

**UNIVERSIDADE DO VALE DO RIO DOS SINOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA:
DIVERSIDADE E MANEJO DA VIDA SILVESTRE**

JACKSON FABIO PREUSS

**COMO A ÁGUA E O ENTORNO DE LAGOAS ARTIFICIAIS AFETAM A
COMPOSIÇÃO, DIVERSIDADE E A SAÚDE DE ANUROS NEOTROPICAIS**

**São Leopoldo
2022**

Jackson Fabio Preuss

**COMO A ÁGUA E O ENTORNO DE LAGOAS ARTIFICIAIS AFETAM A
COMPOSIÇÃO, DIVERSIDADE E A SAÚDE DE ANUROS NEOTROPICAIS**

Tese apresentada como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Biologia, área de concentração: Diversidade e Manejo da Vida Silvestre, pela Universidade do Vale do Rio dos Sinos.

Orientador: Prof. Dr. Alexandro Marques Tozetti

Coorientadores: Prof. Dr. Carlos Guilherme Becker

Profa. Dra. Elaine Maria Lucas Gonsales

SÃO LEOPOLDO - RS
2022

P943c Preuss, Jackson Fabio.

Como a água do entorno de lagoas artificiais afetam a composição, diversidade e a saúde de anuros neotropicais / Jackson Fabio Preuss. – São Leopoldo, 2022.

192 f. : il. ; 30 cm.

Tese (Doutorado em Biologia) — Universidade do Vale do Rio dos Sinos, 2022.

Área de concentração: Diversidade e manejo da vida silvestre.

Inclui bibliografias

1. Anuro. 2. Microbiota. 3. Habitat (Ecologia). 4. Lagoas – Qualidade da água. I. Título.

CDD 597.6

Ficha catalográfica elaborada por: Edina Mari Cavichioli - CRB 14/757

INSTITUIÇÃO EXECUTORA:

Universidade do Vale do Rio dos Sinos (UNISINOS)
Programa de Pós-Graduação em Biologia: Diversidade e Manejo da Vida Silvestre
Laboratório de Ecologia de Vertebrados Terrestres (LEVERT)
Laboratório de Genética e Biologia Molecular (LGBM)

INSTITUIÇÕES COLABORADORAS:

University of Alabama
Department of Biology
BeckerLab

University of Massachusetts Boston
Department of Biology
Woodhams Lab

Universidade do Oeste de Santa Catarina (UNOESC)
Área de Ciências e da Saúde
Laboratório de Microbiologia
Núcleo de Estudos em Vida Selvagem (NEVS)

AGRADECIMENTOS

Este trabalho não poderia ter sido realizado sem a ajuda de inúmeras pessoas, e por isso agradecimentos pela paciência, generosidade, dedicação, compreensão e boa vontade de várias pessoas deve ser abundantemente distribuídos. Desta forma, agradeço a todos aqueles que diretamente ou indiretamente estiveram comigo nessa caminhada. Ao longo do tempo encontrei pessoas incríveis. Quero aqui agradecer:

- A toda a minha família, em especial ao meu pai Paulo, minhas irmãs Ana Paula e Jéssica, que me apoiaram de todo coração.
- A minha namorada Bruna pelo encorajamento, estímulo, apoio moral, paciência, amor, carinho. Além de ser companheira incansável nas longas jornadas em campo.
- A gestão da Universidade do Oeste de Santa Catarina (UNOESC) em particular ao professor Vitor Carlos D'Agostini, vice-reitor da Unoesc São Miguel do Oeste pela confiança, oportunidades, bolsa e renovação concedidas, que garantiram a minha sobrevivência nesse período de pós-graduação.
- O meu orientador, prof. Dr. Alexandro Marques Tozetti, que em sua simplicidade e paciência, foi e sempre será mais que um orientador, aliás, o considero como um grande amigo. Obrigado por todos os conselhos de orientação e por dividir suas experiências.
- Ao meu coorientador prof. Carlos Guilherme Becker (Gui) e pela orientação e me apresentar e me encorjar no “mundo do microbioma”, além do apoio, amizade, dedicação, incentivo, análise e interpretação de dados, paciência, e principalmente confiança. Meu profundo reconhecimento pelo seu compromisso com a pesquisa, ensino e transmissão do conhecimento.
- Aos colegas profa. Dra. Elaine Maria Lucas Gonsales (coorientadora), prof. Dr. Victor Hugo Valiati, prof. Dr. Douglas Woodhams, profa. Dra. Elaindra M. Rossi, Dra. Sasha Greenspan, Dr. Diego Anderson Dalmolin, Diego Brum, Jessica Barreto e Wesley Neely, (nem sei como agradecer a todos) que tanto me ajudaram com as análises moleculares, bioinformática, sequenciamento, análises microbiológicas, estatísticas e análises das imagens captadas por drone. Pelas sugestões, críticas, advertências e amizade às quais contribuíram enormemente para a melhoria deste trabalho.
- Ao Programa de Pós-Graduação em Biologia da Universidade do Vale do Rio dos Sinos, por ter me acolhido.

- Meus sinceros agradecimentos aos membros das bancas examinadoras ao longo de todo o doutorado que certamente contribuíram para minha formação enquanto pesquisador e colaboraram para melhorar meu trabalho de um modo geral.
- Aos colegas do PPGBIO: Ariel, Alessandro e Roseli pela amizade, convivência e longas conversas na e Unisinos e na rodoviária de São Leopoldo.
- Aos inúmeros alunos e colegas que participaram das excursões de campo durante a realização deste trabalho, em especial: Jean Bernardon, Dolvan Biegelmeier e Kelly Fiorese.
- Meu último e mais especial agradecimento vai para a minha mãe, Cleusamar Tosetto Preuss. Mãe, o agradecimento e o amor que sinto por ti são imensuráveis, e expressá-los em folhas de papel é algo bem difícil. Obrigado por ter me apoiado desde o início da minha jornada frente a ciência e educação. Desde sempre você tem feito de tudo para que eu alcançasse os meus sonhos e objetivos, e hoje consagro mais este sonho também graças a ti. Dedico a ti esta conquista!
- Finalmente, agradeço a todos que de forma direta e indiretamente, me ensinaram, me orientaram, me apoiaram, junto delas encontrei mais força para prosseguir.

Gratidão!!!

“Menino que não anda, não vende picolé”.

(Autor desconhecido).

LISTA DE FIGURAS

CONTEXTUALIZANDO A TEMÁTICA

Figura 1. Esquema do ciclo de vida de <i>Batrachochytrium dendrobatidis</i>	22
Figura 2. Lagoa utilizada para piscicultura integrada à criação de suínos.	34

CAPÍTULO I

Figure 1. Average thermotolerant coliform concentration (Most Probable Number /100 mL) obtained from water samples in slurry and no-slurry ponds.	90
Figure 2. Bacterial community composition of the amphibian skin microbiome calculated using principal coordinates analysis based on unweighted UniFrac distance matrices. Small circles indicate individual frogs sampled from slurry-present (black) and slurry-absent (grey) ponds; large circles indicate group centroids.....	91
Figure 3. Heatmap indicating bacterial taxa driving differences in the composition of frog skin bacterial communities between slurry-present (black bar) and slurry-absent (gray bar) ponds. Rows represent indicator OTUs. Columns represent individual samples. Indicator taxa were identified with the linear discriminant analysis effect size method (LEfSe). Some OTUs could not be identified to all taxonomic ranks.....	92
Figure 4. Percent OTUs matching <i>Bd</i> -inhibitory and <i>Bd</i> -facilitative function based on Woodhams <i>et al.</i> (2015)	93
Figure S1. Geographic distribution of our 20 sampling ponds in western Santa Catarina state, Brazil. Circles indicate individual frogs sampled from slurry-present (black) and slurry-absent (grey) ponds.....	98
Figure S2. Agricultural ponds in the state of Santa Catarina, southern Brazil. Slurry-present (a-b) and slurry-absent ponds (c) are shown.....	99
Figure S3. Alpha rarefaction curves indicating 4000 reads as the chosen sampling depth for analysis.....	100

CAPÍTULO II

Figura 1. Variação de partição para diversidade beta total (Beta Bray) e seus componentes (<i>turnover</i> = Beta Balanced; aninhamento = Beta Gradient) de comunidades de anuros. (a) Variáveis aquáticas; (b) variáveis do ambiente terrestre; (c) variáveis espaciais; (d) fração compartilhada entre aquáticas e espaciais; (e) fração compartilhada entre variáveis aquáticas e terrestres; (f) fração compartilhada entre variáveis espaciais e da paisagem; (g) fração compartilhada entre todas; (*) $p < 0.05$	137
Figura Suplementar 1. Distribuição geográfica das 12 lagoas artificiais de amostragem no oeste do estado de Santa Catarina, Brasil.....	142
Figura Suplementar 2. Imagens aéreas de Drone (A) e ortomosaico georreferenciado (B) das lagoas artificiais.....	146

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I

Table S1. Water quality parameters of agricultural ponds in Santa Catarina state, southern Brazil. COD = chemical oxygen demand; N = nitrogen; MPN = most probable number; T = temperature.....	101
Table S2. Results of linear discriminant analysis effect size (LEfSe) analysis. Differentially abundant OTUs in frog skin microbiome for slurry-present and slurry-absent ponds. Some OTUs could not be identified to all taxonomic ranks.....	103
Table S3. Results of analysis of composition of microbiomes (ANCOM) analysis. Differentially abundant OTUs in frog skin microbiome for slurry-present and slurry-absent ponds. Some OTUs could not be identified to all taxonomic ranks.....	106

CAPÍTULO II



Tabela 1. Resultados de dbRDAs baseados em distância para os dados de estimativa de abundância de machos vocalizantes. As análises foram realizadas com base na diversidade beta total, rotatividade e dissimilaridades de aninhamento. Modelos completos e testes marginais de significância para variáveis aquáticas únicas são mostrados (ou seja, teste de significância separado para cada variável em um modelo quando todos os outros termos estão no modelo).	135
Tabela 2. Resultados de dbRDAs baseados nos dados de abundância. As análises foram realizadas com base na diversidade beta total, rotatividade e dissimilaridades de aninhamento. Modelos completos e testes marginais de significância para variáveis do entorno únicas são mostrados.....	136
Tabela Suplementar 1. Parâmetros de qualidade da água para lagoas com e sem dejetos no estado de Santa Catarina, sul do Brasil. DQO = demanda química de oxigênio; N = nitrogênio; NMP = número mais provável.....	143
Tabela Suplementar 2. Resultados para o modelo <i>Forward Selection</i> das variáveis ambientais (variáveis aquáticas) para compor o modelo ambiental de diversidade beta e seus componentes durante as análises de dbRDA e pRDA.....	143
Tabela Suplementar 3. Resultados para o modelo <i>Forward Selection</i> de variáveis do entorno para compor o modelo ambiental de diversidade beta e seus componentes durante as análises de dbRDA e pRDA.....	144
Tabela Suplementar 4. Resultados para o modelo <i>Forward Selection</i> de variáveis espaciais para compor o modelo espacial de diversidade beta e seus componentes durante as análises de pRDA.....	144
Tabela suplementar 5. Espécies de anfíbios e estimativa média de abundância em lagoas artificiais com diferentes formas de manejo na região extremo oeste do estado de Santa Catarina, de setembro a dezembro de 2020. \pm = desvio padrão. Para mais detalhes veja materiais e métodos.....	145
Tabela Suplementar 6. Valores médios e desvio padrão dos parâmetros aquáticos e terrestres de cada lagoa artificial.....	147

