Pettersson et al., 2006; Pettersson e Berg, 2007), disfunções e histopatologias em diversos órgãos, principalmente nos órgãos reprodutores (Hayes et al., 2002; 2003; 2010b; Çakici, 2013; 2015; Tamschick et al., 2016a;b;c;, Da Silva et al., 2018; Slaby et al., 2019; Trudeau et al., 2020), aumentando incidência de ovócitos testiculares e gônadas intersexuais, diminuindo o volume de espermatozoides em machos, aumentando o número de ovócitos atrésicos em fêmeas (Mackenzie et al., 2003; Pettersson et al., 2006; Tamschick et al., 2016a;b;c; McCoy et al., 2017; Da Silva et al., 2018; Trudeau et al., 2020), entre outras anormalidades. Há reflexos também na imunidade desses animais, havendo relatos de diminuição de capacidade fagocitária, alterações da distribuição das populações de leucócitos circulantes no sangue, configurando quadros de imunomodulação e imunossupressão, deixando esses animais

cada vez mais susceptíveis a patógenos (Christin et al., 2004; 2013; Cabagna et al., 2005; Romanova e Egorikhina, 2006; Attademo et al., 2014; Fanali et al., 2018; Davis et al., 2020; Pochini e Hoverman, 2017; McCoy e Peralta, 2018; Bosch et al., 2021).

1.3. Espécie modelo e biomarcadores

Muitas investigações sobre os efeitos dos poluentes ambientais nos anuros, tem se restringido a estudos de exposição em caráter laboratorial, e com a utilização de espécies modelos como *Xenopus laevis*, os estudos em laboratórios de forma isolada, podem não ser adequados para entender e prever as respostas das comunidades naturais de anuros (Boone e James, 2005; Schiesari et al., 2006), *in natura* os organismos estão expostos a ambientes mais complexos, com diversos agentes estressores além dos poluentes, como a predação, competição, fatores abióticos, tais fatores podem modular de forma diferente, as respostas adaptativas frente a ambientes alterados poluição (e.g., Boone and Semlitsch, 2001, 2002; Relyea and Mills, 2001; Relyea, 2003).

A espécie *Leptodactylus fuscus* (Schneider, 1799) (Leptodactylidae) apresenta ampla distribuição na América do Sul, categorizada como “pouco preocupante” quanto a conservação (IUCN, 2022). Devido a sua ocorrência em varios ambientes, desde campos abertos, savanas, pastagens, áreas pantanosas, florestas degradadas e habitats urbanos (IUCN, 2022), pode ser considerada um organismo modelo nativo e em crescente uso em estudos ecotoxicológicos (Fanali et al. 2018; Freitas et al., 2019; Franco-Belussi et al. 2020; Ferrante e Fearnside, 2020; Assis et al., 2021).

Uma abordagem bastante eficiente para os estudos de contaminação ambiental, é o uso de biomarcadores, isso porque os efeitos em potencial das alterações e dos poluentes ambientais podem ser bem estimados através de quantificação de células e tecidos específicos (Livingstone, 1993; Fenoglio et al., 2005; Martin et al., 2010), como as respostas imunológicas refletidas nas células de órgãos hematopoiéticos como o baço, além das populações de células sanguíneas (leucócitos), bem como respostas reprodutivas, através das células e estruturas germinativas (Christin et al., 2004; 2013; Cabagna et al., 2005; Sanchez et al., 2014; McCoy et al., 2017; Fanali et al., 2018).

1.3.1. Baço

O baço nos anuros funciona como órgão linfóide primário - sitio de linfopoiese, e principalmente secundário - sitio de apresentação de antígenos e ativação de linfócitos (Grogan et al., 2018). Em caráter estrutural constitui-se externamente de uma cápsula de tecido conjuntivo e internamente de duas polpas: a branca, onde se encontram os linfócitos; e a vermelha, onde estão alocados vasos sanguíneos e outras células de defesa, como os mastócitos e os melanomacrófagos (Franco-Belussi e De Oliveira, 2016; Akat, 2018) (**Figura 1**).

Ainda que o órgão seja um sitio de toxicidade direta e indireta (Suttie, 2006), poucos trabalhos o utilizam como indicador dos efeitos da contaminação ambiental, entretanto, sendo relatadas alterações morfológicas em sua constituição decorrente da exposição a compostos agrícolas (Linzei et al., 2003; Çakici, 2018; Riaz et al., 2021) ou proximidade á cultivos (Christin et al, 2013) que podem causar comprometimento da integridade dos componentes estruturais (como histopatologias), gerando debilidade na sua função (Çakici, 2018), e consequentemente na resposta imunológica celular.

Os mastócitos apresentam em seu citoplasma grânulos mediadores quimiotáticos, atuantes nas respostas inflamatórias (Baccari et al., 2011). A frequência dessas células tem sido atribuída a proteção a contaminantes ambientais (Fanali et al., 2018; Franco-Belussi et al., 2021; Valverde et al., 2022), e sua presença é um indicativo de inflamação tecidual (Da Silva et a., 2011). Os melanomacrófagos, um tipo de macrófago que possui melanina em seu interior, tem por função principal a resposta imune (Franco-Belussi e Oliveira 2016), estando relacionado à proteção frente a diversos estressores como radiação UV (Franco-Belussi et al. 2016), variação térmica (Santos et al., 2014) e xenobióticos (Fanali et al., 2018; Çakici, 2018; Valverde et al., 2022). Em outros órgãos hematopoiéticos, como o fígado, a variação na distribuição dos melanomacrófagos configura uma resposta protetiva a contaminantes de diversas origens como o benzopireno e surfactantes (Fanali et al., 2018; Franco-Belussi et al., 2021; Valverde et al., 2022), encontrados em residuos urbanos e industriais (Oliveira et al., 2010; Bukowska et al., 2022), bem como agroquímicos e ambientes com intensa atividade agrícola (Fenoglio et al., 2005; De Oliveira et al., 2017; Franco-Belussi et al., 2020; Assis et al., 2021).

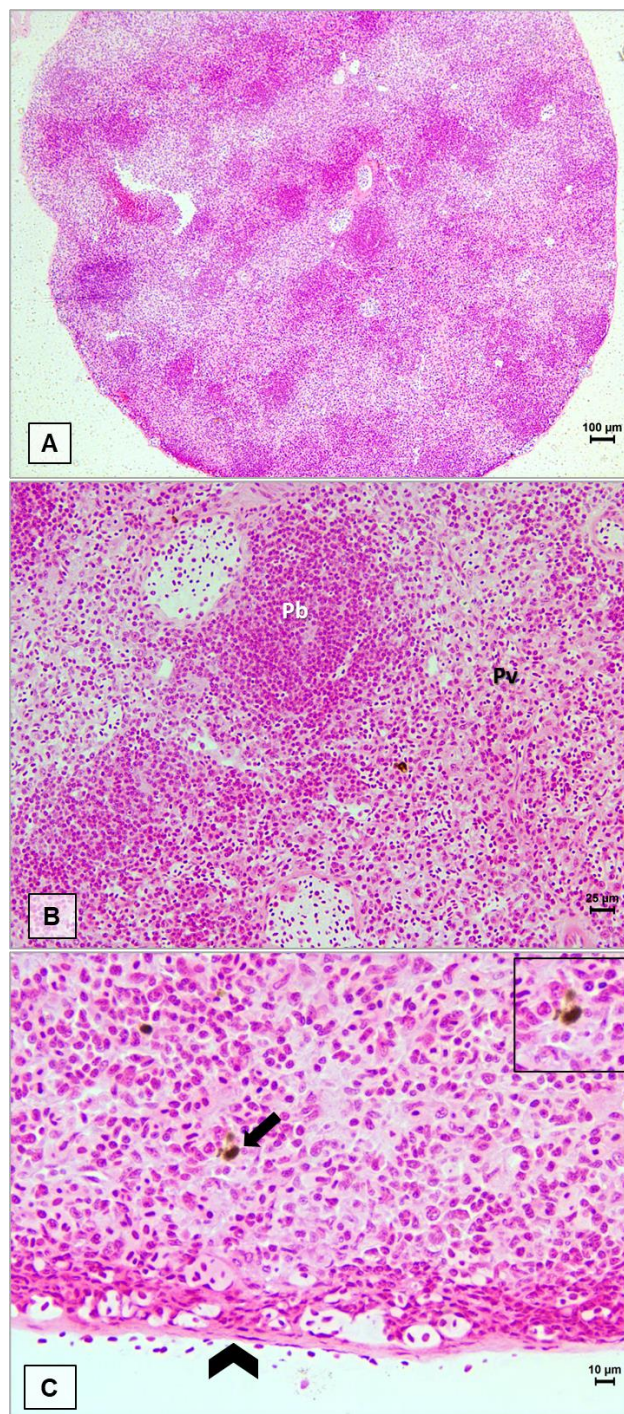


Figura 1: Morfologia do baço de *Leptodactylus fuscus*: Em **A** grande aumento do órgão, sendo possível evidenciar em **B** a disposição difusa da (polpa branca) corado mais intensamente, bem como a distribuição da polpa vermelha. Em **C** ressalta-se a capsula de tecido conjuntivo, que envolve externamente o órgão (ponta de seta), e também a presença de melanomacrófagos (seta), na polpa vermelha. **Pb** – Polpa branca; **Pv**- Polpa vermelha. Coloração H-E.

1.3.2. Sangue: leucócitos

O sangue tem sido muito utilizado como biomarcador, uma vez que contaminantes químicos quando atingem a corrente sanguínea, são carregados para diversos órgãos nos organismos (WHO, 1995; Barni et al., 2007), e

parâmetros sanguíneos como distribuição das populações de leucócitos são de amplo uso nos estudos ecotoxicológicos de anuros (Barni et al., 2007; Zhelev e Popgeotgiev, 2021).

A maioria dos vertebrados apresenta 5 tipos de leucócitos: linfócitos, neutrófilos, eosinófilos, basófilos e monócitos (Davis et al., 2008) (**Figura 2**). Os linfócitos e seus subtipos (natural-killer, T e B) representam o investimento na resposta imune adaptativa, atuando na resposta rápida, mas mais pronunciadamente na adaptativa (Fournier et al., 2005; Shutler et al., 2009). Os neutrófilos são granulócitos com ação fagocítica, que atuam na resposta imunológica (inata) e inflamatória (Davis et al., 2008; Shutler et al., 2009). Os basófilos agem na resposta inflamatória, modulando a defesa contra parasitos e alérgenos (Falcone et al., 2006; Davis et al., 2008); eosinófilos atuam, de modo geral, contra infecções de parasitas metazoários (Davis et al., 2008; Campbell, 2012); enquanto os monócitos atuam frente a bactérias e helmintos (Davis et al., 2008; Marcogliese et al., 2009). A morfologia dessas células é bastante conservada entre os táxons (Davis, et al., 2008), de modo geral para os anuros os tipos celulares mais expressivos são neutrófilos e linfócitos (Franco-Belussi et al., 2021).

A variação no perfil leucocitário pode ser usado para inferir diretamente o estresse ao qual esses animais estão sujeitos (Davis et al., 2008; Assis et al., 2019; Santana et al., 2021), ambientes com condições estressantes como aqueles altamente modificados pela ação humana, podem estimular a liberação de hormônios glicocorticoides como a corticosterona, este hormônio é responsável por interagir com o sistema imunológico para modular a resposta inflamatória e redirecionar o recrutamento de leucócitos (Davis e Maers, 2010; Janin et al., 2011; Rollins-Smith, 2017; Davis et al., 2020), essa mobilização é facilmente detectável pela análise de contagem diferencial de leucócitos.

Sabe-se também, que poluentes ambientais podem alterar a distribuição e frequência dos leucócitos, a exemplo agroquímicos como clorpirifós, atrazina, malation e esfenvalerato atuam de forma imunossupressora, diminuindo os tipos de leucócitos deixando os anuros mais susceptíveis a infecções parasitária (Kiesecker, 2002; Silva et al., 2020,). E também, ambiente com diferentes intensidades de modificações, seja por urbanização (Priyadarshani et al., 2015; Garcia Neto et al., 2020), atividade agrícolas (Zhelev et al., 2018;

Marcogliese et al., 2009), e industrialização (Santana et al., 2021), podem gerar alterações das populações leucocitárias em anuros. Assim, as alterações de parâmetros hematológicos podem informar sobre o grau de desafio imunológico frente a fatores ambientais complexos os quais esses animais estão submetidos (Romanova e Egorikhina, 2006),

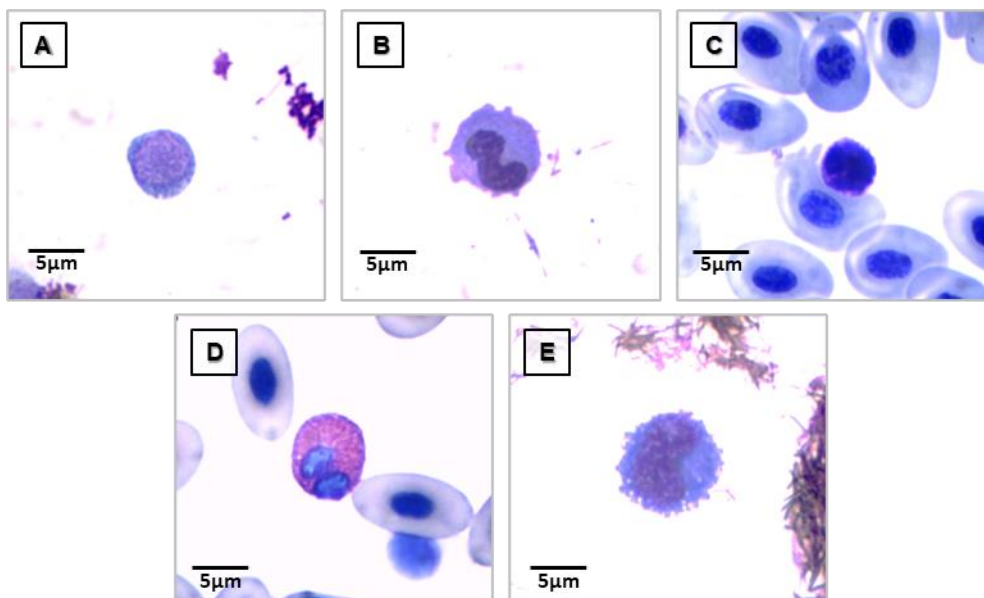


Figura 2: Leucócitos de *Leptodactylus fuscus*. **A-** linfócito; **B-** neutrófilo; **C-** basófilo; **D-** eosinófilo; **E-** Monócito. Coloração azul de toluidina com boráx.