LISTA DE ESQUEMAS

CAPÍTULO I

Scheme 1. Path diagram depicting the indirect link between integrated pig-fish farming and higher *Bd* prevalence through increased levels of thermotolerant coliforms, chemical oxygen demand (COD), and *Bd*-facilitative members of the skin microbiome. AIC=0.876; effective number of parameters = 16; d.f. = 5; RMSEA close fit P = 0.00194

SUMÁRIO

RESUMO	1
ABSTRACT	3
APRESENTAÇÃO.....	5
INTRODUÇÃO GERAL.....	7
Objetivos e hipóteses.....	9
Referências	11
CONTEXTUALIZANDO A TEMÁTICA.....	15
Os Anfíbios Anuros.....	15
Declínio global de anfíbios.....	16
A influência do ambiente na diversidade de anfíbios.....	24
A contaminação ambiental, uma ameaça à saúde dos anfíbios.....	26
A contaminação ambiental de origem agrícola	28
A contaminação ambiental pela prática na criação de suínos integrada a piscicultura.....	31
O papel do microbioma na saúde do hospedeiro.....	36
Referências	40
 CAPÍTULO I - Artigo: Widespread Pig Farming Practice Linked to Shifts in Skin Microbiomes and Disease in Pond-breeding Amphibians.....	82
Abstract.....	83
Introduction.....	84
Methods	85
Results	89
Discussion.....	94
Associated content.....	98
References	109
 CAPÍTULO II - Artigo: Oásis ou armadilhas ecológicas? Como a configuração do habitat favorece o estabelecimento de anuros em lagoas artificiais em áreas convertidas da Mata Atlântica.....	123
Resumo.....	123
Introdução.....	124

Material e métodos.....	127
Resultados.....	134
Discussão.....	137
Material suplementar.....	142
Referências.....	148
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	163
ANEXOS	166

RESUMO

As práticas agrícolas podem remodelar o ambiente e afetar a possibilidade de sobrevivência dos organismos aquáticos. Em paisagens modificadas, muitas vezes, as lagoas artificiais usadas para a piscicultura constituem excelentes oportunidades de habitat para populações de anfíbios, contribuindo para a manutenção da diversidade local. Dados apontam para um papel predominante do habitat do entorno dessas lagoas e da qualidade da água para os anfíbios, sugerindo que as características do ambiente terrestre e aquáticas atuam como um filtro ambiental sobre esses animais. Assim, esses sistemas podem ser bons modelos de estudo para se avaliar as relações entre anfíbios e alterações antrópicas de seu habitat. A contaminação dessas lagoas também pode aumentar a pressão de doenças, onde os mecanismos subjacentes a esse padrão nem sempre são conhecidos. Por exemplo, lagoas artificiais que recebem enriquecimento de nutrientes devem influenciar fortemente na seleção de bactérias ambientais, que têm o potencial de alterar a composição do microbioma de animais aquáticos e sua vulnerabilidade a doenças. No entanto, essas mudanças no microbioma do hospedeiro associada às doenças dos organismos aquáticos têm recebido pouca atenção quando relacionada ao enriquecimento de nutrientes de origem animal. Nós analisamos como as alterações ambientais antrópicas na paisagem e na qualidade da água afetam a composição, diversidade e a saúde de anfíbios anuros em lagoas artificiais da região sul do Brasil. Amostramos um conjunto de lagoas artificiais com diferentes paisagens e níveis de contaminação do ponto de vista da diversidade de anuros bem como nos efeitos da qualidade da água na composição do microbioma da pele do hospedeiro e sua relação com quitridiomycose, ocasionada pelo fungo *Batrachochytrium dendrobatidis* (*Bd*). Nossos resultados indicam que esse sistema de cultivo integrado de peixes e suínos foi responsável por surtos de coliformes fecais, perturbando as comunidades bacterianas da pele dos anfíbios, de modo que os hospedeiros recrutaram proporções mais altas de bactérias facilitadoras do *Bd* e tiveram maior instensidade e prevalência da infecção. Nossas descobertas destacam também que apensar do risco a quitridiomycose estas lagoas artificiais podem atuar como importantes sítios reprodutivos para anuros, especialmente em habitats antropizados com baixa disponibilidade de locais para a reprodução. Mas a aptidão em oferecer oportunidades reprodutivas, e conseqüentemente, ajudar a manter populações de anuros, depende da configuração do habitat em que essas lagoas estão inseridas. Os parâmetros físico-químicos da água e a configuração do habitat de entorno das lagoas são os elementos que mais explicaram a variação

da diversidade de anuros. Todavia, a caracterização do ambiente do entorno teve papel predominante sobre as diferenças entre as comunidades. O nível de exposição do solo na área de entorno foi o componente que mais atuou sobre o componente de *turnover* da diversidade beta. Expomos aqui que o processo de *turnover* de espécies seja uma consequência da simplificação da paisagem causada pela remoção da cobertura vegetal original (florestas), culminando na homogeneização biótica. Dentre os parâmetros da água, apenas a concentração de fosfato se mostrou relevante para a configuração das comunidades. Picos de fosfato podem ser derivados da contaminação por esgoto ou fertilizantes. Ambos os tipos de contaminações são factíveis de ocorrer na área de estudo, ainda que ela se caracterize pela baixa densidade populacional humana e cuja atividade econômica seja baseada em agricultura de pequena escala (familiar). Apesar do enorme potencial das lagoas artificiais na manutenção das comunidades de anuros regional estas podem estar atuando como armadilhas ecológicas e sua efetividade dependerá da presença de remanescentes florestais bem como da qualidade da água.

Palavras-chave: Anuros. *Bd.* Microbioma. Qualidade da água. Armadilhas ecológicas.

ABSTRACT

Agricultural practices can reshape the environment and affect the survival of aquatic organisms. In modified landscapes, artificial ponds used for fish farming often provide excellent habitat opportunities for amphibian populations, contributing to the maintenance of local diversity. Data point to a predominant role of the habitat around these lakes and of the water quality for amphibians, suggesting that the characteristics of the terrestrial and aquatic environment act as an environmental filter on these animals. Thus, these systems can be good study models to assess the relationships between amphibians and anthropic changes in their habitat. Contamination of these ponds can also increase disease pressure, where the mechanisms underlying this pattern are not always known. For example, artificial ponds that receive nutrient enrichment should strongly influence the selection of environmental bacteria, which have the potential to alter the microbiome composition of aquatic animals and their vulnerability to disease. However, these changes in the host microbiome associated with diseases of aquatic organisms have received little attention when related to the enrichment of nutrients of animal origin. We analyzed how anthropogenic environmental changes in landscape and water quality affect the composition, diversity and health of anuran amphibians in artificial ponds in southern Brazil. We sampled a set of artificial ponds with different landscapes and levels of contamination from the point of view of frog diversity as well as the effects of water quality on the composition of the host's skin microbiome and its relationship with chytridiomycosis, caused by the fungus *Batrachochytrium dendrobatidis* (*Bd*). Our results indicate that this integrated farming system of fish and swine was responsible for outbreaks of fecal coliforms, disturbing the bacterial communities of the amphibian skin, so that the hosts recruited higher proportions of *Bd*-facilitating bacteria and had higher intensity and prevalence of infection. Our findings also highlight that despite the risk of chytridiomycosis, these artificial lakes can act as important breeding sites for anurans, especially in anthropic habitats with low availability of breeding sites. But the ability to offer reproductive opportunities, and consequently, help maintain anuran populations, depends on the configuration of the habitat in which these ponds are located. The physical-chemical parameters of the water and the configuration of the habitat around the ponds are the elements that most explained the variation in frog diversity. However, the characterization of the surrounding environment played a predominant role in the differences between communities. The level of soil exposure in the surrounding area was the component that most acted on the

turnover component of beta diversity. We expose here that the species turnover process is a consequence of the landscape simplification caused by the removal of the original vegetation cover (forests), culminating in biotic homogenization. Among the water parameters, only the phosphate concentration proved to be relevant for the configuration of the communities. Phosphate spikes can be derived from sewage or fertilizer contamination. Both types of contamination are likely to occur in the study area, even though it is characterized by low human population density and whose economic activity is based on small-scale (family) agriculture. Despite the enormous potential of artificial lakes in the maintenance of regional frog communities, these may be acting as ecological traps and their effectiveness will depend on the presence of forest remnants as well as on the quality of the water.

Keywords: Anuran. *Bd.* Microbiome. Water quality. Ecological traps.

APRESENTAÇÃO

Esta tese tem os efeitos das alterações ambientais antrópicas da paisagem aquática e terrestre, na diversidade e na saúde anfíbios anuros, como elementos centrais para o marco teórico e para os objetivos propostos. A tese será apresentada em capítulos. Além dos capítulos, consta uma introdução geral, que evidencia principais hipóteses e objetivos a serem respondidos e uma contextualização geral da temática, que apresenta o marco teórico da tese. Na sequência a tese finaliza com as considerações finais e os anexos. O capítulo I foi formatado de acordo com as normas da revista o qual foi submetido. O capítulo II e os demais tópicos da tese foram formatados de acordo com as normas da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT).

No primeiro capítulo da tese testamos se o descarte de resíduos (dejetos) na água através da criação integrada de suínos e piscicultura altera as comunidades microbianas da pele de anfíbios neotropicais e aumenta o risco de quididiomicose; uma doença causada pelo fungo patogênico *Batrachochytrium dendrobatidis* (*Bd*). Nossas descobertas indicam que, interrompendo os processos naturais de organização e função dos microbiomas, as descargas de dejetos da criação integrada de suínos e piscicultura podem aumentar a pressão da doença em hospedeiros nativos que dependem de lagoas artificiais para a persistência da população. Neste trabalho destacamos os mecanismos complexos subjacentes à dinâmica de estruturação de microbiomas e doenças da vida selvagem em ambientes poluídos e lança nova luz sobre os impactos de uma prática agrícola generalizada na saúde das populações da vida selvagem. Os resultados deste capítulo são estruturados e já publicados conforme as normas da Revista Environmental Science & Technology. A versão on-line do artigo está disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.est.0c03219>

O segundo capítulo analisamos o efeito da composição da paisagem, qualidade da água e as mudanças nas composições de anuros (diversidade beta) entre lagoas no sul do Brasil. Também investigamos qual processo (aninhamento ou *turnover*) foi responsável pelas diferenças na composição da comunidade de anuros nestas lagoas. Nossas descobertas indicam que a variação da composição de anfíbios se mostrou dependente tanto quanto as características da água bem como quanto das características do ambiente do entorno das lagoas. Dos parâmetros do ambiente de entorno, o nível de exposição do solo e a urbanização teve forte associação com a composição de espécies de anuros. Porém, essa relação foi associada apenas para um dos componentes da água, a concentração de fósforo. Nossos resultados sugeriram a importância da heterogeneidade de habitats terrestres e aquáticos, para a conservação de populações de anuros no sul do Brasil.

Na parte final da tese são apresentadas as considerações finais, assim como é apresentada uma conclusão geral. E por fim, constam os anexos onde é apresentada a licença de autorização de coleta emitida pelo ICMBio/SISBio, o parecer final do Comitê de ética da UNISINOS e ações de divulgação dos resultados encontrados na Tese em eventos científicos, mídia e redes sociais.

INTRODUÇÃO GERAL

As intervenções humanas em habitats naturais podem ser facilmente identificadas pelas alterações que elas causam na configuração da paisagem. Muitas dessas alterações têm vínculo com as atividades econômicas tais como a indústria, a mineração, agricultura e a pecuária e são eminentes ameaças à biodiversidade em todo o mundo (CUSHMAN, 2006; FRACETTO *et al.*, 2013; FREITAS *et al.*, 2019), seja pela crescente demanda de novas áreas de cultivo/criação, com consequente aumento da compactação do solo e escoamento de contaminantes para os recursos hídricos (RUBBO e KIESECKER, 2005; CHEN *et al.*, 2017). Por exemplo, o esterco e as águas residuais proveniente da pecuária podem escoar para corpos d'água e bacias hidrográficas, alterando os microrganismos aquáticos (VAN ELSAS *et al.*, 2012; TENG *et al.*, 2019) e mediando a exposição da vida selvagem a microrganismos patogênicos com consequências para a saúde e estabilidade das populações de animais (ROHR *et al.*, 2008).

Paisagens com mosaico de diferentes tipos de uso do solo são boas oportunidades para a avaliação da relação entre alterações do habitat e diversidade de anfíbios. Os anfíbios são excelentes indicadores de qualidade ambiental (KIESECKER *et al.*, 2001) e estão entre os vertebrados mais ameaçados em função da sua pele altamente permeável, do ciclo de vida bifásico, da sua especificidade quanto aos sítios reprodutivos e a sua sensibilidade a mudanças no habitat (STUART *et al.*, 2004; CUSHMAN, 2006; IUCN, 2021). Estudos sugeriram que o escoamento de contaminantes agrícolas em habitats aquáticos pode alterar o consórcio de microrganismos simbióticos (disbiose), o qual desempenha um papel importante na saúde do hospedeiro, incluindo anfíbios (KUENEMAN *et al.*, 2014; BLETZ *et al.*, 2016; PRADO-IRWIN *et al.*, 2017). A disbiose pode aumentar a prevalência e a virulência de patógenos de anfíbios (JOHNSON *et al.*, 2002; PAULL e JOHNSON, 2011), com destaque ao fungo quitrídeo *Batrachochytrium dendrobatidis*

(*Bd*) (MANN *et al.*, 2009; REEVES *et al.*, 2017). O *Bd* é o principal fator de declínio e extinção de anfíbios em todo o mundo (HOF *et al.*, 2011; SCHEELE *et al.*, 2019). Avaliar estas práticas antropogênicas em uma escala local, ou seja, em áreas de poucas centenas de metros quadrados, torna-se uma importante estratégia de gestão, pois é possível mapear em escala fina os níveis locais do impacto dessas mudanças sobre as populações que ali habitam.

No sul do Brasil, existem regiões em que esse mosaico ambiental se apresenta de modo intenso e que oferece excelente oportunidade para esse tipo de avaliação em uma escala fina do efeito do uso do solo sobre a diversidade e a saúde de anfíbios. Nessa região, muitas propriedades agrícolas que apesar de apresentarem diferentes níveis de alteração da paisagem, ainda mantém remanescentes de Mata Atlântica. São pequenas propriedades rurais (menores que 10 ha), nas quais as famílias desenvolvem agricultura e suinocultura intensiva. Grande parte dessas propriedades possuem lagoas artificiais usadas para a piscicultura (CORRÊA *et al.*, 2011; FERNANDES *et al.*, 2011; MARTINS *et al.*, 2015). Algumas dessas propriedades integram a suinocultura com a piscicultura (CORRÊA *et al.*, 2011; FERNANDES *et al.*, 2011). Esta prática consiste em alojar os suínos em açudes artificiais de forma que os dejetos (esterco líquido) escoem diretamente para o açude (SHARMA e OLAH 1986; SHARMA, 1990; JAVED, 1990). Os dejetos de suínos alteram as variáveis físico-químicas e aumentam a produtividade biológica do tanque (TREECE, 2000; DHAWAN e KAUR 2002), conseqüentemente aumentando a produção de peixes. Os peixes também se alimentam diretamente dos excrementos de suínos, que contém 70% de alimento digerível (EDWARDS, 1985). Essa prática tem sido reconhecida como um método eficiente de aproveitamento e destinação de resíduos (SHARMA e OLAH, 1986).

Além disso, cada propriedade apresenta características exclusivas quanto à supressão da cobertura vegetal, tipo de uso do solo e qualidade da água (ausência ou nível de contaminação por

dejetos). A presença de dejetos é um dos principais índices de deterioração de sistemas hídricos em diversos habitats naturais sendo importante incorporar esta variável ambiental nas análises das ameaças às comunidades de anfíbios. Assim, a região abriga um cenário extremamente favorável para o estudo da relação entre ocupação ou uso do solo, qualidade da água em sítos reprodutivos, a diversidade e a saúde de anfíbios.

Estruturamos a tese assumindo que a composição físico-química e a paisagem são elementos fundamentais na determinação das comunidades de anfíbios; e que, além disso, as espécies apresentam atributos que são selecionados por fatores terrestres e aquáticos distintos. Dessa forma, temos o objetivo responder as seguintes perguntas: Qual o impacto da criação integrada de peixes e suínos sobre o microbioma cutâneo e a quitridiomiose em anfíbios associados a lagoas artificiais no sul do Brasil? Finalmente, quais os efeitos em microescala da paisagem e da qualidade da água de lagoas artificiais na composição de comunidades de anuros (diversidade beta) no sul do Brasil?

Objetivos e hipóteses

Esta tese tem como objetivo geral analisar como as alterações ambientais antrópicas na paisagem e na qualidade da água afetam a composição, diversidade e a saúde de anfíbios anuros em lagoas artificiais da região sul do Brasil.

A tese teve como hipóteses:

- A prática de criação integrada de piscicultura e suínos leva a altos níveis de contaminantes ambientais, alterando as comunidades bacterianas da pele dos anfíbios e facilitando infecções por *Bd* em anfíbios neotropicais (capítulo I).
- Lagoas submetidas a diferentes condições de conservação ambiental tendem a apresentar diferenças na composição das comunidades de anuros (diversidade beta). As lagoas com maior

heterogeneidade dos fatores da paisagem, assim como menor interferência antrópica na água, tendem a promover maior diversidade beta. Por outro lado, as lagoas menos conservadas tendem a apresentar maior homogeneidade ambiental e estrutural, em decorrência dos impactos sobre as margens (p.e., floresta, pastagem, solo exposto, urbanização) e no próprio sistema fluvial (p.e., fosfato) (capítulo II).

A partir das hipóteses, são objetivos específicos da tese:

- Caracterizar físico-química e microbiologicamente as lagoas estudadas (coliformes termotolerantes, fosfato, nitrogênio amoniacal, nitrato, DQO, pH e temperatura) (capítulo I e II);
- Avaliar se prática de criação integrada de piscicultura e suínos altera as comunidades microbianas da pele em anfíbios neotropicais (capítulo I);
- Analisar se essa prática aumenta os parâmetros de infecção por *Bd* (capítulo I);
- Investigar o efeito da composição da paisagem, qualidade da água e as mudanças na composição das comunidades de anuros (diversidade beta) em lagoas artificiais no sul do Brasil (capítulo II).

Referências

- CHEN, J.; THELLER, L.; GITAU, M. W.; ENGEL, B. A.; HARBOR, J. M. Urbanization impacts on surface runoff of the contiguous United States. **Journal of Environmental Management**, v. 187, p. 470-481, 2017.
- CORRÊA, R. M.; NASCIMENTO, C. W. A.; ROCHA, A. T. Adsorção de fósforo em dez solos do Estado de Pernambuco e suas relações com parâmetros físicos e químicos. **Acta Scientiarum Agronomy**, v. 33, p. 153-159, 2011.
- CUSHMAN, S. A. Effects of habitat loss and fragmentation on amphibians: a review and prospectus. **Biological Conservation**, v. 128, p. 231- 240, 2006.
- DHAWAN, A.; KAUR, S. Effect of pig dung on water quality and polyculture of carp species during winter and summer. **Aquaculture International**, v. 10, p. 297-307, 2002.
- FERNANDES, N. M.; SARTINI, B.; DIAS, R. J.; D'AGOSTO, M. Quantitative study of *Trichodina heterodentata* (Ciliophora: Mobilida) infrapopulations infesting tadpoles of a Brazilian endemic toad *Rhinella pombali* (Anura: Bufonidae). **Zoologia**, v. 28, n. 6, 777-783, 2011.
- FRACETTO, G. G. M.; AZEVEDO, L. C. B.; FRACETTO, F. J. C.; ANDREOTE, F. D.; LAMBAIS, M. R.; PFENNING, L. H. Impact of Amazon land use on the community of soil fungi. **Scientia Agricola**, v. 70, n. 2, 2013.
- FREITAS, D. S.; OLIVEIRA, T. E.; OLIVEIRA, J. M. Sustainability in the Brazilian pampa biome: A composite index to integrate beef production, social equity, and ecosystem conservation. **Ecological Indicators**, v. 98, p. 317-326, 2019.
- HOF, C.; ARAÚJO, M. B.; JETZ, W.; RAHBEEK, C. Additive threats from pathogens, climate and land-use change for global amphibian diversity. **Nature**, v. 480, n. 7378, p. 516-519, 2011.

IUNC - **The IUCN Red List of Threatened Species**. Disponível em: <<http://www.iucnredlist.org/initiatives/amphibians/analysis>>. Acesso em: jun. 2021.

JAVED, M.; SIAL, M. B.; ZAFAR, S. A. Fish Pond fertilization. II. Influence of broiler manure fertilization on the growth performance of major carps. **Journal of Agricultural Science**, v. 27, n. 3, p. 212-215, 1990.

JOHNSON, P. T. J.; LUNDE, K. B.; THURMAN, E. M.; RITCHIE, E. G.; WRAY, S. N.; SUTHERLAND, D. R.; KAPFER, J. M.; FREEST, T. J.; BOWERMAN, J.; BLAUSTEIN, A. R. Parasite (*Ribeiroia ondatrae*) infection linked to amphibian malformations in the Western United States. **Ecological Monographs**, v. 72, p. 151-168, 2002.

KIESECKER, J. M.; BLAUSTEIN, A. R.; BELDEN, L. K. Complex causes of amphibian population declines. **Nature**, v. 410, p. 681-684, 2001.

KUENEMAN J. G.; PARFREY L. W.; WOODHAMS D. C.; ARCHER H. M.; KNIGHT R., MCKENZIE V. J. The amphibian skin-associated microbiome across species, space and life history stages. **Molecular Ecology**, v. 23, 1238-1250, 2014.

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.

MARTINS, M. L.; CARDOSO, L.; MARCHIORI, N. C.; PÁDUA, S. B.; Protozoan infections in farmed fish from Brazil: diagnosis and pathogenesis. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 24, n. 1, p. 1-20, 2015.

PAULL, S. H.; JOHNSON, P. T. J. High temperature enhances host pathology in a snail-trematode system: possible consequences of climate change for the emergence of disease. **Freshwater Biology**, v. 56 n. 4, p. 767-778, 2011.

PRADO-IRWIN, S. R.; BIRD, A. K.; ZINK, A. G.; VREDENBURG, V. T. Intraspecific variation in the skin-associated microbiome of a terrestrial salamander. **Microbial Ecology**, v. 74, n. 3, p.745-756, 2017.

REEVES, R. A.; PIERCE, C. L.; VANDEVER, M. W.; MUTHS E.; Smalling, K. L. Amphibians, Pesticides, and the Amphibian Chytrid Fungus in Restored Wetlands in Agricultural Landscapes. **Herpetological Conservation and Biology**, v. 12, n. 1, p. 68-77, 2017.

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.