1.3.3. Sistema reprodutor masculino: testículos

Para garantir a eficiência reprodutiva os anuros apresentam uma grande diversidade de modos reprodutivos (Haddad e Prado, 2005). Uma parte fundamental deste processo se ampara nas estruturas que compõem o sistema reprodutor, enfaticamente o masculino, que é composto de um par de testículos posicionados na parte ventral dos rins (Ogielska, e Bartmańska, 2009). De modo geral são órgãos arredondados/ovalados, recobertos pela túnica albugínea (De Oliveira e Vicentini, 1998), de coloração branco leitosa a intensamente escura (em espécies dotadas de pigmentação devido a presença de melanócitos no tecido) (Franco-Belussi et al., 2009). Histologicamente é composto por unidades arredondadas, os lóculos seminíferos, onde estão dispostas as células germinativas (Rastogi et al., 1988; De Oliveira e Vicentini, 1998; De Oliveira et al., 2002; 2003). Estes lóculos são sustentados por um tecido conjuntivo constituído por células somáticas e defesa (mastócitos), fibras colágenas e reticulares, em algumas espécies, melanócitos (De Oliveira e

Vicentini, 1998; Franco-Belussi et al., 2009; 2012; 2014; De Oliveira e Franco-Belussi, 2012; Leite et al., 2015).

As células germinativas apresentam um arranjo em cistos produzidos pelas células de Sertoli (Rastogi et al., 1988; De Oliveira e Vicentini, 1998; De Oliveira et al., 2002; 2003), sendo comum observar os cistos das células iniciais (espermátogônias e espermátócitos) dispostos na margem do lóculo e com o desenvolver do processo meiótico estas células tendem a se direcionar para o lúmen onde geralmente encontram-se em feixes de espermátides alongadas ou espermatozoides livres (Santos e Oliveira, 2008; Santos et al., 2011) (**Figura 3**).

Por se tratar de um processo altamente sincronizado, a espermatogênese é regulada pelo eixo hipotálamo-pituitário-gonadal e seus mediadores hormonais como as gonadotrofinas hipofisárias e andrógenos produzidos pelas células de Leydig no interstício testicular (Rastogi et al., 2011). Quando poluentes ambientais (DEs) entram nessas rotas regulatórias, interferindo em sua normalidade, podem gerar inúmeras falhas reprodutivas (Hayes et al., 2010a; Trudeau et al., 2020; Jasrotia et al., 2021). A exemplo, em resíduos de escoamento urbano e industriais muitos composto estrogênicos como 17 β -estradiol e nonilfenol (Bokóny et al., 2018; Da Silva et al., 2018) causam alterações na diferenciação gonadal, com indução a feminização completa ou uma condição intersexual, e alterações da morfologia dos túbulos testiculares (Mackenzie et al., 2003; Mosconi et al., 2002; Slaby et al., 2019).

Em alguns casos, anuros que habitam áreas agrícolas, ou próximas a cidades e sítios industriais, também apresentam alterações nas áreas dos cistos germinativos iniciais, baixas contagem de espermatozoides culminando na diminuição da fertilidade desses animais (Guo et al., 2018; Orton et al., 2018; Curi et al., 2021; Rezende et al., 2021; Sluchyk et al., 2021). Assim as variações das disposições e distribuições das células germinativas, incidência de anomalias e malformações congênitas, podem atuar como estimadores do efeito de xenobióticos e ambientes humanamente alterados em parametros reprodutivo de anuros (Montezol et al., 2018; Rezende et al., 2021; Sluchyk et al., 2021).

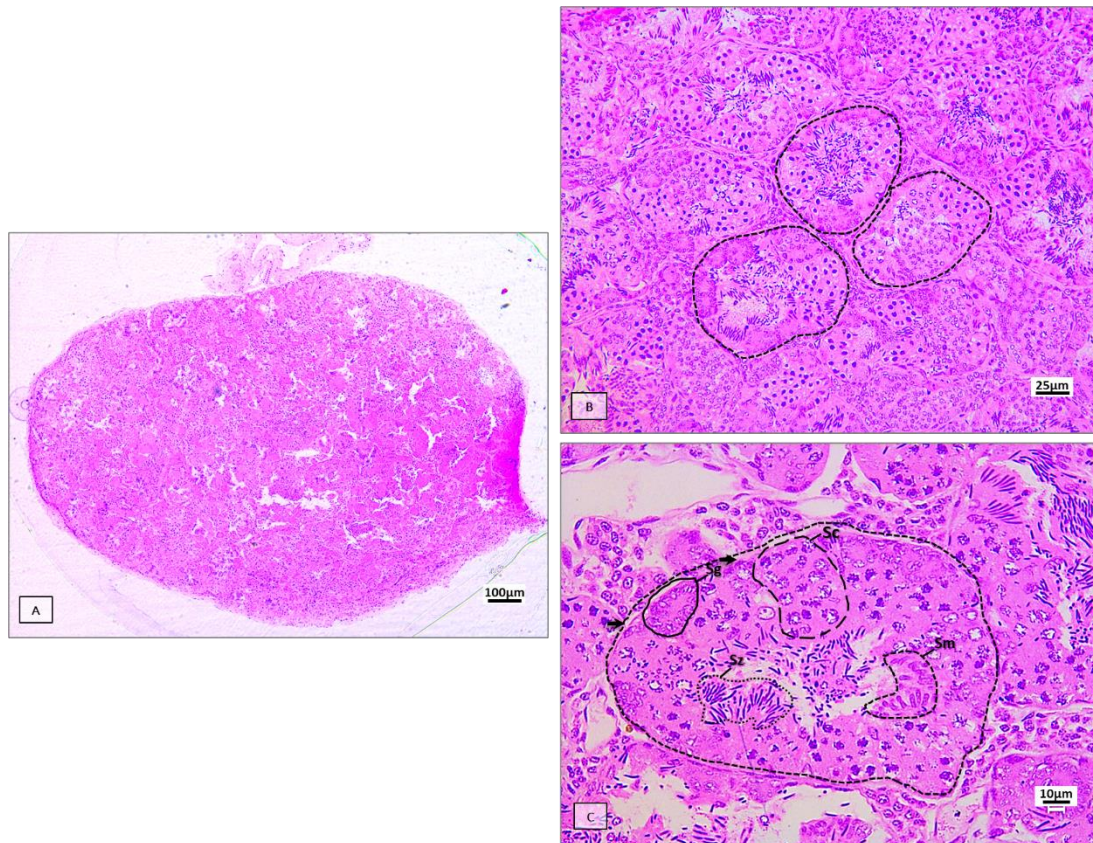


Figura 3: Arquitetura testicular de *L. fuscus*. Em **A** grande aumento do órgão, em **B** resalta-se os lóculos seminíferos (circunscritos em preto), esses lóculos se apresentando formatos arredondados/ovalados. Em **C**, ampliação da unidade seminífera evidenciando os cistos germinativos em diferentes estágios de diferenciação, retidos pelas células de Sertoli (setas pretas). **Sg**- espermatogônias; **Sc**- espermatócitos; **Sm**- espermátides; **Sz**- espermatozoides. Coloração H-E

1.4. Poluição antrópica, sistema imune, sistema reprodutor: interações

Alguns dos contaminantes ambientais encontrados nos cenários antrópicos podem atuar em dois sistemas bem distintos, como o imunológico e o reprodutor. O sistema imune dos anuros é bem similar à de outros vertebrados, apresentando componentes humorais (anticorpos) e componentes celulares (fagócitos, leucócitos granulares e agranulares e linfócitos) esse sistema, tem por função proteger os organismos de antígenos estranhos como peptídeos, microrganismos, xenobióticos, entre outros (Du Pasquier et al., 1989; 2000; Hansen e Zapata, 1998; Rollins-Smith, 1998; Dautremepuits et al., 2005).

A homeostase estabelecida pelo sistema imune prove condições para o funcionamento adequado dos outros sistemas, inclusive o reprodutor, entretanto, tem sido proposta uma inter-relação entre a reprodução e a imunidade, de forma que um pode influenciar no desempenho do outro (Van-Tienhoven, 1983; Norris e Jones, 1987; Nordling et al., 1998; Norris e Evans, 2000; Lutton e Callard, 2006; McCallum e Trauth, 2007; Brannelly et al., 2016). Esta relação se baseia na disponibilidade energética limitada que os organismos apresentam, de forma que o investimento em uma função aloca a energia disponível para tal, drenando recursos de outras atividades fisiológicas (Gadgil e Bossert, 1970; Zera e Harshman, 2001). Baseado nisso, alguns estudos têm trabalhado a premissa de uma competição por recursos energéticos entre a imunidade e reprodução (Norris e Evans, 2000), onde respostas imunes poderiam até reduzir caracteres reprodutivos, como espessura do epitélio seminífero, quantidade de espermatozoides, entre outros (Van-Tienhoven, 1983; Norris e Jones, 1987, McCallum e Trauth, 2007). Em contrapartida, há trabalhos evidenciando que hormônios sexuais ligados à reprodução como a testosterona e outros estrógenos apresentam atividade imunomoduladora, podendo suprimir ou estimular respostas defensivas (Okasha et al., 2001; Oppliger et al., 2004; Lutton e Callard, 2006; Desprat et al., 2015; Madelaire et al., 2017; Titon et al., 2018; Gomes et al., 2022; Cassettari et al., 2022).

Neste contexto, quando se pondera sobre a desregulação endócrina promovida pelos contaminantes ambientais, é plausível supor que tais compostos podem potencializar a relação imunidade-reprodução,

principalmente aqueles com propriedades estrógenas (Mackenzie et al., 2003; Christin et al., 2003; 2013; Brodtkin et al., 2007; Shutler e Marcogliese, 2011; Slaby et al., 2019; Trudeau et al., 2020; Yang et al., 2021). Químicos como a atrazina, um herbicida muito utilizado na agricultura, possuem potencial feminizador aos anuros, interferindo na testosterona plasmática, aumentando a incidência de anomalias reprodutivas como ovócitos testiculares, má formação das unidades seminíferas testiculares, e até mesmo indução completa de feminilização (Hayes et al., 2003; 2010b; Murphy et al., 2006; McDaniel et al., 2008; Trachantong et al., 2013; Sai et al., 2015). Este mesmo composto apresenta atuação no sistema imune, causando quadros de diminuição da resposta imunológica, debilidade na fagocitose, configurando uma imunossupressão (Christin et al., 2004; 2013; Cabagna et al., 2005; Brodtkin et al., 2007; Rohr et al., 2008; Buck et al., 2015; Jia et al., 2015)

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Em caráter imunológico, os animais vivos em ambientes antropizados evidenciaram um quadro de imunomodulação sistêmica, gerando alterações em diferentes componentes (como a estrutura esplênica e perfil leucocitário) o que pode comprometer a eficiência da defesa frente a agentes estressores.

Quanto à reprodução, ficou evidente o efeito da antropização na atividade reprodutiva refletido nas proporções das células germinativas. O quadro geral evidencia que os animais apresentaram maior atividade nesses ambientes, contudo a pressão exercida não é uniforme quando se atenta aos cenários isolados. Desta forma, essas respostas podem configurar mais uma adaptação de espécies generalistas a novos ambientes, que respondem de maneira plástica a essas condições.

Mesmo que não tenhamos encontrado relações diretas entre os sistemas, nossos dados apontam para uma resposta imune ativa e um aumento reprodutivo e bons índices corporais dessa espécie. Em alguns casos, animais podem exibir melhores desempenhos reprodutivos quando sua longevidade se encontra diminuída por agentes externos, alocando recursos para um último evento reprodutivo (o que pode ser associado às correlações do IME com parâmetros reprodutivos). É plausível supor que quando os animais apresentam boas condições corporais, eles conseguem manter uma resposta imune atuante e um bom desempenho reprodutivo, o que capacita ainda mais as espécies generalistas a perpetuarem em ambientes antrópicos.

6.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDUL-MAJEED, H. Studies on haemopoiesis and histological aspects of *Rana ridibunda* spleen. **Kufa Medical Journal**, v. 11, n. 2, p. 61-66, 2008.

ACAYABA, R. D. A.; DE ALBUQUERQUE, A. F.; RIBESSI, R. L.; UMBUZEIRO, G. D. A.; MONTAGNER, C. C. Occurrence of pesticides in waters from the largest sugar cane plantation region in the world. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 28, p. 9824-9835, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11356-020-11428-1>

ADAMS, E.; LEEB, C.; BRÜHL, C. A. Pesticide exposure affects reproductive capacity of common toads (*Bufo bufo*) in a viticultural landscape. **Ecotoxicology**, v. 30, n. 2, p. 213-223, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10646-020-02335-9>

AGIUS, C.; AGBEDE, S. A. An electron microscopical study on the genesis of lipofuscin, melanin and haemosiderin in the haemopoietic tissues of fish. **Journal of fish biology**, v. 24, n. 4, p. 471-488, 1984. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1984.tb04818.x>

AGIUS, C.; ROBERTS, R. J. Melano-macrophage centers and their role in fish pathology. **Journal of fish diseases**, v. 26, n. 9, p. 499-509, 2003. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1365-2761.2003.00485.x>

AKAT, E. Histological characteristics of the pancreas and spleen of *Pelophylaxbedriagae* (Anura: Ranidae). **Biharean Biologist**, v. 12, n. 2, p. 102-105, 2018.

ALVAREZ, R. An ultrastructural study of the spleen of the ranid frog *Rana perezii*. **Journal of Morphology**, v. 204, p. 25-32, 1990. DOI: <https://doi.org/10.1002/jmor.1052040104>

AmphibiaWeb, 2022. Disponível em: <https://amphibiaweb.org/> Acessado em: 16 de dezembro de 2022.