RUBBO, M. J.; KIESECKER, J. M. Distribuição de reprodução de anfíbios em uma paisagem urbanizada. **Conservation Biology**, v. 19, p. 2, 504-511, 2005.

SCHEELE, B. C.; PASMANS, F.; SKERRATT, L. F.; BERGER, L.; MARTEL, A.; BEUKEMA, W.; ACEVEDO, A. A.; BURROWES, P. A.; CARVALHO, T.; CATENAZZI, A.; *et al.*, Amphibian fungal panzootic causes catastrophic and ongoing loss of biodiversity. **Science**, v. 363, n. 6434, p. 1459-1463, 2019.

SHARMA B. K. Integrated fish farming-various possibilities and economic consideration. In **Techniques of Aquaculture Management in Large Water Bodies**; CIFA (ICAR), Bhubaneswar, India, 1990, pp. 66-76.

SHARMA, B. K.; OLAH, J. Integrated fish-pig farming in India and Hungary. **Aquaculture**, v. 54, n. 1, p. 135-139, 1986.

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

TENG, Y.; XU, Y.; WANG, X.; CHRISTIE, P. Function of Biohydrogen Metabolism and Related Microbial Communities in Environmental Bioremediation. **Frontiers in Microbiology**, v.10, p. 106, 2019.

TREECE, G. D. Zooplankton Culture. In: **Stickney, Ed. Encyclopedia of Aquaculture**, Wiley J.; Sons, New York; pp 1037-1044, 2000.

VAN ELSAS, J. D.; CHIURAZZI, M.; MALLON, C. A.; ELHOTTOVĀ. D.; KRIŠTŮFEK, V.; FALCÃO-SALLES, J. Microbial diversity determines the invasion of soil by a bacterial pathogen. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 109, n. 4, 1159-1164, 2012.

CONTEXTUALIZANDO A TEMÁTICA

Os Anfíbios Anuros

Os anfíbios são animais que pertencem à classe Amphibia o qual inclui três linhagens distintas: Anura (sapos, rãs e pererecas), Urodela (salamandras e tritões) e Gymnophiona (cecílias e ápodes) (POUGH *et al.*, 2008). São um dos grupos de vertebrados mais diversificados do mundo, sendo que a mais alta diversidade está localizada na região Neotropical (DUELLMAN e TRUEB, 1994; VASCONCELOS *et al.*, 2019). Os anfíbios são importantes em muitos ecossistemas, porque desempenham papéis-chave na dinâmica trófica (ARRIBAS *et al.*, 2015; ROWLAND *et al.*, 2017) e no ciclo do carbono (BEST e WELSH, 2014; SEMLITSCH *et al.*, 2014).

A América do Sul possui a maior riqueza em espécies de anfíbios anuros do mundo (DUELLMAN e TRUEB, 1994). O Brasil abriga mais de 10% da diversidade mundial, mas tanto o conhecimento do status taxonômico quanto da distribuição geográfica da maioria das espécies é ainda bastante fragmentado (SILVANO e SEGALLA, 2005; SEGALLA *et al.*, 2021). Os anuros da Mata Atlântica são especialmente diversos, com mais de 600 espécies registradas, 85% das quais são endêmicas (ROSSA-FERES *et al.*, 2017). Esse alto nível de diversidade foi atribuído à excepcional heterogeneidade de macro e microhabitats, topografia e variação climática em todo este bioma (BROWN e BROWN, 1992; HADDAD e PRADO, 2005).

Anuros também desempenham muitas funções ecossistêmicas nos locais onde ocorrem (ROWLAND *et al.*, 2015). Por exemplo, eles representam grande parte da biomassa dos ambientes e muito contribuem no ciclo de nutrientes, além de ocupar diferentes níveis ao longo da cadeia trófica (GIBBONS *et al.*, 2006; SCHALK *et al.*, 2017; RIBEIRO *et al.*, 2017). Além disso, sua grande diversidade de modos reprodutivos aumenta a resistência das comunidades e garante a resiliência em situações de distúrbio (DAVIC e WELSH, 2004; HADDAD e PRADO, 2005).

Atualmente, os anuros são reconhecidos como um dos grupos de animais mais ameaçados de extinção em todo o mundo, com mais de 40% das espécies ameaçadas ou extintas (STUART *et al.*, 2004; IUNC, 2020). Diversos fatores exercem influência sobre o declínio mundial de anfíbios, como perda de habitat, mudanças climáticas, poluição ambiental por produtos agrícolas químicos, introdução de espécies exóticas, incidência de radiação UV, doenças emergentes entre outros (DASZAK *et al.*, 1999; COLLINS e STORFER, 2003; POUNDS *et al.*, 2006; McMENAMIN *et al.*, 2008; MANN *et al.*, 2009; GRANT *et al.*, 2016).

Entender os fatores que influenciam a saúde, abundância e distribuições das espécies é uma preocupação importante nas pesquisas de caráter ambiental (JONES *et al.*, 2017; KÄRVEMO, *et al.*, 2018), além disso, podem gerar informações valiosas para uma possível avaliação de risco deste grupo.

Declínio global de anfíbios

Enfrentamos atualmente uma evidente crise ambiental em escala global, que pode ser exemplificada pelas mudanças climáticas e em meio de uma sexta extinção global em massa da biodiversidade (WAKE e VREDENBURG, 2008; BARNOSKY *et al.*, 2011; CEBALLOS *et al.*, 2015), com mais de 40% das espécies, os anfíbios são o grupo de vertebrados mais ameaçados (STUART *et al.*, 2004; IUNC, 2021).

A partir da segunda metade da década de 1980, aparecem na literatura registros de declínios em populações de anfíbios em várias partes do mundo (LIPS *et al.*, 2001; SILVANO e SEGALLA, 2005), que durante décadas, permaneceram enigmáticas (ADAMS *et al.*, 2017). A diminuição dos anfíbios foi atribuída a uma variedade de fatores (COLLINS e STORFER, 2003; BECKER *et al.*, 2007; GRANT *et al.*, 2016). Existem evidências de que vários declínios populacionais são

provavelmente resultado de interações complexas entre fatores bióticos e abióticos (KIESECKER *et al.*, 2001; BLAUSTEIN e KIESECKER, 2002). As explicações propostas estão associadas a um aumento da radiação ultravioleta (UV-B) (BLAUSTEIN e KIESECKER, 2002; BLAUSTEIN e JOHNSON, 2003; BLAUSTEIN e BELDEN, 2003); contaminantes químicos (pesticidas, herbicidas, fungicidas, fertilizantes, etc.) (BATTAGLIN e FAIRCHILD, 2002; BLAUSTEIN e JOHNSON, 2003), patógenos e parasitas (BLAUSTEIN e KIESECKER, 2002; JOHNSON *et al.*, 2002), destruição e alteração do habitat, mudanças nos padrões meteorológicos (mudança climática) (KIESECKER *et al.*, 2001; BLAUSTEIN *et al.*, 2011) e a introdução de espécies exóticas (BLAUSTEIN e JOHNSON, 2003).

Em particular, as doenças infecciosas emergentes, como é o caso da quitridiomycose, destacam-se como uma ameaça significativa à biodiversidade global (ROY *et al.*, 2016; BATES *et al.*, 2018). Embora os anfíbios sejam hospedeiros de uma variedade de patógenos / parasitas, incluindo bactérias, vírus, fungos e helmintos (WORTHYLAKE *et al.*, 1989; BLAUSTEIN *et al.*, 1994; CUNNINGHAM *et al.*, 1996; DASZAK *et al.*, 1999; JOHNSON *et al.*, 2002), evidências apontam algumas doenças com efeitos particularmente devastadores sobre as populações de anfíbios em todo o mundo. Entre estas causas, destaca-se a quitridiomycose, uma patogenia emergente que causou declínios de anfíbios anuros em seis diferentes regiões do planeta (SKERRATT *et al.*, 2007; LIPS *et al.*, 2016).

A quitridiomycose é causada por duas espécies de fungos pertencentes ao filo Chytridiomycota (LONGCORE e PESSIER, 1999; MARTEL *et al.*, 2013). O fungo *Batrachochytrium dendrobatidis* [descoberto em 1998] (BERGER *et al.*, 1998) que afeta principalmente os anfíbios anuros enquanto *B. salamandrivorans* [descoberto em 2013] (MARTEL *et al.*, 2013) que acomete em especial as

salamandras. A quitridiomiose também é letal para as cecílias (ordem (Gymnophiona) (GOWER *et al.*, 2013), mas não houve declínios cecilianos associado à esta doença, embora dados são limitados.

A eminente ameaça aos anfíbios anuros tem sido atribuída a uma única linhagem do fungo *Batrachochytrium dendrobatidis*, conhecida como *Bd*GPL (Linha Panzoótica Global) (DASZAK, *et al.*, 2000; FISHER *et al.*, 2009; FARRER *et al.*, 2011; O'HANLON, 2018). Em termos de doenças infecciosas, o quitrídio, é considerado umas das ameaças mais desafiadoras para mitigação (GARNER *et al.*, 2016). Esta doença pode causar declínio da população, extinção local e contribuir extinções de espécies (STUART *et al.*, 2004; OLSON *et al.*, 2013; SCHEELE *et al.*, 2019).

Evidências recentes sugerem que a origem do *Bd* seja uma península coreana, onde uma linhagem, exibe características genéticas de uma população ancestral que disseminou a linhagem panzoótica (O'HANLON *et al.*, 2018).) Estudos datam o surgimento do *Bd* para início do século XX, coincidindo com a expansão global do comércio de anfíbios (O'HANLON *et al.*, 2018).

Estimativas conservadoras indicam que a doença tenha contribuído para o declínio de pelo menos 500 espécies, incluindo 90 extinções presumidas (SCHEELE *et al.*, 2019, 2020). Isso representa a maior perda documentada de biodiversidade atribuível a um patógeno e coloca *B. dendrobatidis* entre as espécies invasoras mais destrutivas (SCHEELE *et al.*, 2019).

A capacidade do *Bd* causar grandes declínios é atribuível à sua ampla patogenicidade (OLSON *et al.*, 2013), alta taxa de transmissão dentro, fora e entre espécies hospedeiras (SKERRATT *et al.*, 2007) e persistência em reservatórios como espécies hospedeiras e meio ambiente (VALENZUELA-SÁNCHEZ *et al.*, 2017).

Recentemente, o sequenciamento do genoma completo permitiu uma caracterização de genótipos do *Bd* em todo o mundo, e quatro linhagens foram reconhecidas: *Bd*GPL (linhagem pandêmica global), *Bd*CAPE, *Bd*ASIA-1 e *Bd*ASIA-2/*Bd*BRAZIL (O'HANLON *et al.*, 2018). O

*Bd*CH descrito anteriormente foi contestado e considerado como grupo com *Bd*ASIA-1 (O'HANLON *et al.*, 2018; BYRNE *et al.*, 2019). Recentemente foi descrita a linhagem *Bd*ASIA-3 (BYRNE *et al.*, 2019). Este último apóia ainda mais a hipótese de que o *Bd* se originou no Leste Ásia, de onde ocorre a maior diversidade de *Bd* (O'HANLON *et al.*, 2018). Híbridos originados da recombinação genética entre linhagens entre *Bd*GPL e *Bd*ASIA-2/*Bd*BRAZIL, e entre *Bd*GPL e *Bd*CAPE também foram descritos (SCHLOEGEL *et al.*, 2012; GREENSPAN *et al.*, 2018; O'HANLON *et al.*, 2018; BYRNE *et al.*, 2019; GHOSH *et al.*, 2021; AZAT, 2021). Geralmente, *Bd*GPL e *Bd*CAPE, e seus híbridos, têm sido identificados como mais patogênicos em comparação com outros genótipos (GREENSPAN *et al.*, 2018; O'HANLON *et al.*, 2018).

A propagação desse fungo é atribuível a dois fatores principais: atividades humanas (especialmente transporte e criação de animais) (WELDON *et al.*, 2004; GARNER *et al.*, 2006; SCHEELE *et al.*, 2019) e processos naturais (principalmente via animais migratórios, incluindo anfíbios não portadores do fungo (VREDENBURG *et al.*, 2010; GARMYN *et al.*, 2012; McMAHON *et al.*, 2013).

A rã-touro, *Lithobates catesbeianus* (Shaw, 1802), desempenha um papel importante na dinâmica da quitridiomiose. Estas rãs são hospedeiros altamente tolerantes (HANSELMANN *et al.*, 2004; ESKEW *et al.*, 2015) o que significa que são capazes de resistir a altas cargas de infecção de *Bd* sem desenvolver quimitridiomiose. Assim, as rãs-touro atuam como reservatórios (GARNER *et al.*, 2006; DASZAK *et al.*, 2004; HANSELMANN *et al.*, 2004) e vetores do patógeno (KRIGER *et al.*, 2009; SCHLOEGEL *et al.*, 2012; O'HANLON *et al.*, 2018).

O *Bd* não ocorre uniformemente nos ambientes, já que anfíbios que habitam lenticos e lóticos diferem no seu estado de infecção (KRIGER e HERO 2007; PREUSS *et al.*, 2016). A linhagem *Bd*-GPL é potencialmente mais efetiva na disseminação em ambientes fragmentados e foi

apontada com uma linhagem hipervirulenta de *Bd* (FARRER *et al.*, 2011; JENKINSON *et al.*, 2016). Em escalas espaciais locais, a prevalência das infecções pode ser afetada por vários fatores, incluindo a qualidade do habitat (GILLESPIE *et al.*, 2005), densidade populacional do hospedeiro (ARNEBERG *et al.*, 1988), migração do hospedeiro (ALTIZER *et al.*, 2011) e interações entre as espécies hospedeiras (DASZAK *et al.*, 2000). Em uma escala regional, o risco de infecções pode ser adicionalmente afetado por fatores como características e condições microclimáticas (HORWITZ e WILCOX, 2005; WILCOX e COLWELL, 2005). Impactos antrópicos associados à intensificação agrícola, urbanização e introdução de outras doenças também podem afetar o risco de infecção em diferentes escalas espaciais (MORSE, 2001; CROWL *et al.*, 2008).

Quando *Bd* chega a uma nova área, ele pode se espalhar em uma frente de onda, geralmente levando a extinções locais ou resultando em declínios acentuados e deixando remanescentes cada vez menores das populações de anfíbios (RACHOWICZ *et al.*, 2005; LIPS *et al.*, 2008; CHENG *et al.*, 2011). Devido às mudanças climáticas ou ao surgimento de novas linhagens mais virulentas, o *Bd* também pode repentinamente se tornar devastador em locais onde anteriormente não havia levado a surtos de doenças (BOSCH *et al.*, 2007; RÖDDER *et al.*, 2010; CLARE *et al.*, 2016; JENKINSON *et al.*, 2016; COHEN *et al.*, 2018). Além disso, esses dois mecanismos que levam à mortalidade em massa em anfíbios não são mutuamente exclusivos e podem atuar em conjunto (ROHR e RAFFEL, 2010; WALKER *et al.*, 2010; LIPS, 2016; COHEN *et al.*, 2018, 2019).

O *Bd* tem um ciclo de vida complexo que consiste em um estágio de zoósporo aquático infeccioso de vida livre e um estágio de zoosporângio não móvel (LONGCORE e PESSIER, 1999; BERGER *et al.*, 2005). A quitridiomíose, é uma doença que afeta as células na epiderme e as camadas externas queratinizadas, interrompendo o transporte de água, oxigênio e sais (ROY *et al.*, 2016). Os zoósporos móveis são quimicamente atraídos pela queratina de anfíbios hospedeiros,

como aparelho bucal de girinos ou camadas epidérmicas queratinizadas da pele de anfíbios adultos (BERGER *et al.*, 1998, 2005; GREENSPAN *et al.*, 2012). Em girinos, a infecção por *Bd* geralmente causa apenas sintomas leves, incluindo letargia e baixo desempenho na natação, resultando em uma massa corporal um pouco mais baixa, mas a mortalidade larval devido à quitridiomiose é rara (BLAUSTEIN *et al.*, 2005; GARNER *et al.*, 2009; HANLON *et al.*, 2015).

Em metamorfos e adultos a infecção pode levar a hiperqueratose e hiperplasia da camada dérmica, erosões e ulcerações da pele e interrupção do ciclo celular epidérmico (BERGER *et al.*, 1998; NICHOLS *et al.*, 2001; BERGER *et al.*, 2005; VOYLES *et al.*, 2009; GREENSPAN *et al.*, 2012). A incapacidade de regular íons através da pele podem levar à parada cardíaca (VOYLES *et al.*, 2007) e lesão no fígado (SALLA *et al.*, 2020). Os sinais clínicos de quitridiomiose incluem letargia, falta de apetite, postura anormal, perda do reflexo de endireitamento, eritema cutâneo e aumento da descamação da pele (VOYLES *et al.*, 2009). No entanto, nem todos os animais infectados são sintomáticos quando infectados (VOYLES *et al.*, 2009; CAMPBELL *et al.*, 2012; WHITFIELD *et al.*, 2013). Uma vez dentro do hospedeiro, os zoosporângios amadurecem e desenvolvem zoósporos patogênicos que são liberados fora do hospedeiro para o ambiente aquático ou outro tipo de substrato disponível onde reiniciam seu ciclo (JAMES e VILGALYS, 2006) (Figura 1).

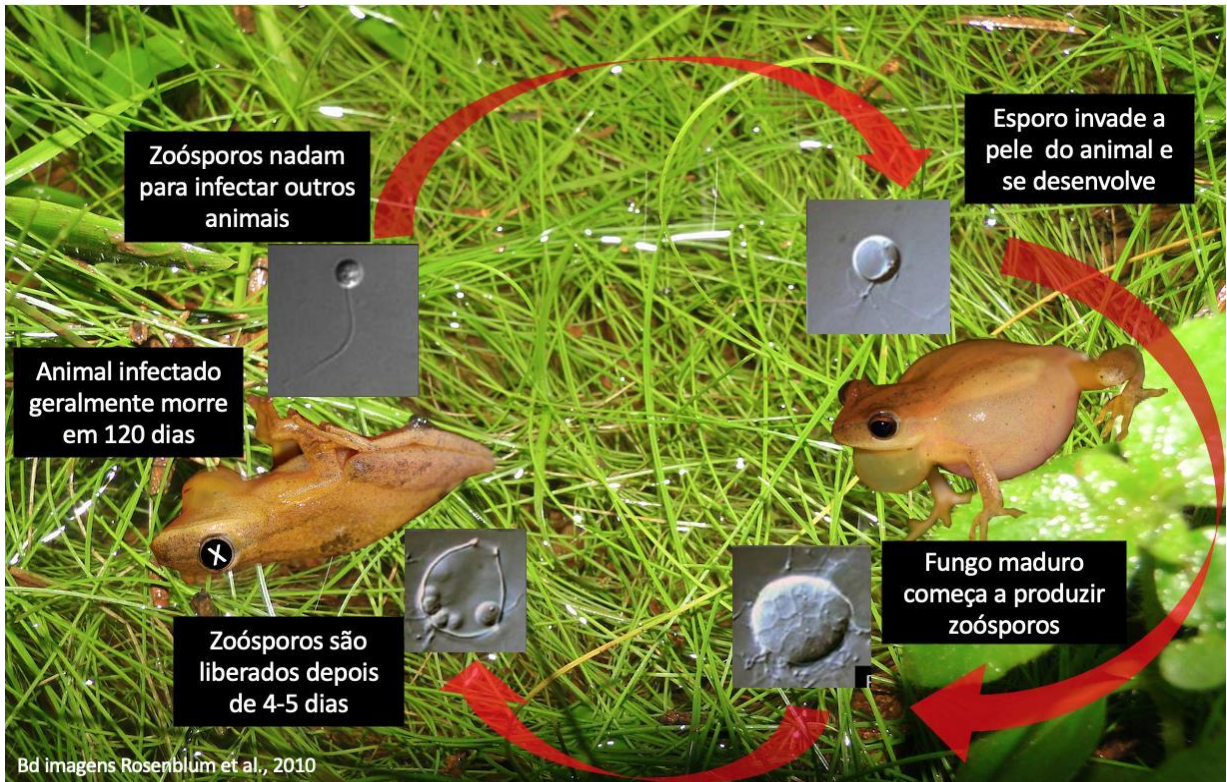


Figura 1. Esquema do ciclo de vida de *Batrachochytrium dendrobatidis* (adaptado de ROSENBLUM *et al.*, 2010).

Fotos: Jackson Preuss, 2021.

Existem vários mecanismos de defesa contra agentes infecciosos em anfíbios (HETTYEY *et al.*, 2019). Indivíduos de muitas espécies excretam peptídeos antimicrobianos em sua pele e estes demonstraram deprimir as cargas de infecção por *Bd in vitro* (WOODHAMS *et al.*, 2007b; ROLLINS-SMITH, 2009). No entanto, algumas espécies que possuem peptídeos antimicrobianos são altamente suscetíveis à infecção (por exemplo, ROLLINS-SMITH *et al.*, 2006, 2009). O sistema imunológico adaptativo dos anfíbios também pode contribuir para a supressão da quitridiomiose, mas os resultados também são variados nesse aspecto (ROLLINS-SMITH *et al.*, 2009; RAMSEY *et al.*, 2010; STICE e BRIGGS, 2010; CASHINS *et al.*, 2013; McMAHON *et al.*, 2014). Os indivíduos podem adotar padrões comportamentais que impedem a infecção ou diminuem a carga de patógenos (SHERMAN *et al.*, 1991; LEFCORT e BLAUSTEIN, 1995; SHERMAN, 2008; RAKUS

et al., 2017). Por fim, algumas bactérias simbióticas que habitam a pele de anfíbios produzem metabólitos antifúngicos que podem dificultar a colonização por *Bd* e reduzir seu crescimento (HARRIS *et al.*, 2006, 2009a, b; LAM *et al.*, 2010, 2011). Entretanto, os organismos simbiotes não são onipresentes (LAM *et al.*, 2010), seu desempenho depende do ambiente (DASKIN *et al.*, 2014) e não protegem contra todas as linhagens de *Bd* (ANTWIS *et al.*, 2015).

Um fungo patogênico semelhante e que também causa quitridiomiose em outro grupo de anfíbios, *Batrachochytrium salamandrivorans* (*Bsal*), é um patógeno recém-descoberto que infecta principalmente salamandras (MARTEL *et al.*, 2013). O declínio drástico das salamandras de fogo, *Salamandra salamandra*, L., na Holanda, Alemanha e Bélgica, tem sido associada a *Bsal* (SPITZEN-VAN DER SLUIJS *et al.*, 2014; SABINO-PINTO, *et al.*, 2015; SPITZEN-VAN DER SLUIJS *et al.*, 2016).