ASSIS, R. A.; REZENDE, W. R.; DOS SANTOS, C. G. A.; BENVINDO-SOUZA, M.; AMORIM, N. P. L.; BORGES, R. E.; FRANCO-BELUSSI, L.; DE OLIVEIRA, C.; SANTOS, L. R. S. Habitat differences affect the nuclear morphology of the erythrocytes and the hepatic melanin in *Leptodactylus fuscus* (Anura) in the Brazilian Cerrado savanna. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 28, n. 43, p. 60741-60752, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11356-021-14974-4>

ASSIS, V. R.; TITON, S. C. M.; GOMES, F. R. Acute stress, steroid plasma levels, and innate immunity in Brazilian toads. **General and comparative endocrinology**, v. 273, p. 86-97, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2018.05.008>

ASSIS, V. R.; TITON, S. C. M.; QUEIROZ-HAZARBASSANOV, N. G. T.; MASSOCO, C. O.; GOMES, F. R. Corticosterone transdermal application in toads (*Rhinella icterica*): effects on cellular and humoral immunity and steroid plasma levels. **Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological and Integrative Physiology**, v. 327, n. 4, p. 200-213, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1002/jez.2093>

ATTADEMO, A. M.; PELTZER, P. M.; LAJMANOVICH, R. C.; CABAGNA-ZENKLUSEN, M. C.; JUNGES, C. M.; BASSO, A. Biological endpoints, enzyme activities, and blood cell parameters in two anuran tadpole species in rice agroecosystems of mid-eastern Argentina. **Environmental Monitoring and**

Assessment, v. 186, p. 635-649, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10661-013-3404-z>

AWKERMANN, J.; RAIMONDO, S.; SCHMOLKE, A.; GALIC, N.; RUEDA-CEDIEL, P.; KAPO, K.; ACCOLLA, C.; VAUGEOIS, M.; FORBES, V. Guidance for developing amphibian population models for ecological risk assessment. **Integrated environmental assessment and management**, v. 16, n. 2, p. 223-233, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1002/ieam.4215>

BACCARI, G. C.; PINELLI, C.; SANTILLO, A.; MINUCCI, S.; RASTOGI, R. K. Mast cells in nonmammalian vertebrates: an overview. **International Review of Cell and Molecular Biology**, v. 290, p. 1-53, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-386037-8.00006-5>

BARNI, S.; BONCOMPAGNI, E.; GROSSO, A.; BERTONE, V.; FREITAS, I.; FASOLA, M.; FENOGLIO, C. Evaluation of *Rana snkesculenta* blood cell response to chemical stressors in the environment during the larval and adult phases. **Aquatic Toxicology**, v. 81, p. 45-54, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2006.10.012>

BECKMANN, M.; GERSTNER, K.; AKIN-FAJIYE, M.; CEAUȘU, S.; KAMBACH, S.; KINLOCK, N. L.; PHILLIPS, H. R. P.; VERHAGEN, W.; GUREVITCH, J.; KLOTZ, S.; NEWBOLD, T.; VERBURG, P. H.; WINTER, M.; SEPPELT, R. Conventional land-use intensification reduces species richness and increases production: a global meta-analysis. **Global Change Biology**, v. 25, n. 6, p. 1941-1956, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1111/gcb.14606>

BISWAS, N. M.; CHAKRABORTY, J.; CHANDA, S.; SANYAL, S. Effect of continuous light and darkness on the testicular histology of toad (*Bufo melanostictus*). **Endocrinologia Japonica**, v. 25, n. 2, p. 177-180, 1978. DOI: <https://doi.org/10.1507/endocrj1954.25.177>

BLAUSTEIN, A. R.; WAKE, D.B.; SOUSA, W. P. Amphibian declines: judging stability, persistence, and susceptibility of populations to local and global extinctions. **Conservation Biology**, v. 8, p. 60-71, 1994. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1523-1739.1994.08010060.x>

BLAUSTEIN, A. R.; HAN, B. A.; RELYEA, R. A.; JOHNSON, P. T. J.; BUCK, J. C.; GERVASI, S. S.; KATS, L. B. The complexity of amphibian population declines: understanding the role of cofactors in driving amphibian losses. **Annals of the New York Academy of Science**, v. 1223, p. 108-119, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2010.05909.x>

BÖGI, C.; SCHWAIGER, J.; FERLING, H.; MALLOW, U.; STEINECK, C.; SINOWATZ, F.; KALBFUS, W.; NEGELE, R. D.; LUTZ, I.; KLOAS, W. Endocrine effects of environmental pollution on *Xenopus laevis* and *Rana temporaria*. **Environmental Research**, v. 93, n. 2, p. 195-201, 2003. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0013-9351\(03\)00082-3](https://doi.org/10.1016/S0013-9351(03)00082-3)

BÓKONY, V.; ÜVEGES, B.; UJHEGYI, N.; VEREBÉLYI, V.; NEMESHÁZI, E.; CSÍKVÁRI, O.; HETTYEY, A. Endocrine disruptors in breeding ponds and reproductive health of toads in agricultural, urban and natural landscapes. **Science of the Total Environment**, v. 634, p. 1335-1345, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.03.363>

BORDIN, R. O.; FERNANDES, C. E. D. S.; FRANCO-BELUSSI, L.; LEÃO, T. R. F.; SANABRIA, M. Sperm morphology and testicular histology of the polyandric species *Leptodactylus podicipinus* (Anura: Leptodactylidae) from an urban environment. **The Anatomical Record**, v. 305, n. 12, p. 3532-3542, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1002/ar.24928>

BORGES, R. E.; SANTOS, L. R. D. S.; BENVINDO-SOUZA, M.; MODESTO, R. S.; ASSIS, R. A.; DE OLIVEIRA, C. Genotoxic evaluation in tadpoles associated with agriculture in the Central Cerrado, Brazil. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 77, n. 1, p. 22-28, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00244-019-00623-y>

BOSCH, J.; ELVIRA, S.; SAUSOR, C.; BIELBY, J.; GONZALEZ-FERNANDEZ, I.; ALONSO, R.; BERMEJO-BERMEJO, V. Increased tropospheric ozone levels enhance pathogen infection levels of amphibians. **Science of the Total Environment**, v. 759, 143461, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.143461>

BRANNELLY, L. A.; WEBB, R.; SKERRATT, L. F.; BERGER, L. Amphibians with infectious disease increase their reproductive effort: evidence for the terminal investment hypothesis. **Open Biology**, v. 6, n. 6, 150251, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1098/rsob.150251>

BRODEUR, J. C.; SUAREZ, R. P.; NATALE, G. S.; RONCO, A. E.; ZACCAGNINI, M. E. Reduced body condition and enzymatic alterations in frogs inhabiting intensive crop production areas. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 74, n. 5, p. 1370-1380, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2011.04.024>

BRODEUR, J. C.; DAMONTE, M. J.; CANDIOTI, J. V.; POLISERPI, M. B.; D'ANDREA, M. F.; BAHL, M. F. Frog body condition: Basic assumptions, comparison of methods and characterization of natural variability with field data from *Leptodactylus latrans*. **Ecological Indicators**, v. 112, 106098, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2020.106098>

BRODKIN, M. A.; MADHOUN, H.; RAMESWARAN, M.; VATNICK, I. Atrazine is an immune disruptor in adult northern leopard frogs (*Rana pipiens*). **Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal**, v. 26, n. 1, p. 80-84, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1897/05-469.1>

BRÜHL, C. A.; PIEPER, S.; WEBER, B. Amphibians at risk? Susceptibility of terrestrial amphibian life stages to pesticides. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 30, p. 2465-2472, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1002/etc.650>

BUCK, J. C.; HUA, J.; BROGAN, W. R.; URBINA, J.; BENDIS, R. J.; STOLER, A. B.; BLAUSTEIN, A. R.; RELYEA, R. A. Effects of Pesticides Mixtures on Host-Pathogen Dynamics of the Amphibian Chytrid Fungus. **Plos One**, v. 10, n. 7, p. 1-17, 2015.

BUKOWSKA, B.; MOKRA, K.; MICHAŁOWICZ, J. Benzo[a]pyrene – environmental occurrence, human exposure, and mechanisms of toxicity. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 11, 6348, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms23116348>

CABAGNA, M. C.; LAJMANOVICH, R. C.; STRINGHINI, G.; SANCHEZ-HERNANDEZ, J. C.; PELTZER, P. M. Hematological parameters of health status in the common toad *Bufo arenarum* in agroecosystems of Santa Fé Province, Argentina. **Applied Herpetology**, v. 2, p. 373-380, 2005.

CAMPBELL, T. W. Hematology of Amphibians. In: THRALL, M. A.; WEISER, G.; ALLISON, R. W.; CAMPBELL, T. W. **Veterinary hematology and clinical chemistry**. John Wiley & Sons, 2012.

ÇAKICI, Ö. Carbaryl-induced histopathologic alterations on testes of Levantine frog, *Pelophylaxbedriagae* (Anura: Ranidae). **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 91, n. 1, p. 96-101, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00128-013-1010-y>

ÇAKICI, Ö. Toxic effects of carbaryl on the histology of testes of *Bufo variabilis* (Anura: Bufonidae). **Acta Herpetologica**, v. 10, n. 1, p. 23-29, 2015. DOI: https://doi.org/10.13128/Acta_Herpetol-14780

ÇAKICI, Ö. Histopathological analysis of carbaryl-induced toxicity in the spleen of Levantine frog, *Pelophylaxbedriagae*(Anura: Ranidae). **Environmental Science and Pollution Research**, v. 25, n. 25, p. 24917-24922, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11356-018-2538-5>

CAMPBELL, D. E.; MONTGOMERIE, R. D.; LANGLOIS, V. S. Lifecycle exposure to perchlorate differentially alters morphology, biochemistry, and transcription as well as sperm motility in *Silurana tropicalis* frogs. **Environmental Pollution**, v. 237, p. 196-204, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.02.038>

CAMPBELL GRANT, E. H.; MILLER, D. A.; MUTHS, E. A synthesis of evidence of drivers of amphibian declines. **Herpetologica**, v. 76, n. 2, p. 101-107, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1655/0018-0831-76.2.101>

CANTARELLA, H.; ROSSETTO, R. Fertilizantes para a cana-de-açúcar. In: CORTEZ, L. A. B. **Bioetanol de cana-de-açúcar. P&D para produtividade e sustentabilidade**, Blucher, 2010. p. 405–422.

CARR, J. A. Stress and reproduction in amphibians. **Hormones and Reproduction of Vertebrates**, p. 99-116, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374931-4.10006-9>

CASSETTARI, B. O.; MADELAIRE, C. B.; GOMES, F. R. Elevated corticosterone levels are associated with increased immunocompetence in male toads, both when calling and under experimental conditions. **Hormones and Behavior**, v. 137, 105083, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2021.105083>

CATENAZZI, A. State of the world's amphibians. **Annual Review of Environment and Resources**, v. 40, n. 1, p. 91-119, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev-environ-102014-021358>

CHANG, H. S.; CHOO, K. H.; LEE, B.; CHOI, S. J. The methods of identification, analysis, and removal of endocrine disrupting compounds (EDCs) in water. **Journal of Hazardous Materials**, v. 172, p.1-12, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2009.06.135>

CHATFIELD, M. W.; BRANNELLY, L. A.; ROBAK, M. J.; FREEBORN, L.; LAILVAUX, S. P.; RICHARDS-ZAWACKI, C. L. Fitness consequences of infection by *Batrachochytrium dendrobatidis* in northern leopard frogs (*Lithobates pipiens*). **EcoHealth**, v. 10, n. 1, p. 90-98, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10393-013-0833-7>

CHAVES, M.J. S.; BARBOSA, S. C.; PRIMEL, E. G.. Emerging contaminants in Brazilian aquatic environment: identifying targets of potential concern based on occurrence and ecological risk. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 28, p. 67528-67543, 2021. DOI: [DOI: https://doi.org/10.1007/s11356-021-15245-y](https://doi.org/10.1007/s11356-021-15245-y)

CHIEFFI-BACCARI, G.; DE PAULIS, A.; DI MATTEO, L.; GENTILE, M.; MARONE, G.; MINUCCI, S. In situ characterization of mast cells in the frog *Rana esculenta*. **Cell and tissue research**, v. 292, n. 1, p. 151-162, 1998. DOI: <https://doi.org/10.1007/s004410051045>

CHIEFFI-BACCARI, G.; PINELLI, C.; SANTILLO, A.; MINUCCI, S.; RASTOGI, R. K. Mast cells in nonmammalian vertebrates: an overview. **International review of cell and molecular biology**, v. 290, p. 1-53, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-386037-8.00006-5>

CHRISTIN, M. S.; GENDRON, A. D.; BROUSSEAU, P.; MÉNARD, L.; MARCOGLIESE, D. J.; CYR, D.; RUBY, S.; FOURNIER, M. Effects of agricultural pesticides on the immune system of *Rana pipiens* and on its resistance to parasitic infection. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 22, n. 5, p. 1127-1133, 2003. DOI: <https://doi.org/10.1002/etc.5620220522>

CHRISTIN, M. S.; MENARD, L.; GENDRON, A. D.; RUBY, S.; CYR, D.; MARCOGLIESE, D. J.; ROLLINS-SMITH, L.; FOURNIER, M. Effects of agricultural pesticides on the immune system of *Xenopus laevis* and *Rana pipiens*. **Aquatic Toxicology**, v. 67, n.1, p. 33-43, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2003.11.007>

CHRISTIN, M. S.; MÉNARD, L.; GIROUX, I.; MARCOGLIESE, D. J.; RUBY, S.; CYR, D.; FOURNIER, M.; BROUSSEAU, P. Effects of agricultural pesticides on the health of *Rana pipiens* frogs sampled from the field. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 20, n. 2, p. 601-611, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11356-012-1160-1>

CLAY, J. World agriculture and the environment: a commodity- by-commodity guide to impacts and practices. Washington, DC: Island Press, 2004.

CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento. Acompanhamento da safra brasileira de grãos, v. 9, n. 9, 2022a. Disponível em: <https://www.conab.gov.br> Acessado em: 28 de janeiro de 2023.

CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento. Acompanhamento da safra brasileira de cana-de-açúcar, v. 9, n. 3, 2022b. Disponível em: <https://www.conab.gov.br> Acessado em: 29 de janeiro de 2023.

CORDIER, J. M.; AGUILAR, R.; LESCANO, J. N.; LEYNAUD, G. C.; BONINO, A.; MILOCH, D.; LOYOLA, R.; NORI, J. A global assessment of amphibian and reptile responses to land-use changes. **Biological Conservation**, v. 253, 108863, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2020.108863>

CUNHA, N. R. S; LIMA, J. E. GOMES, M. F. M.; BRAGA, M. J. A Intensidade da Exploração Agropecuária como Indicador da Degradação Ambiental na Região dos Cerrados, Brasil. **Revista de Economia e Sociologia Rural**, v. 46, n. 2, p. 291-323, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0103-20032008000200002>

CURI, L. M.; PELTZER, P. M.; ATTADEMO, M. A.; LAJMANOVICH, R. C. Alterations in Gonads and Liver Tissue in Two Neotropical Anuran Species Commonly Occurring in Rice Fields Crops. **Water, Air, & Soil Pollution**, v. 232, n. 5, p. 1-18, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11270-021-05164-6>

DA SILVA, A. P. A.; DE OLIVEIRA, C. D. L.; QUIRINO, A. M. S.; DA SILVA, F. D. M.; DE AQUINO SARAIVA, R.; SILVA-CAVALCANTI, J. S. Endocrine disruptors in aquatic environment: effects and consequences on the biodiversity of fish and amphibian species. **Aquatic Science and Technology**, v. 6, n. 1, p. 35-51, 2018. DOI: <http://dx.doi.org/10.5296/ast.v6i1.12565>

DA SILVA, P. S.; GIROL, A. P.; OLIANI, S. M. Mast cells modulate the inflammatory process in endotoxin-induced uveitis. **Molecular vision**, v. 17, p. 1310-1319, 2011.

DAUTREMEPUITS, C.; ROBERT, J.; BROUSSEAU, P.; FOURNIER, M.; SALO, H. Immunotoxicology of amphibians, **Applied Herpetology**, v. 2, n. 3, p. 297-309, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1163/1570754054507451>

DAVIS, A. K.; MAERZ, J. C. Effects of exogenous corticosterone on circulating leukocytes of a salamander (*Ambystoma talpoideum*) with unusually abundant eosinophils. **International Journal of Zoology**, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1155/2010/735937>

DAVIS, A. K.; MANEY, D. L.; MAERZ, J. C. The use of leukocyte profiles to measure stress in vertebrates: a review for ecologists. **Functional ecology**, v. 22, n. 5, p. 760-772, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2435.2008.01467.x>

DAVIS, D. R.; FERGUSON, K. J.; SCHWARZ, M. S.; KERBY, J. L. Effects of Agricultural Pollutants on Stress Hormones and Viral Infection in Larval Salamanders. **Wetlands**, v. 40, p. 577-586, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13157-019-01207-1>

DE OLIVEIRA, C.; FRANCO-BELUSSI, L. Melanic pigmentation in ectothermic vertebrates: occurrence and function. In: MA, X. P.; SUN, X. X. **Melanin: Biosynthesis, Functions and Health Effects**. Hauppauge: Nova Science Publisher, 2012. p. 213-225.

DE OLIVEIRA, C.; FRANCO-BELUSSI, L.; FANALI, L. Z.; SANTOS, L. R. S. Use of melanin-pigmented cells as a new tool to evaluate effects of agrochemicals and other emerging contaminants in Brazilian anurans. In: LARRAMENDY, M. L. **Ecotoxicology and genotoxicology: non-traditional terrestrial models**, The Royal Society of Chemistry, 2017. p. 123-142.

DE OLIVEIRA, C.; VICENTINI, C. A. Descrição anatômica dos testículos e corpos adiposos de *Scinax fuscovarius* (Anura Hylidae). **Biociências**, v. 6, n. 1, p. 79-88, 1998.

DE OLIVEIRA, C.; VICENTINI, C. A.; TABOGA, S. R. Structural characterization of nuclear phenotypes during *Scinax fuscovarius* spermatogenesis (Anura, Hylidae). **Caryologia**, v. 56, n. 1, p. 75-83, 2003. DOI: <https://doi.org/10.1080/00087114.2003.10589310>

DE OLIVEIRA, C.; ZANETONI, C.; ZIERI, R. Morphological observations on the testes of *Physalaemus cuvieri* (Amphibia Anura). **Revista Chilena de Anatomía**, v. 20, n. 3, p. 263-268, 2002. DOI: <https://doi.org/10.4067/S0716-98682002000300005>

DEFRIES, R. S.; FOLEY, J. A.; ASNER, G. P. Land-use choices: Balancing human needs and ecosystem function. **Frontiers in Ecology and the Environment**, v. 2, n. 5, p. 249-257, 2004. DOI: [https://doi.org/10.1890/1540-9295\(2004\)002\[0249:LCBHNA\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1890/1540-9295(2004)002[0249:LCBHNA]2.0.CO;2)

DELGADO-ACEVEDO, J.; RESTREPO, C. The contribution of habitat loss to changes in body size, allometry, and bilateral asymmetry in two Eleutherodactylus frogs from Puerto Rico. **Conservation Biology**, v. 22, n. 3, p. 773-782, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1523-1739.2008.00930.x>

DEMAS, G. E. The energetics of immunity: a neuroendocrine link between energy balance and immune function. **Hormones and behavior**, v. 45, n. 3, p. 173-180, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2003.11.002>

DESPRAT, J. L., LENGAGNE, T., DUMET, A., DESOUHANT, E., MONDY, N. Immunocompetence handicap hypothesis in tree frog: trade-off between sexual signals and immunity? **Behavioral Ecology**, v. 26, n. 4, p. 1138-1146, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1093/beheco/arv057>

DING, G. H.; TANG, Y.; LIN, Z. H.; FAN, X. L.; WEI, L. Mating pattern, female reproduction and sexual size dimorphism in a narrow-mouthed frog (*Microhylafissipes*). **Animal Biology**, v. 69, n. 2, p. 247-257, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1163/15707563-17000067>

DOHM, M. R.; MAUTZ, W. J.; DORATT, R. E.; STEVENS, J. R. Ozone exposure affects feeding and locomotor behavior of adult *Bufo marinus*. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 27, n. 5, p. 1209-1216, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1897/07-388.1>

DU PASQUIER, L.; ROBERT, J.; COURTET, M.; MUBUMANN, R. B-cell development in the amphibian *Xenopus*. **Immunological Reviews**, v. 175, p. 201-213, 2000. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1600-065X.2000.imr017501.x>

DU PASQUIER, L.; SCHWAGER, J.; FLAJNIK, M. F. The immune system of *Xenopus*. **Annual Review of Immunology**, v. 7, p. 251-275, 1989. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev.iy.07.040189.001343>

EHRENFELD, J. G. Evaluating wetlands within an urban context. **Urban Ecosystems**, v. 4, p. 69-85, 2000. DOI: <https://doi.org/10.1023/A:1009543920370>

EMERSON, S. B. Testis size variation in frogs: testing the alternatives. **Behavioral Ecology and Sociobiology**, v. 41, n. 4, p. 227-235, 1997. DOI: <https://doi.org/10.1007/s002650050383>

EMERSON, S. B.; HESS, D. L. Glucocorticoids, androgens, testis mass, and the energetics of vocalization in breeding male frogs. **Hormones and Behavior**, v. 39, n. 1, p. 59-69, 2001. DOI: <https://doi.org/10.1006/hbeh.2000.1635>

ESBAUGH, A. J.; KHURSIGARA, A.; JOHANSEN, J. Toxicity in Aquatic Environments: The Cocktail Effect. In: BURGGREN, W.; DUBANSKY, B. **Development and Environment**. Springer, 2018. p. 203-234. DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-319-75935-7_9

FALCONE, F. H.; ZILLIKENS, D.; GIBBS, B. F. The 21st century renaissance of the basophil? Current insights into its role in allergic responses and innate immunity.

Experimental Dermatology, v. 15, n. 11, p. 855-864, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1600-0625.2006.00477.x>

FALSO, P. G.; NOBLE, C. A.; DIAZ, J. M.; HAYES, T. B. The effect of long-term corticosterone treatment on blood cell differentials and function in laboratory and wild-caught amphibian models. **General and Comparative Endocrinology**, v. 212, p. 73-83, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2015.01.003>

FAN, X. L.; LIN, Z. H.; JI, X. Male size does not correlate with fertilization success in two bufonid toads that show size-assortative mating. **Current Zoology**, v. 59, n. 6, p. 740-746, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1093/czoolo/59.6.740>

FANALI, L. Z.; FRANCO-BELUSSI, L.; BONINI-DOMINGOS, C. R.; DE OLIVEIRA, C. Effects of benzo[a]pyrene on the blood and liver of *Physalaemus cuvieri* and *Leptodactylus fuscus* (Anura: Leptodactylidae). **Environmental Pollution**, v. 237, p. 93-102, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.02.030>

FENOGLIO, C.; BONCOMPAGNI, E.; FASOLA, M.; GANDINI, C.; COMIZZOLI, S.; MILANESI, G.; BARNI, S. Effects of environmental pollution on the liver parenchymal cells and Kupffer-melanomacrophagic cells of the frog *Rana esculenta*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 60, p. 259-268, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2004.06.006>

FERRANTE, L.; FEARNSIDE, P. M. Evidence of mutagenic and lethal effects of herbicides on Amazonian frogs. **Acta Amazonica**, v. 50, p. 363-366, 2020.

FILOSO, S.; DO CARMO, J. B.; MARDEGAN, S. F.; LINS, S. R. M.; GOMES, T. F.; MARTINELLI, L. A. Reassessing the environmental impacts of sugarcane ethanol production in Brazil to help meet sustainability goals. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 52, p. 1847-1856, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.rser.2015.08.012>

FOLEY, J. A.; DEFRIES, R.; ASNER, G. P.; BARFORD, C.; BONAN, G.; CARPENTER, S. R.; CHAPIN, F. S.; COE, M. T.; DAILY, G. C.; GIBBS, H. K.; HELKOWSKI, J. H.; HOLLOWAY, T.; HOWARD, E. A.; KUCHARIK, C. J.; MONFREDA, C.; PATZ, J. A.; PRENTICE, I. C.; RAMANKUTTY, N.; SNYDER, P. K. Global consequences of land use. **Science**, v. 309, n. 5734, p. 570-574, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1126/science.111177>

FOURNIER, M.; ROBERT, J.; SALO, H. M.; DAUTREMEPUITS, C.; BROUSSEAU, P. Immunotoxicology of amphibians. **Applied Herpetology**, v. 2, n. 3, p. 297-309, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1163/1570754054507451>

FRANCO-BELUSSI, L.; ZIERI, R.; SANTOS, L.R.S.; MORESCO, R.M.; DE OLIVEIRA, C. Pigmentation in anuran testes: anatomical pattern and variation. **The Anatomical Record: Advances in Integrative Anatomy and Evolutionary Biology: Advances in Integrative Anatomy and Evolutionary Biology**, v. 292, n. 2, p. 178-182, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1002/ar.20832>

FRANCO-BELUSSI, L.; DE OLIVEIRA, C. The spleen of *Physalaemus nattereri* (Amphibia: Anura): morphology, melanomacrophage pigment compounds and responses to α -melanocyte stimulating hormone. **Italian Journal of Zoology**, v. 83, n. 3, p. 298-305, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1080/11250003.2016.1194488>

FRANCO-BELUSSI, L.; FANALI, L. Z.; DE OLIVEIRA, C. UV-B affects the immune system and promotes nuclear abnormalities in pigmented and non-pigmented bullfrog

tadpoles. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 180, p. 109-117, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2018.01.022>

FRANCO-BELUSSI, L.; JONES-COSTA, M.; SALLA, R. F.; SOUZA, B. F. S.; PINTO-VIDAL, F. A.; OLIVEIRA, C. R.; SILVA-ZACARIN, E. C. M.; ABDALLA, F. C.; DUARTE, I. C. S.; DE OLIVEIRA, C. Hepatotoxicity of the anionic surfactant linear alkylbenzenesulphonate (LAS) in bullfrog tadpoles. **Chemosphere**, v. 266, 129014, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.129014>

FRANCO-BELUSSI, L.; LEITE, G. B.; FREITAS, J. S.; DE OLIVEIRA, C. Morphological effects of bacterial compoundson testes of *Eupemphix nattereri* (Anura). **Animal Biology**, v. 64, n. 3, p. 261-275, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1163/15707563-00002445>

FRANCO-BELUSSI, L.; PROVETE, D. B.; BORGES, R. E.; OLIVEIRA, C.; SANTOS, L. R. S. Idiosyncratic liver alterations of five frog species to land use changes in the Brazilian Cerrado. **PeerJ**, v. 8, 2020. <https://doi.org/10.1101/837534>

FRANCO-BELUSSI, L.; PROVETE, D. B.; LEÃO, T. R.; SIQUEIRA, M. S.; VALVERDE, B. S. L.; MARTINS, B. O.; DE OLIVEIRA, C.; FERNANDES, C. E. Hematological parameters of a Neotropical wild frog population, with a phylogenetic perspective on blood cell composition in Anura. **Current Zoology**, v. 68, n. 3, p. 361-369, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1093/cz/zoab059>

FRANCO-BELUSSI, L.; SANTOS, L. R. S.; ZIERI, R.; DE OLIVEIRA, C. Visceral pigmentation in four *Dendropsophus* species (Anura: Hylidae): Occurrence and comparison. **Zoologischer Anzeiger**, v. 250, p. 102-110, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jcz.2010.12.001>

FRANCO-BELUSSI, L.; SANTOS, L. R. S.; ZIERI, R.; OLIVEIRA, C. Visceral pigmentation in three species of the genus *Scinax* (Anura: Hylidae): distinct morphological pattern. **The Anatomical Records**, v. 295, p. 298-306, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1002/ar.21524>

FRANCO-BELUSSI, L.; SKOLD, H. N.; DE OLIVEIRA, C. Internal pigment cells respond to external UV radiation in frogs. **Journal of Experimental Biology**, v. 219, p. 1378-1383, 2016. <https://doi.org/10.1242/jeb.134973>

FRANCO-BELUSSI, L.; ZIERI, R.; SANTOS, L. R. S.; MORESCO, R. M.; OLIVEIRA, C. Pigmentation in Anuran Testes: Anatomical Pattern and Variation. **The Anatomical Records**, v. 292, p. 178-182, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1002/ar.20832>

FREERE, R. H.; WEIBEL, E. R. Stereologic techniques in microscopy. **Journal of the Royal Microscopical Society**, v. 87, n. 1, p. 25-34, 1967. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2818.1967.tb04489.x>

FREITAS, J. S.; GIROTTO, L.; GOULART, B. V.; ALHO, L. D. O. G.; GEBARA, R. C.; MONTAGNER, C. C.; SCHIESARI, L.; ESPÍNDOLA, E. L. G. Effects of 2, 4-D-based herbicide (DMA® 806) on sensitivity, respiration rates, energy reserves and behavior of tadpoles. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 182, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.109446>

FRENCH, S. S.; DENARDO, D. F.; MOORE, M. C. Trade-offs between the reproductive and immune systems: facultative responses to resources or obligate responses to reproduction? **The American Naturalist**, v. 170, n. 1, p. 79-89, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1086/518569>

FUESS, L. T.; ALTOÉ, M. E.; FELIPE, M. C.; GARCIA, M. L. Pros and cons of fertirrigation with in natura sugarcane vinasse: do improvements in soil fertility offset environmental and bioenergy losses? **Journal of Cleaner Production**, v. 319, 128684, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2021.128684>

FUESS, L. T.; GARCIA, M. L.; ZAIAT, M. Seasonal characterization of sugarcane vinasse: Assessing environmental impacts from fertirrigation and the bioenergy recovery potential through biodigestion. **Science of the Total Environment**, v. 634, p. 29-40, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.03.326>

GADGIL, M.; BOSSERT, W. H. Life Historical Consequences of Natural Selection. **The American Naturalist**, v. 104, n. 935, p. 1-28, 1970.