Além disso, doenças virais associadas ao gênero *Ranavírus* (*Rv*) também têm sido implicados em declínios e mortalidades em massa de anfíbios (GREEN *et al.*, 2002; CHINCHAR *et al.*, 2009; KIK *et al.*, 2011; TEACHER *et al.*, 2010). Os anfíbios são infectados com *Rv* por contato físico, exposição cutânea à água contaminada ou ingestão direta do vírus (BRUNNER *et al.*, 2007). A infecção pode ocorrer em apenas um segundo de contato direto com um indivíduo infectado da mesma espécie (BRUNNER *et al.*, 2007) ou 3 h de contato com água contaminada (ROBERT *et al.*, 2011). As infecções por *Rv* podem causar apoptose celular e necrose tecidual em poucas horas (CHINCHAR, 2002; WILLIAMS *et al.*, 2005). Os indicadores comuns da infecção por *Rv* incluem natação irregular, letargia, eritema, descamação da pele, perda de pigmentação, lordose (curvatura interna excessiva da coluna vertebral) e ulcerações (TWEEDDELL *et al.*, 1968; BOLLINGER, *et al.*, 1999). Lesões e hemorragias associadas a casos fatais de *Rv* ocorrem em órgãos internos, particularmente fígado, rim, intestino, baço e órgãos reprodutivos (CUNNINGHAM *et al.*, 1996;

DOCHERTY *et al.*, 2003; MILLER *et al.*, 2010). Segundo Teacher *et al.* (2010), as populações podem responder de maneira diferente ao vírus e a gravidade podem ser transitórias, catastróficas ou persistentes com eventos recorrentes de mortalidade.

A influência do ambiente na diversidade de anfíbios

A heterogeneidade ambiental é um dos principais fatores que contribuem para uma maior riqueza de espécies em um determinado ambiente, em uma variedade de organismos (TEWS *et al.*, 2004, TOWNSEND *et al.*, 2009), incluindo anuros (KELLER *et al.*, 2009; VASCONCELOS *et al.*, 2009).

A maior riqueza local pode ser alcançada por meio da especialização de espécies, o que impulsiona a ocupação de microhabitats específicos de uma determinada área (SANTOS *et al.*, 2007; VASCONCELOS *et al.*, 2009; SILVA *et al.*, 2012; SANTOS e CONTE, 2014), promovendo alta funcionalidade e diversidade filogenética (CAMPOS *et al.*, 2017). O avanço da urbanização e das fronteiras agrícolas tem efeitos adversos na ocorrência de espécies devido à perda de habitat, fragmentação e degradação, o que resulta em uma drástica diminuição na disponibilidade de microhabitats (KNUTSON *et al.*, 1999; CUSHMAN, 2006; CRUZ-ELIZALDE *et al.*, 2016; LOURENÇO-DE-MORAES *et al.*, 2018; FIGUEIREDO *et al.*, 2019).

A fragmentação de habitat é um processo que ocorre na escala da paisagem, envolvendo tanto a perda, como a mudança na configuração do habitat (FRANKLIN *et al.*, 2002; FAHRIG, 2003). A perda de habitat é compreendida como a diminuição da área total de habitat, sem necessariamente sua subdivisão; por outro lado, a fragmentação envolve sempre uma mudança na configuração da paisagem, incluindo a subdivisão de uma área em manchas menores e isoladas, podendo ocorrer ou não a perda de habitat (FRANKLIN *et al.*, 2002).

Anfíbios são os vertebrados tetrápodes mais sensíveis à mudança do habitat, pois possuem restrita forma de locomoção em relação a grandes distâncias, habitat específicos e alta dependência de microhabitat para reprodução (HADDAD e PRADO, 2005). Vários estudos tem mostrado que existe uma relação entre a riqueza de espécies de anuros e a heterogeneidade ambiental (PARRIS, 2004; VASCONCELOS *et al.*, 2009, KELLER *et al.*, 2009; SILVA *et al.*, 2011, 2012; SANTOS e CONTE, 2014; FIGUEIREDO *et al.*, 2019), e as respostas a essa associação estão relacionadas à escala espacial. A heterogeneidade espacial na oferta de recursos e as condições abióticas influenciam fortemente o desempenho individual na maioria das espécies (HUTCHINGS *et al.*, 2000, 2003). No entanto, ainda não está claro como a heterogeneidade pode ser quantificada (DUTILLEUL e LEGENDRE 1993; SPARROW 1999; WIENS 2000; TURNER *et al.*, 2001). Segundo Kolasa e Rollo (1991) e Li e Reynold (1995), podem ser definidos dois tipos de heterogeneidade ambiental, estrutural e funcional. A heterogeneidade estrutural é a complexidade ou variabilidade de uma propriedade do sistema, medida sem referência a qualquer efeito ecológico. A heterogeneidade funcional é a complexidade ou variabilidade de uma propriedade do sistema que afeta os processos ecológicos (LI e REYNOLD 1995). Apesar dessa distinção, a heterogeneidade ambiental tem sido dividida dessa maneira na prática.

Em uma escala local, a ocorrência de espécies em corpos d'água é determinada, por exemplo, pela urbanização (GAGNÉ e FAHRIG 2007; FIGUEIREDO *et al.*, 2019); pela permanência da água (VASCONCELOS *et al.*, 2009), pelo pH e temperatura (INGER e COLWELL, 1977; KELLER *et al.*, 2009; FICETOLA e MAIORANO, 2016), pela profundidade da água (BURNE e GRIFFIN 2005; GONÇALVES *et al.*, 2015), pelo tipo de vegetação dentro e ao redor do corpo d'água (KELLER *et al.*, 2009; GONÇALVES *et al.*, 2015). Na escala regional, os fatores que impulsionam a ocorrência de espécies são, por exemplo, distância a fragmentos florestais (SILVA *et*

al., 2011; GONÇALVES *et al.*, 2015) e a distância geográfica entre corpos d'água (BURNE e GRIFFIN, 2005; SANTOS e CONTE, 2016).

A contaminação ambiental, uma ameaça à sobrevivência dos anfíbios

Os anfíbios são componentes valiosos da biodiversidade que diminuíram significativamente em muitas regiões do mundo (COLLINS e STORFER, 2003; GRANT *et al.*, 2020). Razões extrínsecas que contribuíram para esses declínios incluem vários fatores bióticos e abióticos que agem sinergicamente. O impacto negativo das atividades antropogênicas na biodiversidade está se tornando cada vez mais visível e os anfíbios são atualmente o grupo de vertebrados mais ameaçados globalmente (HOFFMANN *et al.*, 2010; EGEA-SERRANO *et al.*, 2012). Quase um terço das espécies conhecidas de anfíbios é considerado ameaçado de extinção e uma diminuição da variabilidade genética pode levá-las à beira da extinção (FASOLA *et al.*, 2015).

Segundo Adams (2017), há importância dos fatores antrópicos estressantes para a ocorrência de possíveis extinções. “Estressores” antropogênicos são fatores ambientais que causam estresse (SCHULTE, 2014), como destruição e fragmentação de habitats, introdução de espécies invasoras e exposição a contaminantes e poluição, podem influenciar negativamente indivíduos, populações e comunidades (JONES *et al.*, 2017).

Em suma, a presença de contaminantes é generalizada (KOLPIN *et al.*, 2002; GILLIOM *et al.*, 2007) e deverá aumentar em um futuro próximo (TILMAN *et al.*, 2001; GALLOWAY *et al.*, 2003). Além disso, a presença ambiental de contaminantes é cada vez mais introduzida por aplicação direta, escoamento da colheita e aplicações florestais ou minas, esgoto urbano e industrial, e deposição atmosférica (VITOUSEK *et al.*, 1997; LINDER e GRILLITSCH, 2000; SPARLING, 2000, SCHIESARI *et al.*, 2007).

Dados apontam que os contaminantes contribuíram para o declínio de anfíbios, e acredita-se que os produtos químicos usados sejam especialmente problemáticos em vários contextos para esses organismos (HAYES *et al.*, 2006; McCOY *et al.*, 2008). O que nos falta é uma avaliação geral de como os diferentes tipos de contaminantes afetam anfíbios. De modo geral, os anfíbios são considerados um grupo sensível à contaminantes ambientais devido ao seu estilo de vida bifásico, compreendendo fases aquáticas e terrestres e, portanto, múltiplas rotas de exposição (HAYES *et al.*, 2006), e a permeabilidade de sua pele, o que permite a difusão de contaminantes (QUARANTA *et al.*, 2009). A aplicação direta e o escoamento superficial podem ser causas de estresse em momentos críticos da vida dos anfíbios, como a metamorfose (BERVEN, 1990; SEMLITSCH *et al.*, 1996, 2000).

Efeitos letais e subletais associados a contaminantes já foram documentados para anfíbios (COWMAN e MAZANTI, 2000; LINDER e GRILLITSCH 2000; SPARLING, 2000; CAMARGO *et al.*, 2005; RELYEA e HOVERMAN, 2006; KERBY *et al.*, 2010), incluindo diminuição crescimento e desenvolvimento e aumento da frequência de anormalidades no desenvolvimento, suscetibilidade a doenças e alterações comportamentais (por exemplo, (BISHOP *et al.*, 1999; BRIDGES, 1999; ORTIZ *et al.*, 2004; RELYEA, 2005; GRIFFIS-KYLE, 2007; KARRAKER *et al.*, 2008; SNODGRASS *et al.*, 2008; RELYEA, 2009; HAMER e PARRIS, 2011).

Declínios e anormalidades de anfíbios já foram atribuídos principalmente a contaminantes agrícolas (HOPKINS *et al.*, 2006; BRÜHL *et al.*, 2013), muitas vezes associadas a um impacto que afeta negativamente a qualidade da água em locais de reprodução (REEVES *et al.*, 2017) ou incluindo efeitos indiretos através de sinergias com patógenos (REEVES *et al.*, 2017; MCCOY e PERALTA, 2018).

Apesar disso, muitas espécies de anuros, são capazes de sobreviver e persistir em habitats modificados, onde as áreas úmidas naturais são escassas, as lagoas agrícolas construídas podem fornecer importantes habitats de reprodução se manejadas adequadamente (KNUTSON *et al.*, 2004; SMALLING *et al.*, 2015). Devido a alta sensibilidade e ocuparem ambientes em risco, os anfíbios, são historicamente utilizados como animais de teste e bioindicadores na avaliação dos efeitos de contaminantes nos ecossistemas aquáticos e agrícolas (LINDER e GRILLITSCH, 2000; CAMARGO e ALONSO, 2006; MARQUIS *et al.*, 2009).

Estudos de laboratório tenham examinado os efeitos de um, ou um conjunto de produtos químicos (CHRISTIN *et al.*, 2004; BUCK *et al.*, 2012), a poluição por produtos de origem agrícola tem efeitos indiretos em anfíbios através de sinergias com patógenos (REEVES *et al.*, 2017). A exposição a pesticidas pode ter efeitos positivos ou negativos na transmissão de doenças, infectividade e suscetibilidade do hospedeiro (CLEMENTS e ROHR, 2009; BLAUSTEIN *et al.*, 2011). Por exemplo, certos fungicidas podem reduzir o número de zoósporos de *Batrachochytrium dendrobatidis* (*Bd*), a causa da quitridiomiose, na pele de anuros (BERGER *et al.*, 2010; HANLON *et al.*, 2012), enquanto alguns herbicidas e inseticidas, notavelmente atrazina e DDT (diclorodifeniltricloroetano), podem causar imunossupressão em anfíbios e podem aumentar a suscetibilidade à quitridiomiose (ALBERT *et al.*, 2007; BRODKIN *et al.*, 2007; MANN *et al.*, 2009). Por isso, analisar padrões de como estressores interagem com contaminantes é de grande relevância ao considerar os efeitos da poluição nas populações de anfíbios (HAYES *et al.*, 2010).