GARCIA NETO, P. G.; NOWAKOWSKI, A. J.; DA SILVA, A. F. C.; OLIVEIRA, O. C. C.; GUERRA, R. N. M.; DE ANDRADE, G. V. Leukocyte profiles of two Neotropical anuran species affected by anthropogenic habitat alteration. **Animal Conservation**, v. 23, n. 5, p. 524-532, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1111/acv.12564>

GARDNER, S. T.; ASSIS, V. R.; SMITH, K. M.; APPEL, A. G.; MENDONÇA, M. T. Innate immunity of Florida cane toads: how dispersal has affected physiological responses to LPS. **Journal of Comparative Physiology B**, v. 190, n. 3, p. 317-327, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00360-020-01272-7>

GLENNEMEIER, K. A.; DENVER, R. J. Role for corticoids in mediating the response of *Rana pipiens* tadpoles to intraspecific competition. **Journal of Experimental Zoology**, v. 292, n. 1, p. 32-40, 2002. DOI: <https://doi.org/10.1002/jez.1140>

GOLEMAN, W. L.; CARR, J. A.; ANDERSON, T. A. Environmentally relevant concentrations of ammonium perchlorate inhibit thyroid function and alter sex ratios in developing *Xenopus laevis*. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 21, n. 3, p. 590-597, 2002. DOI: <https://doi.org/10.1002/etc.5620210318>

GOMES, F. R.; MADELAIRE, C. B.; MORETTI, E. H.; TITON, S. C. M.; ASSIS, V. R. Immunoendocrinology and Ecoimmunology in Brazilian Anurans. **Integrative and Comparative Biology**, v. 62, n. 6, p. 1654-1670, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1093/icb/icac014>

GOMES, F. R.; OLIVEIRA, R. V.; ASSIS, V. R.; JUNIOR, B. T.; MORETTI, E. H.; MENDONÇA, M. T. Interspecific variation in innate immune defenses and stress response of toads from Botucatu (São Paulo, Brazil). **South American Journal of Herpetology**, v. 7, n. 1, p. 1-8, 2012. DOI: <https://doi.org/10.2994/057.007.0101>

GOSSET, A.; POLOMÉ, P.; PERRODIN, Y. Ecotoxicological risk assessment of micropollutants from treated urban wastewater effluents for watercourses at a territorial scale: application and comparison of two approaches. **International Journal of Hygiene and Environmental Health**, v. 224, 113437, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2019.113437>

GRIMM, N. B.; FAETH, S. H.; GOLUBIEWSKI, N. E.; REDMAN, C. L.; WU, J.; BAI, X.; BRIGGS, J. M. Global change and the ecology of cities. **Science**, v. 319, n. 5864, p. 756-760, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1126/science.1150195>

GROGAN, L. F.; ROBERT, J.; BERGER, L.; SKERRATT, L. F.; SCHEELE, B. C.; CASTLEY, J. G.; NEWELL, D. A.; MCCALLUM, H. I. Review of the amphibian immune

response to chytridiomycosis, and future directions. **Frontiers in Immunology**, v. 9, 2536, 2018. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.02536>

GUILLOT, H.; BOISSINOT, A.; ANGELIER, F.; LOURDAIS, O.; BONNET, X.; BRISCHOUX, F. Landscape influences the morphology of male common toads (*Bufo bufo*). **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 233, p. 106-110, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.agee.2016.08.032>

GUO, R.; ZHANG, W.; YANG, Y.; DING, J.; AI, S.; YANG, W.; BAI, X.; ZHANG, Y. Sperm morphology and motility of *Bufo raddei* under long-term environmental heavy metal stress. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 101, n. 3, p. 305-313, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00128-018-2408-3>

HADDAD, C. F.; PRADO, C. P. Reproductive modes in frogs and their unexpected diversity in the Atlantic Forest of Brazil. **BioScience**, v. 55, n. 3, p. 207-217, 2005. DOI: [https://doi.org/10.1641/0006-3568\(2005\)055\[0207:RMIFAT\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1641/0006-3568(2005)055[0207:RMIFAT]2.0.CO;2)

HAMLIN, H. J.; GUILLETTE JR, L. J. Birth defects in wildlife: the role of environmental contaminants as inducers of reproductive and developmental dysfunction. **Systems Biology in Reproductive Medicine**, v. 56, n. 2, p. 113-121, 2010. DOI: <https://doi.org/10.3109/19396360903244598>

HANSEN, A. J.; DEFRIES, R. S.; TURNER, W. Land Use Change and Biodiversity. In: GUTMAN, G.; JANETOS, A. C.; JUSTICE, C. O.; MORAN, E. F.; MUSTARD J. F.; RINDFUSS, R. R.; SKOLE, D.; TURNER, B. L.; COCHRANE, M. A. **Land Change Science**. Dordrecht: Springer, 2012. p. 277-299. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-2562-4_16

HANSEN, J. D.; ZAPATA, A. G. Lymphocyte development in fish and amphibians. **Immunological Reviews**, v. 166, p. 199-220, 1998. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1600-065X.1998.tb01264.x>

HAYES, T. B.; COLLINS, A.; LEE, M.; MENDOZA, M.; NORIEGA, N.; STUART, A. A.; VONK, A. Hermaphroditic, demasculinized frogs after exposure to the herbicide atrazine at low ecologically relevant doses. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 99, n. 8, p. 5476-5480, 2002. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.082121499>

HAYES, T. B.; CASE, P.; CHUI, S.; CHUNG, D.; HAEFFELE, C.; HASTON, K.; LEE, M.; MAI, V. P.; MARJUOA, Y.; PARKER, J.; TSUI, M. Pesticide mixtures, endocrine disruption, and amphibian declines: are we underestimating the impact? **Environmental Health Perspectives**, v. 114, p. 40-50, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1289/ehp.8051>

HAYES, T. B.; FALSO, P.; GALLIPEAU, S.; STICE, M. The cause of global amphibian declines: a developmental endocrinologist's perspective. **Journal of Experimental Biology**, v. 213, n. 6, p. 921-933, 2010a. DOI: <https://doi.org/10.1242/jeb.040865>

HAYES, T. B.; HASTON, K.; TSUI, M.; HOANG, A.; HAEFFELE, C.; VONK, A. Atrazine-induced hermaphroditism at 0.1 ppb in american leopard frogs (*Rana pipiens*): laboratory and field evidence. **Environmental Health Perspectives**, v. 111, n. 4, p. 568-575, 2003. DOI: <https://doi.org/10.1289/ehp.5932>

HAYES, T. B.; KHOURY, V.; NARAYAN, A.; NAZIR, M.; PARK, A.; BROWN, T.; ADAME, L.; CHAN, E.; BUCHHOLZ, D.; STUEVE, T.; GALLIPEAU, S. Atrazine

induces complete feminization and chemical castration in male African clawed frogs (*Xenopus laevis*). **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 107, n. 10, p. 4612-4617, 2010b. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.0909519107>

HOFFMANN, F.; KLOAS, W. An environmentally relevant endocrine-disrupting antiandrogen, vinclozolin, affects calling behavior of male *Xenopus laevis*. **Hormones and Behavior**, v. 58, n. 4, p. 653-659, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2010.06.008>

HOFFMANN, F.; KLOAS, W. p, p'-Dichlordiphenyldichloroethylene (p, p'-DDE) can elicit antiandrogenic and estrogenic modes of action in the amphibian *Xenopus laevis*. **Physiology and Behavior**, v. 167, p. 172-178, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2016.09.012>

HUA, J.; JONES, D. K.; MATTES, B. M.; COTHRAN, R. D.; RELYEA, R. A.; HOVERMAN, J. T. The contribution of phenotypic plasticity to the evolution of insecticide tolerance in amphibian populations. **Evolutionary Applications**, v. 8, n. 6, p. 586-596, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1111/eva.12267>

HUANG, M. Y.; DUAN, R. Y.; JI, X. The influence of long-term cadmium exposure on phonotaxis in male *Pelophylaxnigromaculata*. **Chemosphere**, v. 119, p. 763-768, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.08.014>

HUSSAIN, Q. A.; PANDIT, A. K. Global amphibian declines: a review. **International Journal of Biodiversity and Conservation**, v. 4, n. 10, p. 348-357, 2012. DOI: <https://doi.org/10.5897/IJBC12.008>

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2022. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/> Acessado em: 13 de dezembro de 2022.

ICMBio – Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade. 2022. Parque Nacional das Emas. Disponível em: <https://www.gov.br/icmbio/pt-br/assuntos/biodiversidade/unidade-de-conservacao/unidades-de-biomas/cerrado/lista-de-ucs/parna-das-emas> . Acessadoem: 13 de dezembro de 2022.

IGLESIAS-CARRASCO, M.; HEAD, M. L.; JENNIONS, M. D.; CABIDO, C. Condition-dependent trade-offs between sexual traits, body condition and immunity: the effect of novel habitats. **BMC Evolutionary Biology**, v. 16, n. 1, p. 1-10, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12862-016-0706-0>

IGLESIAS-CARRASCO, M.; MARTÍN, J.; CABIDO, C. Urban habitats can affect body size and body condition but not immune response in amphibians. **Urban Ecosystems**, v. 20, n. 6, p. 1331-1338, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11252-017-0685-y>

IMB – Instituto Mauro Borges de estatísticas e estudos socioeconômicos. Goiás em dados 2022. Disponível em: < <https://www.imb.go.gov.br> >. Acessado em: 13 de dezembro de 2022.

IUCN, 2022. The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2021-3. Disponível em: <https://www.iucnredlist.org> . Acessado em:15 de julho de 2022.

JANIN, A.; LÉNA, J. P.; JOLY, P. Beyond occurrence: body condition and stress hormone as integrative indicators of habitat availability and fragmentation in the common toad. **Biological Conservation**, v. 144, n. 3, p. 1008-1016, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2010.12.009>

JASROTIA, R.; LANGER, S.; DHAR, M. Endocrine Disrupting Chemicals in Aquatic Ecosystem: An Emerging Threat to Wildlife and Human Health. **Proceedings of the Zoological Society**, v. 74, p. 634–647, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12595-021-00410-5>

JIA, X.; WANG, D.; GAO, N.; CAO, H.; ZHANG, H. Atrazine triggers the extrinsic apoptosis pathway in lymphocytes of the frogs *Phelophylaxnigromaculata* in vivo. **Chemical Research in Toxicology**, v. 28, n. 10, p. 2010-2018 2015. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.chemrestox.5b00238>

JIANG, R.; LIU, J.; HUANG, B.; WANG, X.; LUAN, T.; YUAN, K. Assessment of the potential ecological risk of residual endocrine-disrupting chemicals from wastewater treatment plants. **Science of The Total Environment**, v. 714, 136689, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.136689>

JUHASZ, A. L.; NAIDU, R. Bioremediation of high molecular weight polycyclic aromatic hydrocarbons: a review of the microbial degradation of benzo[a]pyrene. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 45, n. 1, p. 57-88, 2000. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0964-8305\(00\)00052-4](https://doi.org/10.1016/S0964-8305(00)00052-4)

KARLSSON, O.; SVANHOLM, S.; ERIKSSON, A.; CHIDIAC, J.; ERIKSSON, J.; JERNERÉN, F.; BERG, C. Pesticide-induced multigenerational effects on amphibian reproduction and metabolism. **Science of the Total Environment**, v. 775, 145771, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.145771>

KIESECKER, J. M. Synergism between trematode infection and pesticide exposure: a link to amphibian limb deformities in nature? **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 99, n. 15, p. 9900-9904, 2002. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.152098899>

KINDERMANN, C.; NARAYAN, E. J.; HERO, J. M. Does physiological response to disease incur cost to reproductive ecology in a sexually dichromatic amphibian species? **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology**, v. 203, p. 220-226, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2016.09.019>

KLOAS, W. Amphibians as a model for the study of endocrine disruptors. **International Review of Cytology**, v. 216, p. 1-57, 2002. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0074-7696\(02\)16002-5](https://doi.org/10.1016/S0074-7696(02)16002-5)

KLOAS, W.; LUTZ, I. Amphibians as model to study endocrine disrupters. **Journal of Chromatography A**, v. 1130, n. 1, p. 16-27, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2006.04.001>

KOLBY, J. E. Amphibia: global amphibian declines caused by an emerging infectious disease and inadequate immune responses. *In*: COOPER, E. L. **Advances in comparative immunology**. Springer, 2018. p. 981-990. DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-319-76768-0_29

KOLPIN, D. W.; FURLONG, D. T.; MEYER, M. T.; THURMAN, E. M.; ZAUGG, S. D.; BARRER, L. B.; BUXTON, H. T. Pharmaceutical, hormones, and others organic wastewater contaminants in U.S. streams, 1999-2000: a national reconnaissance. **Environmental Science &Tecnology**,v. 36, n. 6, p. 1202-1211, 2002. DOI: <https://doi.org/10.1021/es011055j>

LARSSON, B. S. Interaction between chemicals and melanin. **Pigment Cell Research**, v. 6, n. 3, p. 127-133, 1993. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1600-0749.1993.tb00591.x>

LEARY, C. J.; LIPPINCOTT, J.; HARRIS, S.; HAWKINS, D. L. A test of the Energetics-Hormone Vocalization model in the green treefrog. **General and Comparative Endocrinology**, v. 213, p. 32-39, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2014.12.017>

LEITE, G. B.; FRANCO-BELUSSI, L.; PROVETE, D. B.; DE OLIVEIRA, C. Comparativetestismorphologyof Neotropical anurans. **Zoologischer Anzeiger**, v. 257, p. 29-38, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jcz.2015.04.005>

LI, B.; ZHANG, W.; WANG, T.; ZHOU, L. Breeding habitat influences abundance and body condition of rice frog (*Fejervaryamultistriata*) in agricultural landscape of Shanghai, China. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 279, p. 74-79, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.agee.2019.04.003>

LI, B.; ZHANG, W.; WANG, Z.; XIE, H.; YUAN, X.; PEI, E.; WANG, T. Effects of landscape heterogeneity and breeding habitat diversity on rice frog abundance and body condition in agricultural landscapes of Yangtze River Delta, China. **Current Zoology**, v. 66, n. 6, p. 615-623, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1093/cz/zoaa025>

LI, S.; LI, M.; GUI, W.; WANG, Q.; ZHU, G. Disrupting effects of azocyclotin to the hypothalamo-pituitary-gonadal axis and reproduction of *Xenopus laevis*. **Aquatic Toxicology**, v. 185, p. 121-128, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2017.02.010>

LI, Y.; COHEN, J. M.; ROHR, J. R; Review and synthesis of the effects of climate change on amphibians. **Integrative Zoology**, v. 8, p. 145-161, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1111/1749-4877.12001>

LIAO, W. B.; MI, Z. P.; ZHOU, C. Q.; JIN, L.; HAN, X.; LOU, S. L.; MA, J. Relative testis size and mating systems in anurans: large testis in multiple-male mating in foam-nesting frogs. **Animal Biology**, v. 61, n. 2, p. 225-238, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1163/157075511X570312>

LINZEY, D.; BURROUGHS, J.; HUDSON, L.; MARINI, M.; ROBERTSON, J.; BACON, J.; NAGARKATTI, M.; NAGARKATTI, P. Role of environmental pollutants on immune functions, parasitic infections and limb malformations in marine toads and whistling frogs from Bermuda. **International Journal of Environmental Health Research**, v. 13, n. 2, p. 125-148, 2003. DOI: <https://doi.org/10.1080/0960312031000098053>

LIVINGSTONE, D. R. Biotechnology and pollution monitoring: Use of molecular biomarkers in the aquatic environment. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, v. 57, p. 195-211, 1993. DOI: <https://doi.org/10.1002/jctb.280570302>

LOCHMILLER, R. L.; DEERENBERG, C. Trade-offs in evolutionary immunology: just what is the cost of immunity? **Oikos**, v. 88, n. 1, p. 87-98, 2000. DOI: <https://doi.org/10.1034/j.1600-0706.2000.880110.x>

LUCAS, E. M.; BRASILEIRO, C. A.; OYAMAGUCHI, H. M.; MARTINS, M. The reproductive ecology of *Leptodactylus fuscus* (Anura, Leptodactylidae): new data from natural temporary ponds in the Brazilian Cerrado and a review throughout its distribution. **Journal of Natural History**, v. 42, n. 35-36, p. 2305-2320, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1080/00222930802254698>

LUTTON, B.; CALLARD, I. Evolution of reproductive – immune interactions. **Integrative and Comparative Biology**, v. 46, n. 6, p. 1060-1071, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1093/icb/icl050>

MACCRACKEN, J. G.; STEBBINGS, J. L. Test of a body condition index with amphibians. **Journal of Herpetology**, v. 46, n. 3, p. 346-350, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1670/10-292>

MACKENZIE, C. A.; BERRILL, M.; METCALFE, C.; PAULI, B. D. Gonadal differentiation in frogs exposed to estrogenic and antiestrogenic compounds. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 22, n. 10, p. 2466-2475, 2003. DOI: <https://doi.org/10.1897/02-173>

MACKINTOSH, T.; DAVIS, J. The importance of urban wetlands. *In*: PAULS, S. **Workbook for managing urban wetlands in Australia**. Sydney Olympic Park Authority. 2013. p. 2-17.

MADELAIRE, C. B.; CASSETTARI, B. O.; GOMES, F. R. Immunomodulation by testosterone and corticosterone in toads: Experimental evidences from transdermal application. **General and Comparative Endocrinology**, v. 273, p. 227-235, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2018.09.005>

MADELAIRE, C. B.; GOMES, F. R. Breeding under unpredictable conditions: annual variation in gonadal maturation, energetic reserves and plasma levels of androgens and corticosterone in anurans from the Brazilian semi-arid. **General and Comparative Endocrinology**, v. 228, p. 9-16, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2016.01.011>

MADELAIRE, C. B.; SOKOLOVA, I.; GOMES, F. R. Seasonal patterns of variation in steroid plasma levels and immune parameters in anurans from Brazilian semiarid area. **Physiological and Biochemical Zoology**, v. 90, n. 4, p. 415-433, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1086/691202>

MANN, R. M.; HYNE, R. V.; CHOUNG, C. B.; WILSON, S. P. Amphibians and agricultural chemicals: review of the risks in a complex environment. **Environmental Pollution**, v. 157, n. 11, p. 2903-2927, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2009.05.015>

MAPA – Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Relatório Consolidado de Ingredientes Ativos, 2020. Disponível em: https://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_con. Acessado em: 22 de março de 2023.

MAPBIOMAS – Coleção 7.0 da Série Anual de Mapas de Uso e Cobertura da Terra do Brasil, 2023. Disponível em: <https://plataforma.brasil.mapbiomas.org/>. Acessado em: 28 de janeiro de 2023.

MARAGNO, F. P.; CECHIN, S. Z. Reproductive biology of *Leptodactylus fuscus* (Anura, Leptodactylidae) in the subtropical climate, Rio Grande do Sul, Brazil. **Iheringia. Série Zoologia**, v. 99, p. 237-241, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0073-47212009000300002>

MARCOGLIESE, D. J.; KING, K. C.; SALO, H. M.; FOURNIER, M.; BROUSSEAU, P.; SPEAR, P.; CHAMPOUX, L.; MCLAUGHLIN, J. D.; BOILY, M. Combined effects of agricultural activity and parasites on biomarkers in the bullfrog, *Rana catesbeiana*.

Aquatic Toxicology, v. 91, n. 2, p. 126-134, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2008.10.001>

MATÍAS-FERRER, N.; ESCALANTE, P. Size, body condition, and limb asymmetry in two hylid frogs at different habitat disturbance levels in Veracruz, Mexico. **The Herpetological Journal**, v. 25, n. 3, p. 169-176, 2015.

MARTIN, L. B.; HOPKINS, W. A.; MYDLARZ, L. D.; ROHR, J. R. The effects of antropogenic global changes on imune functions and disease resistance. **Annals of the New York Academy of Science**, v. 1195, n. 1, p. 129-148, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2010.05454.x>

MATTHIESSEN, P.; WHEELER, J. R.; WELTJE, L. A review of the evidence for endocrine disrupting effects of current-use chemicals on wildlife populations. **Critical Reviews in Toxicology**, v. 48, n. 3, p. 195-216, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1080/10408444.2017.1397099>

MCCALLUM, M. L.; TRAUTH, S. E. Physiological trade-offs between immunity and reproduction in the northern cricket frog (*Acris crepitans*). **Herpetologica**, v. 63, n. 3, p. 269-274, 2007. DOI: [https://doi.org/10.1655/0018-0831\(2007\)63\[269:PTBIAR\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1655/0018-0831(2007)63[269:PTBIAR]2.0.CO;2)

MCCOY, K. A.; AMANTO, C. M.; GUILLETTE, J. R. L. J.; MARY, C. M. S. Giant toads (*Rhinella marina*) living in agricultural areas have altered spermatogenesis. **Science of the Total Environment**, v. 609, p. 1230-1237, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.07.185>

MCCOY, K. A.; BORTNICK, L. J.; CAMPBELL, C. M.; HAMLIN, H. J.; GUILLETTE JR, L. J.; MARY, C. M. ST. Agriculture alters gonadal form and function in the toad *Bufo marinus*. **Environmental Health Perspectives**, v. 116, n. 11, p. 1526-1532, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1289/ehp.11536>

MCCOY, K. A.; PERALTA, A. L. Pesticides could alter amphibian skin microbiomes and the effects of *Batrachochytrium dendrobatidis*. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, 2018. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00748>

MCDANIEL, T. V.; MARTIN, P. A.; STRUGER, J.; SHERRY, J.; MARVIN, C. H.; MCMASTER, M. E.; CLARENCE, S.; TETREAULT, G. Potential endocrine disruption of sexual development in free ranging male northern leopard frogs (*Rana pipiens*) and green frogs (*Rana clamitans*) from areas of intensive row crop agriculture. **Aquatic Toxicology**, v. 88, n. 4, p. 230-242, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2008.05.002>

MCKINNEY, M. L. Urbanization, Biodiversity, and Conservation: The impacts of urbanization on native species are poorly studied, but educating a highly urbanized human population about these impacts can greatly improve species conservation in all ecosystems. **Bioscience**, v. 52, n. 10, p. 883-890, 2002. DOI: [https://doi.org/10.1641/0006-3568\(2002\)052\[0883:UBAC\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1641/0006-3568(2002)052[0883:UBAC]2.0.CO;2)

MEBIUS, R. E.; KRAAL, G. Structure and function of the spleen. **Nature Reviews Immunology**, v. 5, n. 8, p. 606-616, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1038/nri1669>

MONTEZOL, M.; CASSEL, M.; SILVA, D.; FERREIRA, A.; MEHANNA, M. Gametogenesis and reproductive dynamics of *Rhinella schneideri* (Anura: Bufonidae): Influence of environmental and anthropogenic factors. **Acta Zoologica**, v. 99, n. (1), p. 93-104, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1111/azo.12195>

MORESCO, R. M.; MARGARIDO, V. P.; DE OLIVEIRA, C. A persistent organic pollutant related with unusual high frequency of hermaphroditism in the neotropical anuran *Physalaemus cuvieri* Fitzinger, 1826. **Environmental Research**, v. 132, p. 6-11, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.envres.2014.03.028>

MOSCONI, G.; CARNEVALI, O.; FRANZONI, M. F.; COTTONE, E.; LUTZ, I.; KLOAS, W.; YAMAMOTO, K.; KIKUYAMA, S.; POLZONETTI-MAGNI, A. M. Environmental estrogens and reproductive biology in amphibians. **General and Comparative Endocrinology**, v. 126, n. 2, p. 125-129, 2002. DOI: <https://doi.org/10.1006/gcen.2002.7781>

MURPHY, M. B.; HECKER, M.; COADY, K. K.; TOMPSETT, A. R.; JONES, P. D.; DU PREEZ, L. H.; EVERSON, G. J.; SOLOMON, K. R.; CARR, J. A.; SMITH, E. E.; KENDALL, R. J.; VAN DER KRAAK, G.; GIESY, J. P. Atrazine concentrations, gonadal gross morphology and histology in ranid frogs collected in Michigan agricultural areas. **Aquatic Toxicology**, v. 76, n. 3-4, p. 230-245, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2005.09.010>

NARAYAN, E. J.; COCKREM, J. F.; HERO, J. M. Sight of a predator induces a corticosterone stress response and generates fear in an amphibian. **PlosOne**, v. 8, n. 8, e73564, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0073564>

NAVAS, C. A.; OTANI, L. Physiology, environmental change, and anuran conservation. **Phyllomedusa: Journal of Herpetology**, v. 6, n. 2, p. 83-103, 2007. <https://doi.org/10.11606/issn.2316-9079.v6i2p83-103>

NELLEMANN, C.; MACDEVETTE, M.; MANDERS, T.; EICKHOUT, B.; SVIHUS, B.; PRINS, A. G.; KALTENBORN, B. P. **The environmental food crisis – The environment's role in averting future food crises. A UNEP rapid response assessment**. United Nations Environment Programme, GRID-Arendal, 2009. Disponível em: <<https://www.grida.no/publications/154>>. Acessado em: 25 de Agosto de 2022.

NEWBOLD, T.; HUDSON, L. N.; HILL, S. L.; CONTU, S.; LYSENKO, I.; SENIOR, R. A.; BÖRGER, L.; BENNETT, D. J.; CHOIMES, A.; COLLEN, B.; DAY, J.; DE PALMA, A.; DÍAZ, S.; ECHEVERRÍA-LONDOÑO, S.; EDGAR, M. J.; FELDMAN, A.; GARON, M.; HARRISON, M. L. K.; ALHUSSEINI, T.; INGRAM, D. J.; ITESCU, Y.; KATTGE, J.; KEMP, V.; KIRKPATRICK, L.; KLEYER, M.; CORREIA, D. L. P.; MARTIN, C. D.; MEIRI, S.; NOVOSOLOV, M.; PAN, Y.; PHILLIPS, H. R. P.; PURVES, D. W.; ROBINSON, A.; SIMPSON, J.; TUCK, S. L.; WEIHER, E.; WHITE, H. J.; EWERS, R. M.; MACE, G. M.; SCHARLEMANN, J. P. W.; PURVIS, A. Global effects of land use on local terrestrial biodiversity. **Nature**, v. 520, n. 7545, p. 45-50, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1038/nature14324>

NEWBOLD, T. Future effects of climate and land-use change on terrestrial vertebrate community diversity under different scenarios. **Proceedings of the Royal Society B**, v. 285, n. 1881, 20180792, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1098/rspb.2018.0792>

NILSSON, S. Autonomic nerve function in the vertebrates. Springer Science & Business Media, 2012.

NORDLING, D.; ANDERSSON, M.; ZOHARI, S.; GUSTAFSSON, L. Reproductive effort reduce specific immune response and parasite resistance. **The Royal Society**, v. 265, p. 1291-1298, 1998. DOI: <https://doi.org/10.1098/rspb.1998.0432>

NORRIS, D. O.; JONES, R. E. Hormones and Reproduction in Fishes, Amphibians, and Reptiles. Plenum Press, 1987.

NORRIS, K.; EVANS, M. R. Ecological immunology: life history trade-offs and immune-defense in birds. **Behavioral Ecology**, v. 11, n. 1, p. 19-26, 2000. DOI: <https://doi.org/10.1093/beheco/11.1.19>

NUNES, A. L.; FILL, J. M.; DAVIES, S. J.; LOUW, M.; REBELO, A. D.; THORP, C. J.; VIMERCATI, G.; MEASEY, J. (2019). A global meta-analysis of the ecological impacts of alien species on native amphibians. **Proceedings of the Royal Society B**, v. 286, n. 1897, 20182528, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1098/rspb.2018.2528>

OGIELSKA, M.; BARTMAŃSKA, J. Spermatogenesis and male reproductive system in Amphibia – Anura. In: OGIELSKA, M. **Reproduction of Amphibians**. Science Publishers, 2009. p. 34-99.

OKASHA, S. A.; RYU, S.; DO, Y.; MCKALLIP, R. J.; NAGARKATTI, M.; NAGARKATTI, P. S. Evidence for estradiol-induced apoptosis and dysregulated T cell maturation in the thymus. **Toxicology**, v. 163, n. 1, p. 49-62, 2001. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0300-483X\(01\)00374-2](https://doi.org/10.1016/S0300-483X(01)00374-2)

OLIVEIRA, L. L.; COSTA, R. B.; DUARTE, I. C. S.; LUIZ SILVA, E.; VARESCHE, M. B. A. Anaerobic degradation of linear alkylbenzene sulfonate in fluidized bed reactor. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 27, p. 539-543, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0104-66322010000400005>

OLIVEIRA, S. R.; LIMA-RIBEIRO, M. S.; DE SOUZA, A. O.; DOS SANTOS, C. E.; SILVA, K. V.; ZORTEA, M.; GUILHERME, F. A. G.; MELO, F. R.; CARNEIRO, S. E. S.; SILVA, W. V.; MORAIS, A. R. Are protected areas effective in preserving anurans and promoting biodiversity discoveries in the Brazilian Cerrado? **Journal for Nature Conservation**, v. 52, 125734, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jnc.2019.125734>

OPPLIGER, A.; GIOGI, M. S.; NEMBRINI, M.; JOHM-ALDER, H. B. Effects of testosterone on, immunocompetence, parasite load, and metabolism in the common wall lizard (*Podarcismuralis*). **Canadian Journal of Zoology**, v. 82, n. 11, p. 1713-1719, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1139/z04-152>

ORTON, F.; TYLER, C. R. Do hormone-modulating chemicals impact on reproduction and development of wild amphibians? **Biological Reviews**, v. 90, n. 4, p. 1100-1117, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1111/brv.12147>

ORTON, F.; SÄFHOLM, M.; JANSSON, E.; CARLSSON, Y.; ERIKSSON, A.; FICK, J.; UREN WEBSTER, T.; MCMILLAN, T.; LEISHMAN, M.; VERBRUGGEN, B.; BERG, C. Exposure to an anti-androgenic herbicide negatively impacts reproductive physiology and fertility in *Xenopus tropicalis*. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 1-15, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-018-27161-2>

OTHMAN, M. S.; KHONSUE, W.; KITANA, J.; THIRAKHUPT, K.; ROBSON, M. G.; KITANA, N. Reproductive mode of *Fejervaryalimnocharis* (Anura: Ranidae) caught from Mae Sot, Thailand based on its gonadosomatic indices. **Asian Herpetological Research**, v. 2, n. 1, p. 41-45, 2011. DOI: <https://doi.org/10.3724/SP.J.1245.2011.00041>

PEIG, J.; GREEN, A. J. New perspectives for estimating body condition from mass/length data: the scaled mass index as an alternative method. **Oikos**, v. 118, n. 12, p. 1883-1891, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1600-0706.2009.17643.x>

PEIG, J.; GREEN, A. J. The paradigm of body condition: a critical reappraisal of current methods based on mass and length. **Functional Ecology**, v. 24, n. 6, p. 1323-1332, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2435.2010.01751.x>