A contaminação ambiental de origem agrícola

As influências da agricultura na biodiversidade são complexas (PITA *et al.*, 2009, ŠÁLEK *et al.*, 2009; GASTÓN *et al.*, 2016). Os sistemas agrícolas podem suportar médios a altos níveis de

biodiversidade (BAUDRON e GILLER 2014; SCHEELE *et al.*, 2014). As paisagens agrícolas são habitats essenciais para a manutenção da vida selvagem devido à perda de habitat natural, fragmentação e degradação da qualidade do habitat causada pela atividade humana (BENTON *et al.* 2003; FRATERRIGO *et al.*, 2009; FAHRIG *et al.*, 2011; LI *et al.*, 2020).

Muitos anfíbios existem nesses ambientes e algumas espécies são capazes de usá-los para forrageamento, reprodução e hibernação (DONALD, 2004). No entanto, o aumento da demanda por alimentos transformou sistemas tradicionais de produção de baixa intensidade em ambientes homogeneizados de alto rendimento (FOLEY *et al.*, 2011; HERRERO e THORNTON, 2013). A intensidade das atividades agrícolas é frequentemente associada a perda do habitat natural, principalmente pela ocorrência de grandes fazendas com campos cultivados, e altos níveis de mecanização e principalmente a grande quantidade de contaminantes (KOUMARIS e FAHRIG, 2016), sendo considerada uma ameaça importante para a diversidade de anfíbios (CUSHMAN, 2006).

A natureza dos contaminantes e a maneira como eles se comportam no ambiente são de grande importância. A poluição agrícola é definida como o fenômeno de danos, contaminação e degradação do meio ambiente e do ecossistema e riscos à saúde devido aos subprodutos das práticas agrícolas (TABASSUM-ABBASI, 2014).

A poluição do ar causada pela agricultura tem um impacto adverso na biodiversidade. Estes contaminantes aéreos podem ser produtos químicos resultados principalmente de um processo de combustão das máquinas agrícolas (WERTHER *et al.*, 2000). Estes contaminantes, também são provenientes do processo de queima de resíduos oriundos de práticas agrícolas, como a limpeza de terras, pragas e pela obtenção de nutrientes do solo. Isso libera carbono, dióxido de carbono,

monóxido de carbono e dióxido de enxofre, que não apenas afetam a atmosfera, mas também todo o ecossistema associado (JENKINS *et al.*, 1996; VENKATARAMAN *et al.*, 2006).

Em particular, o solo pode ser contaminado por um grande número de poluentes (AELION, 2004). A poluição do solo é ocasionada por compostos e materiais tóxicos, produtos químicos xenobióticos, minerais ou outros sais, substâncias radioativas ou agentes responsáveis por causar diferentes problemas edáficos (ATAFAR *et al.*, 2010). Pesticidas como DDT (diclorodifeniltricloroetano), clorados hidrocarbonetos e organofosfatos são absorvidos pelas partículas do solo onde se acumulam e causam contaminação das raízes dos cultivares (SAYLES *et al.*, 1997; WANG *et al.*, 2008).

Certamente o mais impactado são os recursos hídricos, os dejetos formados por esterco e águas residuais proveniente da pecuária podem escoar para corpos d'água e bacias hidrográficas, alterando os microrganismos e as condições físico-químicas da água (TENG *et al.*, 2019). De acordo com os relatórios recentes da Agência de Proteção Ambiental (EPA, 2009), a agricultura é uma importante perturbação de rios e córregos, mais precisamente a terceira maior fonte de poluição de lagos, lagoas e reservatórios. Segundo os dados publicados pelo Relatório Nacional de Resumo de Águas Avaliadas em 2010, aproximadamente 53% dos rios e córregos globais foram declarados impróprios para o uso (RABOTYAGOV *et al.*, 2012).

Os principais contaminantes agrícolas presentes nos corpos d'água abrangem as substâncias inorgânicas (herbicidas, inseticidas e fungicidas) e orgânicas, estas muitas vezes que estão associadas ao aumento dos níveis de nutrientes nestes ambientes (SMITH *et al.*, 1999). Estes contaminantes podem ser de fontes pontuais, onde uma única fonte de poluição é identificada, ou de uma fonte não pontual, como escoamento de terra, precipitação ou drenagem (HUMENIK *et al.*, 1987; TILMAN *et al.*, 2001; SPARLING e FELLERS, 2009).

Mesmo que essas substâncias cheguem aos rios e lagos em pequenas quantidades, a bioacumulação fará com que a sua ação seja altamente prejudicial ao longo das cadeias alimentares (FARIA, 2004). Foi demonstrado que uma ampla gama de produtos químicos agrícolas e descargas de efluentes afetam negativamente a saúde da vida selvagem, especialmente dos anfíbios anuros (BISHOP *et al.*, 1999; MANN *et al.*, 2009; SMALLING *et al.*, 2015), tanto em ambientes naturais quanto em estudos laboratoriais (MANN *et al.*, 2009; CARR e PATIÑO, 2011; EGEE e SERRANO *et al.*, 2012).

A contaminação ambiental pela prática da criação de suínos integrada à piscicultura

A produção de suínos vem crescendo nos últimos anos no mercado nacional, com um rendimento de 4,4 milhões de toneladas de carcaça por ano (ABPA, 2021). Trata-se de uma atividade econômica importante, principalmente na região oeste do estado de Santa Catarina (SC), onde se concentra o maior número de suinocultores (IBGE, 2016). O desenvolvimento da suinocultura intensiva, com dimensionamentos empresariais, trouxe como consequência a produção de grandes quantidades de ejeções, que, em 75% das granjas, são depositadas em lagoas anaeróbicas impermeabilizadas com manta de borracha protetora (ANDREAZZI *et al.*, 2015).

Em termo de pequenos produtores, apesar da importância econômica, social e cultural da suinocultura, a produção suinícola também tem um potencial poluidor muito grande, em virtude do grande volume de ejeções gerado por animal e da concentração em pequenas áreas. O uso das ejeções em lavouras é considerado uma alternativa que os pequenos produtores possuem para dar destino à elevada produção.

Por apresentar uma composição química variável, decorrente de alterações na alimentação e no manejo dos suínos, as ejeções causam um impacto diferente ao meio ambiente heterogêneo

(MELLER, 2007). O uso incorreto das ejeções pode resultar em contaminação de solo e água, sobretudo em propriedades com alta concentração de animais e pouca área agricultável (SILVA e BASSI, 2012). Dejetos de suínos são resultado da mistura de fezes, urina, água da lavagem das baias, sobras de rações, pó e pelos dos animais (GONÇALVES JUNIOR *et al.*, 2008), além do desperdício da água dos bebedouros, dentre outros componentes decorrentes do processo de criação suinícola (KONZEN *et al.*, 1997).

Os impactos ambientais decorrentes da suinocultura na região Sul do Brasil têm aumentado consideravelmente nos últimos anos, principalmente com a adoção do sistema de criação intensiva implantado na década de 80 (OLIVEIRA, 1993). A adoção deste sistema agravou a questão ambiental ligada à atividade, principalmente em decorrência do manejo inadequado de dejetos de suínos considerados um potencial poluidor dos solos e corpos d'água superficiais (OLIVEIRA e NUNES, 2002).

O uso inadequado deste dejetos pode resultar em graves problemas ambientais. A contaminação das águas subterrâneas por coliformes fecais e vários outros patógenos oriundos de dejetos não tratados é um grande problema da criação de suínos, rotineiramente resultando em ameaças de surtos de doenças humanas (KRAPAC *et al.*, 2002; BROWN *et al.*, 2014).

Em todo o mundo, mais de 1 bilhão de pessoas possuem nos peixes como importante fonte de proteínas animais (OMOJOWO e OMOJASOLA, 2013). Os dejetos de suínos são frequentemente usados na piscicultura para intensificação da produção de peixes, equilibrando a proporção entre carbono e outros nutrientes (HOPKINS e CRUZ, 1982; OGELLO *et al.*, 2013; ELSAIDY *et al.*, 2015). Segundo Segat (2012), o atual modelo de criação de suínos permite maior concentração de animais por unidade de área, tornando-se uma possibilidade de aumento de renda nas propriedades que se caracterizam por suas pequenas extensões territoriais.

Em prática, o dejetos animal é descarregado diretamente no tanque de peixes, onde os nutrientes sustentam a crescimento de plâncton e outros microrganismos consumidos por peixes (DHAWAN e KAUR, 1978; TREECE, 2000; MARTINS *et al.*, 2018).. As tilápias, por exemplo, são consumidores oportunistas de macrófitas, bactérias e zooplâncton, e têm sido descritos como consumidor filtro porque são capazes de remover plâncton tão pequeno com 5 microns de diâmetro da coluna de água (EDWARDS, 1985; LIM *et al.*, 2006).

Durante séculos, adubos para suínos foram usados como fertilizantes para promover comunidades de plâncton em lagoas usadas para o cultivo de peixes na China (NASH, 2011). O Brasil é um dos vários países do mundo onde a suinocultura associada à criação de peixes tem uma longa tradição, uma vez que o crescimento dos peixes responde bem ao enriquecimento da lagoa com adubos orgânicos em cultura semi-intensiva (EZEAFURUKWE *et al.*, 2013). O desenvolvimento da piscicultura integrada no Brasil foi desencadeado por dois fatores, a grande disponibilidade de matéria orgânica em pequenas propriedades e as frágeis condições econômicas do agricultor que muitas vezes depende exclusivamente apenas deste tipo de atividade (PALHARES e COLDEBELLA, 2012).

No estado de Santa Catarina o consorciamento entre animais e piscicultura tem se destacado muito. A grande disponibilidade de resíduos orgânicos nas pequenas propriedades rurais, principalmente de suínos, associada à inexistência de comércio para os dejetos e à boa qualidade do mesmo como fertilizante para a piscicultura, criou um cenário favorável ao desenvolvimento da piscicultura integrada nessa região. O aproveitamento da matéria orgânica disponível das atividades agropecuárias como fonte de nutrientes para a produção de alimento natural para os peixes viabilizou economicamente a piscicultura, já que o custo da alimentação artificial pode representar até 70% do custo total da produção de peixes (CASTELLANI e ABIMORAD, 2012).

O estado é o maior produtor nacional, com 26% dos abates, sendo também o principal exportador de carne suína, responsável por mais de 50% das exportações brasileiras em 2018, sendo o rebanho de suínos da região Oeste do estado de Santa Catarina um dos mais representativos do país (GIEHL e MONDARDO, 2019). Em muitas pequenas propriedades rurais a criação suinícola ainda ocorre integrada a açudes para a piscicultura (Figura 2), uma vez que este tipo o sistema de cultivo de peixes foi apoiado pelo programa de incentivo a construção de açudes iniciado na década de 80, onde Governo do Estado/SUDESUL construiu, na região Oeste catarinense, cerca de 5 mil açudes associados a este tipo de suinocultura (TESTA *et al.*, 1996; CAVALETT, 2004). Por muito tempo, o policultivo de peixes integrados aos dejetos de suínos foi o principal sistema de criação em Santa Catarina.



Figura 2. Lagoa utilizada para piscicultura integrada à criação de suínos.

Fonte: Jackson Fábio Preuss, 2018.