PEÑA-GUZMÁN, C.; ULLOA-SÁNCHEZ, S.; MORA, K.; HELENA -BUSTOS, R.; LOPEZ-BARRERA, E.; ALVAREZ, J.; RODRIGUEZ-PÍNZÓN, M.. Emerging pollutants in the urban water cycle in Latin America: A review of the current literature. **Journal of environmental management**, v. 237, p. 408-423, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.02.100>

PETTERSSON, I.; ARUKWE, A.; LUNDSTEDT-ENKEL, K.; MORTENSEN, A. S.; BERG, C. Persistent sex-reversal and oviducal agenesis in adult *Xenopus (Silurana) tropicalis* frogs following larval exposure to the environmental pollutant ethynylestradiol. **Aquatic Toxicology**, v. 79, n. 4, p. 356-365, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2006.07.004>

PETTERSSON, I.; BERG, C. Environmentally relevant concentrations of ethynylestradiol cause female-biased sex ratios in *Xenopus tropicalis* and *Rana temporaria*. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 26, n. 5, p. 1005-1009, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1897/06-464R.1>

POCHINI, K.; HOVERMAN, J. Immediate and lag effects of pesticide exposure on parasite resistance in larval amphibians. **Parasitology**, v. 144, n. 6, p. 817-822, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1017/S0031182016002560>

PONGRATZ, J.; SCHWINGSHACKL, C.; BULTAN, S.; OBERMEIER, W.; HAVERMANN, F.; GUO, S. Land use effects on climate: current state, recent progress, and emerging topics. **Current Climate Change Reports**, v. 7, p. 99-120, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1007/s40641-021-00178-y>

PORTELA, A. A. B.; DOS SANTOS, T. G.; DOS ANJOS, L. A. Changes in land use affect anuran helminths in the South Brazilian grasslands. **Journal of Helminthology**, v. 94, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1017/S0022149X20000905>

POULSEN, R.; LUONG, X.; HANSEN, M.; STYRISHAVE, B.; HAYES, T. Tebuconazole disrupts steroidogenesis in *Xenopus laevis*. **Aquatic Toxicology**, v. 168, p. 28-37, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2015.09.008>

PRADO, C. P. A.; HADDAD, C. F. Testes size in leptodactylid frogs and occurrence of multimale spawning in the genus *Leptodactylus* in Brazil. **Journal of Herpetology**, v. 37, n. 2, p. 354-362, 2003. DOI: [https://doi.org/10.1670/0022-1511\(2003\)037\[0354:TSILFA\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1670/0022-1511(2003)037[0354:TSILFA]2.0.CO;2)

PRIYADARSHANI, S.; MADHUSHANI, W. A. N.; JAYAWARDENA, U. A.; WICKRAMASINGHE, D. D.; UDAGAMA, P. V. Heavy metal mediated immunomodulation of the Indian green frog, *Euphlyctis hexadactylus* (Anura: Ranidae) in urban wetlands. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 116, p. 40-49, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2015.02.037>

PROVETE, D. B.; FRANCO-BELUSSI, L.; DE SOUZA SANTOS, L. R.; ZIERI, R.; MORESCO, R. M.; MARTINS, I. A.; DE ALMEIDA, S. C.; DE OLIVEIRA, C. Phylogenetic signal and variation of visceral pigmentation in eight anuran families. **Zoologica Scripta**, v. 41, p. 547-556, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1463-6409.2012.00559.x>

PUCCI ALCAIDE, A.; PUCCI ALCAIDE, F. J.; MICHEL, A. A.; PONSSA, M. L. Testicular histology of anurans that deposit eggs out of the water. **Acta Zoológica Lilloana**, v. 64, n. 2, 84-115, 2020. DOI: <https://doi.org/10.30550/j.azl/2020.64.2/2>

PYRON, R. A. Global amphibian declines have winners and losers. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 115, n. 15, p. 3739-3741, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.1803477115>

QUARANTA, A.; BELLANTUONO, V.; CASSANO, G.; LIPPE, C. Why amphibians are more sensitive than mammals to xenobiotics. **PlosOne**, v. 4, n. 11, e7699, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0007699>

RAI, P. K. Heavy metal pollution aquatic ecosystems and its phytoremediation using wetland plants: an ecosustainable approach. **International Journal of Phytoremediation**, v. 10, p. 133-160, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1080/15226510801913918>

RAI, P. K. Heavy metals in water, sediments and wetland plants, in aquatic ecosystem, industrial region, India. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 158, p. 433-457, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10661-008-0595-9>

RAMM, S. A.; SCHÄRER, L. The evolutionary ecology of testicular function: size isn't everything. **Biological Reviews**, v. 89, n. 4, p. 874-888, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1111/brv.12084>

RASTOGI, R. K.; BAGNARA, J. T.; IELA, L.; KRASOVICH, M. A. Reproduction in the Mexican leaf frog, *Pachymedusa dacnicolor*. IV. Spermatogenesis: a light and ultrasonic study. **Journal of Morphology**, v. 197, n. 3, p. 277-302, 1988. DOI: <https://doi.org/10.1002/jmor.1051970304>

RASTOGI, R. K.; PINELLI, C.; POLESE, G.; D'ANIELLO, B.; CHIEFFI-BACCARI, G. Hormones and reproductive cycles in anuran amphibians. In: NORRIS, D. O.; LOPEZ K. H. **Hormones and Reproduction of Vertebrates**. Academic Press, 2011. p. 171-186. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374931-4.10009-4>

READING, C. J.; LOMAN, J.; MADSEN, T. Breeding pond fidelity in the common toad, *Bufo bufo*. **Journal of Zoology**, v. 225, p. 201-211, 1991. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7998.1991.tb03811.x>

REBELATO, M. G.; MADALENO, L. L.; RODRIGUES, A. M. Ponderação do impacto ambiental dos resíduos e subprodutos da produção industrial sucroenergética. **Revista Gestão Industrial**, v. 9, n. 2, p. 392-415, 2013. DOI: <https://doi.org/10.3895/S1808-04482013000200006>

REID, I. M. Morphometric methods in veterinary pathology: a review. **Veterinary Pathology**, v. 17, n. 5, p. 522-543, 1980. DOI: <https://doi.org/10.1177/030098588001700502>

REZENDE, W. R.; SANTOS, L. R. S.; FRANCO-BELUSSI, L.; DE OLIVEIRA, C. Testicular morphometric changes in neotropical anurans from agroecosystems. **Environmental Pollution**, v. 271, 116265, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.116265>

RIAZ, A.; MAJEED, M.; RIAZ, M. A.; IQBAL, A.; ASHFAQ, U. A. Histopathological alteration in organs of adult male frog after exposure to alpha-cypermethrin. **Pure and**

Applied Biology, v. 11, n. 1, p. 175-180, 2021. DOI: <http://dx.doi.org/10.19045/bspab.2022.110019>

RICHARDSON, S. D. Environmental mass spectrometry: emerging contaminants and current issues. **Analytical Chemistry**, v. 60, n. 12, p. 4373-4402, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1021/ac800660d>

ROBERT, J.; MCGUIRE, C. C.; NAGEL, S.; LAWRENCE, B. P.; ANDINO, F. D. J. Developmental exposure to chemicals associated with unconventional oil and gas extraction alters immune homeostasis and viral immunity of the amphibian *Xenopus*. **Science of the Total Environment**, v. 671, p. 644-654, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.03.395>

ROCHA, E.; MONTEIRO, R. A.; PEREIRA, C. A. Liver of the brown trout, *Salmo trutta* (Teleostei, Salmonidae): a stereological study at light and electron microscopic levels. **The Anatomical Record**, v. 247, n. 3, p. 317-328, 1997. DOI: [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0185\(199703\)247:3<317::AID-AR3>3.0.CO;2-R](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0185(199703)247:3<317::AID-AR3>3.0.CO;2-R)

ROHR, J. R.; SCHOTTHOEFER, A. M.; RAFFEL, T. R.; CARRICK, H. J.; HALSTEAD, N.; HOVERMAN, J. T.; JOHNSON, C. M.; JOHNSON, L. B.; LIESKE, C.; PIWONI, M. D.; SCHOFF, P. K. BEASLEY, V. R. Agrochemicals increase trematode infections in a declining amphibian species. **Nature**, v. 455, n. 7217, p. 1235-1239, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1038/nature07281>

ROJAS-HUCKS, S.; GUTLEB, A. C.; GONZÁLEZ, C. M.; CONTAL, S.; MEHENNAOUI, K.; JACOBS, A.; WITTERS, H. E.; PULGAR, J. *Xenopus laevis* as a bioindicator of endocrine disruptors in the region of Central Chile. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 77, n. 3, p. 390-408, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00244-019-00661-6>

ROLLINS-SMITH, L. A. Metamorphosis and the amphibian immune system. **Immunological Reviews**, v. 166, p. 221-230, 1998. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1600-065X.1998.tb01265.x>

ROLLINS-SMITH, L. A. Amphibian immunity–stress, disease, and climate change. **Developmental & Comparative Immunology**, v. 66, p. 111-119, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.dci.2016.07.002>

ROLLINS-SMITH, L. A.; RAMSEY, J. P.; PASK, J. D.; REINERT, L. K.; WOODHAMS, D. C. Amphibian immune defenses against chytridiomycosis: impacts of changing environments. **Integrative and Comparative Biology**, v. 51, n. 4, p. 552-562, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1093/icb/ucr095>

ROMANOVA, E. B.; EGORIKHINA, M. N. Changes in hematological parameters of *Rana* frogs in a transformed urban environment. **Russian Journal of Ecology**, v. 37, n. 3, p. 188-192, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1134/S1067413606030076>

ROMANOVA, E. B.; SHAPOVALOVA, K. V.; RYABININA, E. S.; GELASHVILI, D. B. Leukocytic indices and micronucleus in erythrocytes as population markers of the immune status of *Pelophylax ridibundus* (Pallas, 1771) (Amphibia: Ranidae) living in various biotopic conditions. **Biology Bulletin**, v. 46, n. 10, p. 1230-1238, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1134/S1062359019100273>

ROSS, M. H.; PAWLINA, W. Histology: a text and atlas: with correlated cell and molecular biology. Lippincott Williams & Wilkins, 2018.

- ROZNIK, E. A.; SAPSFORD, S. J.; PIKE, D. A.; SCHWARZKOPF, L.; ALFORD, R. A. Condition-dependent reproductive effort in frogs infected by a widespread pathogen. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 282, n. 1810, 20150694, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1098/rspb.2015.0694>
- SACCOL, S. S. A.; UCHA, J. L. C. D.; MADALOZZO, B.; CECHIN, S. Z.; SANTOS, T. G. Influence of land use on the diversity of pond-breeding anurans in South Brazilian grasslands. **Biodiversity and Conservation**, v. 31, n. 1, p. 21-37, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10531-021-02317-1>
- SAI, L.; WU, Q.; QU, B.; BO, C.; YU, G.; JIA, Q.; XIE, L.; LI, Y.; GUO, Q.; NG, J. C.; PENG, C. Assessing atrazine-induced toxicities in *Bufo bufogargarizans* Cantor. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 94, p. 152-157, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00128-014-1441-0>
- SANCHEZ, L.; LAJMANOVICH, R. C.; PELTZER, P. M.; MANZANO, A. S.; JUNGES, C. M.; ATTADEMO, A. M. First evidence of the effects of agricultural activities on gonadal form and function in *Rhinella fernandezae* and *Dendropsophus sanborni* (Amphibia: Anura) from Entre Ríos Province, Argentina. **Acta Herpetologica**, v. 68, p. 63-68, 2014. DOI: http://dx.doi.org/10.13128/Acta_Herpetol-13759
- SANTANA, D. J.; FERREIRA, V. G.; CRESTANI, G. N.; NEVES, M. O. Diet of the rufous frog *Leptodactylus fuscus* (Anura, Leptodactylidae) from two contrasting environments. **Herpetozoa**, v. 32, p. 1-6, 2019. DOI: <https://doi.org/10.3897/herpetozoa.32.e35623>
- SANTANA, E.; SCHIESARI, L.; GOMES, F.; MARTINS, M. Morphophysiological traits of an amphibian exposed to historical industrial pollution in a Brazilian biodiversity hotspot. **Amphibia-Reptilia**, v. 42, n. 3, p. 283-295, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1163/15685381-bja10050>
- SANTOS, E. M.; ALMEIDA, A. V.; VASCONCELOS, S. D. Feeding habits of six anuran (Amphibia: Anura) species in a rainforest fragment in Northeastern Brazil. **Iheringia, Série Zoologia**, v. 94, p. 433-438, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0073-47212004000400014>
- SANTOS, L. R. S.; DE OLIVEIRA, C. Histological aspects and structural characteristics of the testes of *Dendropsophus minutus* (Anura, Hylidae). **Micron**, v. 39, n. 8, p. 1266-1270, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.micron.2008.03.006>
- SANTOS, L. R. S.; FRANCO-BELUSSI, L.; DE OLIVEIRA, C. Germ cell dynamics during the annual reproductive cycle of *Dendropsophus minutus* (Anura: Hylidae). **Zoological Science**, v. 28, p. 840-844, 2011. DOI: <https://doi.org/10.2108/zsj.28.840>
- SANTOS, L. R. S.; FRANCO-BELUSSI, L.; ZIERI, R.; BORGES, R. E.; DE OLIVEIRA, C. Effects of thermal stress on hepatic melanomacrophages of *Eupemphix nattereri* (Anura). **The Anatomical Record**, v. 297, n. 5, p. 864-875, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1002/ar.22884>
- SCHIESARI, L.; GRILLITSCH, B.; GRILLITSCH, H. Biogeographic biases in research and their consequence for linking amphibian declines to pollution. **Conservation Biology**, v. 21, n. 2, p. 465-471, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1523-1739.2006.00616.x>

SCHIESARI, L.; GRILLITSCH, B. Pesticides meet megadiversity in the expansion of biofuel crops. **Frontiers in Ecology and the Environment**, v. 9, n. 4, p. 215-221, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1890/090139>

SCHOENLE, L. A.; DOWNS, C. J.; MARTIN, L. B. An introduction to ecoimmunology. In: COOPER, E. L. **Advances in comparative immunology**. Springer, 2018. p. 901-932. DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-319-76768-0_26

SCHWENDIMAN, A. L.; PROPPER, C. R. A common environmental contaminant affects sexual behavior in the clawed frog, *Xenopus tropicalis*. **Physiology & Behavior**, v. 106, n. 4, p. 520-526, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2012.03.035>

SECONDI, J.; MONDY, N.; GIPPET, J. M. W.; TOUZOT, M.; GARDETTE, V.; GUILLARD, L.; LENGAGNE, T. Artificial light at night alters activity, body mass, and corticosterone level in a tropical anuran. **Behavioral Ecology**, v. 32, n. 5, p. 932-940, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1093/beheco/arab044>

SEGALLA, M.; BERNECK, B.; CANEDO, C.; CARAMASCHI, U.; CRUZ, C. A. G.; GARCIA, P. C. A.; GRANT, T.; HADDAD, C. F. B.; LOURENÇO, A. C.; MANGIA, S.; MOTT, T.; NASCIMENTO, L. TOLEDO, L. F.; WERNECK, F.; LANGONE, J. A. List of Brazilian Amphibians. **Herpetologia Brasileira**, v. 10, n. 1, p. 121-216, 2021. DOI: <https://doi.org/10.5281/zenodo.4716176>

SEGNER, H.; KEMENADE, B. L. V.-V.; CHADZINSKA, M. The immunomodulatory role of the hypothalamus-pituitary-gonad axis: Proximate mechanism for reproduction-immune trade offs? **Developmental & Comparative Immunology**, v. 66, p. 43-60, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.dci.2016.07.004>

SEMLITSCH, R. D. Biological delineation of terrestrial buffer zones for pond-breeding salamanders. **Conservation Biology**, v. 12, p. 1113-1119, 1998. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1523-1739.1998.97274.x>

SHELDON, B. C.; VERHULST, S. Ecological immunology: costly parasite defences and trade-offs in evolutionary ecology. **Trends in Ecology & Evolution**, v. 11, n. 8, p. 317-321, 1996. DOI: [https://doi.org/10.1016/0169-5347\(96\)10039-2](https://doi.org/10.1016/0169-5347(96)10039-2)

SHERMAN, E.; STEPHENS, A. Fever and metabolic rate in the toad *Bufo marinus*. **Journal of Thermal Biology**, v. 23, n. 1, p. 49-52, 1998. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0306-4565\(97\)00045-4](https://doi.org/10.1016/S0306-4565(97)00045-4)

SHUTLER, D.; MARCOGLIESE, D. J. Leukocyte profiles of northern leopard frogs, *Lithobates pipiens*, exposed to pesticides and hematozoa in agricultural wetlands. **Copeia**, v. 2011, n. 2, p. 301-307, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1643/CP-10-065>

SHUTLER, D.; SMITH, T. G.; ROBINSON, S. R. Relationships between leukocytes and Hepatozoon spp. in green frogs, *Rana clamitans*. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 45, n. 1, p. 67-72, 2009. DOI: <https://doi.org/10.7589/0090-3558-45.1.67>

SILVA, M. B. D.; FRAGA, R. E.; NISHIYAMA, P. B.; SILVA, I. S. S. D.; COSTA, N. L. B.; DE OLIVEIRA, L. A. A.; ROCHA, M. A.; JUNCÁ, F. A. Leukocyte profiles in *Odontophrynus carvalhoi* (Amphibia: Odontophrynidae) tadpoles exposed to organophosphate chlorpyrifos pesticides. **Water, Air, & Soil Pollution**, v. 231, n. 7, p. 1-11, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11270-020-04726-4>

SIMMONS, A. M.; NARINS, P. M. Effects of anthropogenic noise on amphibians and reptiles. In: SLABBEKOORN, H.; DOOLING, R. J.; POPPER, A. N.; FAY, R. R. **Effects of anthropogenic noise on animals**. New York: Springer, 2018. p. 179-208. DOI: https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8574-6_7

ŞİŞMAN, T.; AŞKIN, H.; TÜRKEZ, H.; ÖZKAN, H.; İNCEKARA, Ü.; ÇOLAK, S. Determination of nuclear abnormalities in peripheral erythrocytes of the frog *Pelophylax ridibundus* (Anura: Ranidae) sampled from Karasu River Basin (Turkey) for pollution impacts. **Journal of Limnology and Freshwater Fisheries Research**, v. 1, n. 2, p. 75-81, 2015. DOI: <https://doi.org/10.17216/LimnoFish-5000115825>

SLABY, S.; MARIN, M.; MARCHAND, G.; LEMIERE, S. Exposures to chemical contaminants: What can we learn from reproduction and development endpoints in the amphibian toxicology literature? **Environmental Pollution**, v. 248, p. 478-495, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.02.014>

SLUCHYK, I.; GRYTSULYAK, B.; GLODAN, O.; IVASIUK, I.; KHALLO, A. Comparison of sperm parameters and testis histological structure in lake frog (*Pelophylax ridibundus*) from areas with different level of anthropogenic pollution. **ScienceRise: Biological Science**, v. 1 n. 26, p. 10–13, 2021. DOI: <https://doi.org/10.15587/2519-8025.2021.228082>

SMIT, J. A. H.; CRONIN, A. D.; VAN DER WIEL, I.; OTEMAN, B.; ELLERS, J.; HALFWERK, W. Interactive and independent effects of light and noise pollution on sexual signaling in frogs. **Frontiers in Ecology and Evolution**, v. 10, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3389/fevo.2022.934661>

SROGI, K. Monitoring of environmental exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons: a review. **Environmental Chemistry Letters**, v. 5, n. 4, p. 169-195, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10311-007-0095-0>

STEINICKE, H.; GRUBER, B.; GRIMM, A.; GROSSE, W. R.; HENLE, K. Morphological shifts in populations of generalist and specialist amphibians in response to fragmentation of the Brazilian Atlantic forest. **Nature Conservation**, v. 13, p. 47-59, 2015. DOI: <https://doi.org/10.3897/natureconservation.13.7428>

STEVENSON, R. D.; WOODS JR., W. A. Condition indices for conservation: new uses for evolving tools. **Integrative and Comparative Biology**, v. 46, n. 6, p. 1169-1190, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1093/icb/icl052>

SUÁREZ, R. P.; GOIJMAN, A. P.; CAPPELLETTI, S.; SOLARI, L. M.; CRISTOS, D.; ROJAS, D.; KRUG, P.; BABBITT, K. J.; GAVIER-PIZARRO, G. I. Combined effects of agrochemical contamination and forest loss on anuran diversity in agroecosystems of east-central Argentina. **Science of the Total Environment**, v. 759, 143435, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.143435>

SUTTIE, A. W. Histopathology of the spleen. **Toxicologic Pathology**, v. 34, n. 5, p. 466-503, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1080/01926230600867750>

TAMSCHICK, S.; ROZENBLUT-KOŚCISTY, B.; OGIELSKA, M.; KEKENJ, D.; GAJEWSKI, F.; KRÜGER, A.; KLOAS, W.; STÖCK, M. The plasticizer bisphenol A affects somatic and sexual development, but differently in pipid, hyliid and bufonid anurans. **Environmental Pollution**, v. 216, p. 282-291, 2016a. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.05.091>

TAMSCHICK, S.; ROZENBLUT-KOŚCISTY, B.; OGIELSKA, M.; LEHMANN, A.; LYMBERAKIS, P.; HOFFMANN, F.; LUTZ, I.; KLOAS, W.; STÖCK, M. Sex reversal assessments reveal different vulnerability to endocrine disruption between deeply diverged anuran lineages. **Scientific Reports**, v. 6, n. 1, p. 1-8, 2016b. DOI: <https://doi.org/10.1038/srep23825>

TAMSCHICK, S.; ROZENBLUT-KOŚCISTY, B.; OGIELSKA, M.; LEHMANN, A.; LYMBERAKIS, P.; HOFFMANN, F.; LUTZ, I.; SCHNEIDER, R. J.; KLOAS, W.; STÖCK, M. Impaired gonadal and somatic development corroborate vulnerability differences to the synthetic estrogen ethinylestradiol among deeply diverged anuran lineages. **Aquatic Toxicology**, v. 177, p. 503-514, 2016c. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2016.07.001>

TENNESSEN, J. B.; PARKS, S. E.; LANGKILDE, T. Traffic noise causes physiological stress and impairs breeding migration behaviour in frogs. **Conservation Physiology**, v. 2, n. 1, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1093/conphys/cou032>

TENNESSEN, J. B.; PARKS, S. E.; LANGKILDE, T. L. Anthropogenic noise and physiological stress in wildlife. **The Effects of Noise on Aquatic Life II**, p. 1145-1148, 2016. DOI: https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2981-8_142

THOMPSON, M. E.; NOWAKOWSKI, A. J.; DONNELLY, M. A. The importance of defining focal assemblages when evaluating amphibian and reptile responses to land use. **Conservation Biology**, v. 30, n. 2, p. 249-258, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1111/cobi.12637>

TIJANI, J. O.; FATOBA, O. O.; BABAJIDE, O. O.; PETRIK, L. F. Pharmaceuticals, endocrine disruptors, personal care products, nanomaterials and perfluorinated pollutants: a review. **Environmental Chemistry Letters**, v. 14, n. 1, p. 27-49, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10311-015-0537-z>

TITON, S. C. M.; TITON JUNIOR, B.; ASSIS, V. R.; KINKER, G. S.; FERNANDES, P. A. C. M.; GOMES, F. R. Interplay among steroids, body condition and immunity in response to long-term captivity in toads. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 1-13, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-018-35495-0>

TITON JUNIOR, B.; TITON, S. C. M.; ASSIS, V. R.; BARSOTTI, A. M. G.; VASCONCELOS-TEIXEIRA, R.; FERNANDES, P. A. C. M.; GOMES, F. R. LPS-induced immunomodulation and hormonal variation over time in toads. **Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological and Integrative Physiology**, v. 335, n. 6, p. 541-551, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1002/jez.2474>

TOUZOT, M.; LENGAGNE, T.; SECONDI, J.; DESOUHANT, E.; THERY, M.; DUMET, A.; DUCHAMP, C.; MONDY, N. Artificial light at night alters the sexual behaviour and fertilisation success of the common toad. **Environmental Pollution**, v. 259, 113883, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.113883>

TRACHANTONG, W.; PROMYA, J.; SAENPHET, S.; SAENPHET, K. Effects of atrazine herbicide on metamorphosis and gonadal development of *Hoplobatrachus rugulosus*. **MaejorInternacional Journal of Science and Technology**, v. 7, p. 60-71, 2013.

TRUDEAU, V. L.; THOMSON, P.; ZHANG, W. S.; REYNAUD, S.; NAVARRO-MARTIN, L.; LANGLOIS, V. S. Agrochemicals disrupt multiple endocrine axes in amphibians.

Molecular and Cellular Endocrinology, v. 513, 110861, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.mce.2020.110861>

VALVERDE, B. S. L.; USUNOMIYA, H. S. M.; CARVALHO, C. S. FRANCO-BELUSSI, L.; DE OLIVEIRA, C. Response of hepatic biomarkers in *Physalaemus nattereri* (Anura) to different benzo(α)pyrene exposure routes. **Ecotoxicology**, v. 31, p. 516-523, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10646-022-02527-5>

VAN-TIENHOVEN, A. Reproductive Physiology of the Vertebrates. Comstock, 1983.

VERRELL, P. Methoxychlor increases susceptibility to predation in the salamander *Ambystoma macrodactylum*. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 64, p. 85-92, 2000. DOI: <https://doi.org/10.1007/s001289910014>

WAKE, D. B.; VREDENBURG, V. T. Are we in the midst of the sixth mass extinction? A view from the world of amphibians. **PNAS**, v. 105, p. 11466-11473, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.0801921105>

WEE, S. Y.; ARIS, A. Z.; YUSOFF, F. M.; PRAVEENA, S. M. Occurrence and risk assessment of multiclass endocrine disrupting compounds in an urban tropical river and a proposed risk management and monitoring framework. **Science of the Total Environment**, v. 671, p. 431-442, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.03.243>

WISE, S. Studying the ecological impacts of light pollution on wildlife: amphibians as models. In: CIPRIANO, M.; JAFAR, J. **Starlight: A Common Heritage**, 2007. p. 209-218.

WHO. World Health Organization IPCS. In: Environmental Health Criteria 165 e **Inorganic Lead**. Publish under the Joint Sponsorship of the United Nations Environment Programme, vol. 300. The International Labour Organization, and the World Health Organization. 1995

WYNN, A.; HEYER, W. R. Do geographically widespread species of tropical amphibians exist? An estimate of genetic relatedness within the neotropical frog *Leptodactylus fuscus* (Schneider 1799) (Anura Leptodactylidae). **Tropical Zoology**, v. 14, n. 2, p. 255-285, 2001. DOI: <https://doi.org/10.1080/03946975.2001.10531157>

YANG, C.; LIM, W.; SONG, G. Reproductive toxicity due to herbicide exposure in freshwater organisms. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology**, v. 248, 109103, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2021.109103>

ZAKARIA, M. P.; TAKADA, H.; TSUTSUMI, S.; OHNO, K.; YAMADA, J.; KOUNO, E.; KUMATA, H. Distribution of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in rivers and estuaries in Malaysia: a widespread input of petrogenic PAHs. **Environmental Science & Technology**, v. 36, p. 1907-1918, 2002. DOI: <https://doi.org/10.1021/es011278+>

ZHELEV, Z.; TSONEV, S.; GEORGIEVA, K.; ARNAUDOVA, D. Health status of *Pelophylax ridibundus* (Amphibia: Ranidae) in a rice paddy ecosystem in Southern Bulgaria and its importance in assessing environmental state: haematological parameters. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 25, p. 7884–7895, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11356-017-1109-5>

ZAMORA-CAMACHO, F. J.; COMAS, M. Greater reproductive investment, but shorter lifespan, in agrosystem than in natural-habitat toads. **PeerJ**, v. 5, e3791, 2017. DOI: <https://doi.org/10.7717/peerj.3791>

ZERA, A. J.; HARSHMAN, L. G. The physiology of life history tradeoffs in animals. **Annual Review of Ecology and Systematics**, v. 32, p. 95-126, 2001. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.32.081501.114006>

ZHANG, W.; GUO, R.; AI, S.; YANG, Y.; DING, J.; ZHANG, Y. Long-term heavy metal pollution varied female reproduction investment in free-living anura, *Bufo raddei*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 159, p. 136-142, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.05.001>

ZHELEV, Z.; TSONEV, S.; GEORGIEVA, K.; ARNAUDOVA, D. Health status of *Pelophylax ridibundus* (Amphibia: Ranidae) in a rice paddy ecosystem in Southern Bulgaria and its importance in assessing environmental state: haematological parameters. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 25, p. 7884–7895, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11356-017-1109-5>

ZHELEV, Z. M.; POPGEORGIEV, G. S. Use of Haematological Indicators in Anurans for Assessing Their Health Status When Inhabiting Conditions of Anthropogenic Stress. *Pelophylax ridibundus* (Amphibia: Ranidae) as an Example: A Review and Appraisal. **Ecologia Balkanica**, v. 13, n. 2, p. 289-320, 2021.

ZHELEV, Z.; ARNAUDOVA, D.; TSONEV, S. Genotoxicity and erythrocyte nuclear abnormalities in *Pelophylax ridibundus* (Pallas, 1771) (Anura: Ranidae) in an industrial area in southern Bulgaria: evaluation as biomarkers for ecological stress assessment. **Acta Zoologica Bulgarica**, v. 74, n. 1, p. 59-67, 2022. DOI: <http://www.acta-zoologica-bulgarica.eu/2022/002549>

ZLOTNIK, S.; GRIDI-PAPP, M.; BERNAL, X. E. Laryngeal demasculinization in wild cane toads varies with land use. **EcoHealth**, v. 16, n. 4, p. 682-693, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10393-019-01447-x>