Os usos tradicionais de enriquecimento em lagoas artificiais foram recentemente adaptados a sistemas de cultura fechados, resultando no “Método da água verde” (NEORI, 2011) e está amparado pela lei Nº 15.736, de 11 de janeiro de 2012, o qual define a piscicultura consorciada como a criação simultânea de peixes e animais de granja, principalmente suínos e aves, com vistas ao aproveitamento da ração não digerida e dos dejetos desses animais para fertilizar a água dos cultivos. Contudo, o uso de dejetos classificados como matéria orgânica proveniente de fezes de animais, pode ser considerada um importante risco para o meio aquático (MLEJNKOVA e SOVOVA, 2012). Os dejetos de suínos, por exemplo, podem enriquecer lagoas com nutrientes que, quando descarregados no recipiente corpo d'água, causam problemas sérios, como eutrofização e introduzem patógenos entéricos (LOPERA BARRERO *et al.*, 2006; MLEJNKOVÁ e SOVOVÁ, 2012).

A intensidade desse impacto é diretamente dependente das doses e decomposição do dejetos utilizado. A elevada concentração destes nutrientes pode causar um desequilíbrio químico, físico e biológico do solo (CORRÊA *et al.*, 2011), pois contém altas concentrações de metais pesados, e o uso contínuo destes resíduos pode aumentar as quantidades totais de Cu, Zn, P, N, Pb, Cd, Fe e Mn, no solo e água local (MATTIAS, 2006). Estes elementos traços, desempenham um papel importante na regulação de processos biogeoquímicos dos sistemas aquáticos (BROOKSHIRE *et al.*, 2005), todavia, podem tornar-se tóxicos e causar perturbações metabólicas em plantas e animais (CAPOANE *et al.*, 2014) e quando em altas concentrações podem desencadear a eutrofização dos mananciais (SEITZINGER *et al.*, 2002).

O fósforo e o nitrogênio, por exemplo, são resíduos que podem causar problemas consideráveis em ambientes aquáticos (GREEN *et al.*, 2002). Por exemplo, o nitrogênio afeta a

formação de proteínas, pois é um fator limitante para a produção primária de ecossistemas e sob certas condições, torna-se tóxico para os organismos aquáticos (PEREIRA e MERCANTE, 2005).

A presença de coliformes termotolerantes indica também a contaminação da água por bactérias patogênicas de origem entérica, como *Campylobacter*, *Helicobacter* e *Legionella* (MLEJNKOVÁ e SOVOVÁ, 2011). Contaminação da água por bactérias intestinais também pode indicar a presença de outros grupos de microrganismos patogênicos, como vírus, protozoários e helmintos (AL-HARBI, 2003).

Diretrizes da Administração de Alimentos e Medicamentos dos Estados Unidos (FDA, 1998) para a produção de alimentos orgânicos recomendam que o dejetos seja tratado para reduzir a probabilidade de transmissão de patógenos. Mesmo que raramente realizado, tratamento dos dejetos líquidos via processo de compostagem é uma alternativa promissora para assegurar a manutenção das áreas de produção intensiva de suínos, porque reduz os riscos de poluição das águas superficiais e subterrâneas por nitratos, fósforo e outros elementos minerais ou orgânicos; do ar pelas emissões de NH₃, CO₂, N₂O e H₂S e, de outra parte, em função dos custos e dificuldades de tratamento, armazenamento, transporte, distribuição e utilização na agricultura dos resíduos (OLIVEIRA *et al.*, 2000).

O papel do microbioma na saúde do hospedeiro

As interações simbióticas entre microrganismo e organismos multicelulares são onipresentes (JANI e BRIGGS, 2014). Os vertebrados abrigam comunidades diversas e complexas de vírus, microrganismos procarióticos e eucarióticos, como bactérias e fungos, que são adaptados para viver em um hospedeiro, por exemplo, no intestino ou em outras partes do hospedeiro, como na pele (MCFALL-NGAI *et al.*, 2013; FISCHBACH e SEGRE, 2016).

A comunidade de bactérias residentes é de significativa importância para a saúde do hospedeiro multicelular (OTTMAN *et al.*, 2012). Alterações na composição desses microbiomas (chamada disbiose) podem levar a uma ruptura de suas capacidades funcionais, aumentar a suscetibilidade a infecções patogênicas e levar ao desenvolvimento de várias doenças (TURNBAUGH *et al.*, 2007; MCKENNA *et al.*, 2008; SOMMER e BAËCKHED, 2013; LEE e HASE, 2014).

A alteração do microbioma pode afetar a saúde do hospedeiro diretamente, influenciando o metabolismo (QUAST *et al.*, 2013), o desenvolvimento (HUSE *et al.*, 2010), processos inflamatórios (SCHOLSS, 2010) ou o comportamento (LOZUPONE *et al.*, 2005), podendo também influenciar a saúde do hospedeiro diretamente, por meio de interações com patógenos infecciosos.

O importante papel que a pele de anfíbios desempenha nesses processos fisiológicos críticos os torna vulneráveis à dessecação e aos contaminantes ambientais (McCOY e GUILLETTE, 2009). A pele dos anfíbios desempenha um papel fundamental na manutenção da saúde através da produção de antioxidantes (LIU *et al.*, 2010), peptídeos antimicrobianos (ROLLINS-SMITH *et al.*, 2005, 2011) e abriga uma vasta comunidade microbiana que os protege de patógenos (HARRIS *et al.*, 2006). Além disso, desempenha importante papel nos processos fisiológicos tornando-os vulneráveis à dessecação e aos contaminantes ambientais (MCCOY e GUILLETTE, 2009).

Nos anfíbios, o microbioma cutâneo pode variar entre espécies e populações, sendo modelado, por exemplo, por ontogenia, geografia e sazonalidade (KUENEMAN *et al.*, 2014; LONGO *et al.*, 2015; BLETZ *et al.*, 2017; PREST *et al.*, 2018). Estudos objetivaram investigar a diversidade de microbiomas da pele de anfíbios em populações naturais (MCKENZIE *et al.*, 2012; LOUDON *et al.*, 2014) e indicaram que as interações bacterianas com patógenos invasores são fundamentais no resultado final da doença (HOOPER *et al.*, 2012) e que a manutenção do

microbioma, mediada pelo hospedeiro, pode resultar em fenótipos resistentes a doenças (MUELLER e SACHS, 2015).

Bactérias comensais em adesão às células hospedeiras podem conferir proteção contra patógenos (BUFFIE e PAMER, 2013), competir por recursos (KAMADA *et al.*, 2012), interagir com sistema imune do hospedeiro (GENSOLLEN *et al.*, 2016) ou produzir compostos antimicrobianos (BRUCKER *et al.*, 2008). Por isso, o microbioma da pele torna-se uma parte essencial do sistema inato imune dos anfíbios, e mudanças no microbioma cutâneo podem levar a maior mortalidade dos indivíduos infectados (HARRIS *et al.*, 2009).

A falta de associação entre genética patogênica da infecção e o desfecho da doença, sugere que o microbioma da pele do hospedeiro pode desempenhar um papel no impacto positivo ou negativo na infecção por *Batrachochytrium dendrobatidis* (*Bd*), causador da quitridiomiose, ou seja, a presença de bactérias simbióticas da mucosa epidérmica de anuros, pode inibir a colonização e a infecção causada por este fungo patogênico (WOODHAMS *et al.*, 2007a; PIOVIA-SCOTT *et al.*, 2017; BATES *et al.*, 2018).

Sabe-se também, que a presença ou ausência de defesas na pele prediz se uma espécie de anfíbio ou população persistirá com a infecção por *Bd* (WOODHAMS *et al.*, 2007b; ROLLINS-SMITH, 2011; SAVAGE e ZAMUDIO, 2011). Apesar de que as respostas imunes podem desempenhar um papel importante na sobrevivência de anfíbios suscetíveis à quitridiomiose, pouco se sabe sobre as interações entre o sistema imune dos anfíbios e *Bd* (FITES *et al.*, 2014).

Estudos indicam que microbioma cutâneo (BELDEN e HARRIS, 2007) e a ação dos peptídeos antimicrobianos (ROLLINS-SMITH *et al.*, 2005) encontrados em secreções naturais na pele do anfíbio hospedeiro são influentes sobre este fungo patogênico. Por exemplo, Perl *et al.* (2017), encontraram evidências de infecção causada pelo fungo quitrídeo em uma espécie de anuro

(*Latonia nigriventer*) recentemente redescoberta, e destacam, que não há sinais negativos do impacto da quitridiomycose nestes animais, o qual possivelmente, seja devido aos efeitos positivos dos peptídeos antimicrobianos. Sabe-se também que isolados bacterianos, presentes na região cutânea de salamandras são capazes de secretar compostos ativos contra o fungo *Bd* e ascomycetes (HARRIS *et al.*, 2006).

Algumas espécies de anfíbios expostas ao quitrídio podem desenvolver resistência a este fungo patogênico. Pelo menos, 10 gêneros de bactérias são capazes de inibir o crescimento de *Bd in vitro* e são eficazes contra outros fungos (COLOMBO *et al.*, 2015). Este microbioma, muitas vezes possui bactérias simbióticas que se mantem na presença de peptídeos antimicrobianos, inibindo a colonização de patógenos e a infecções de pele nestes animais (WOODHAMS *et al.*, 2007a; PIOVIA-SCOTT *et al.*, 2017).

É importante ressaltar que as populações de anfíbios que se mantem estáveis na presença desse fungo, possuem indivíduos com mais isolamentos bacterianos em sua pele, os quais produzem compostos antifúngicos, em comparação às populações de anfíbios que passaram por importantes declínios associados ao *Bd* (WOODHAMS *et al.*, 2007a; REBOLLARE *et al.*, 2016).

Em contrapartida, evidências crescentes sugerem que mudanças no uso da terra e da poluição pode influenciar a distribuição do microbioma e da quitridiomycose (MARTIN e BORUTA, 2013). A composição do poluente, a concentração e o estágio da história de vida em que o animal é exposto determinarão como os produtos químicos interagem com o microbioma e do sistema imunológico do hospedeiro (JONES *et al.*, 2017).

Por isso, torna-se crucial entender o papel das bactérias na pele dos anfíbios (COLOMBO *et al.*, 2015; REEVES *et al.*, 2017) e a ação dos estressores ambientais na infecção por *Bd*. Estas valiosas informações contribuirão com o conhecimento da dinâmica da doença no espaço e no

tempo (BATES *et al.*, 2018) e servirão como base em uma possível avaliação de risco deste grupo (COLOMBO *et al.*, 2015). Determinar os fatores ambientais que alteram o microbioma dos anfíbios irá contribuir para a formação de estratégias com o objetivo de mitigar os efeitos devastadores dessa e de outras doenças infecciosas que acometem estes animais (JIMÉNEZ e SOMMER, 2016).

Referências

- ABPA - Associação Brasileira de Proteína Animal. **Relatório anual 2021**. Disponível em: <http://abpa-br.org/wp-content/uploads/2021/04/ABPA_Relatorio_Anual_2021_web.pdf>. Acesso em: 14 mar. 2022.
- ADAMS, A. J.; PESSIER, A. P.; BRIGGS, C. J. Rapid extirpation of a North American frog coincides with an increase in fungal pathogen prevalence: Historical analysis and implications for reintroduction. **Ecology and Evolution**, v. 7, n. 23, p. 10216-10232, 2017.
- AELION, C. M. Soil contamination monitoring. In: INYANG, H. I.; DANIELS, J. L. (eds). **Environmental monitoring, Encyclopedia of life support systems (EOLSS), developed under the auspices of the UNESCO, EOLSS Publishers, Oxford**. 2004, Disponível em: <<http://www.eolss.net>>. Acesso em: 12 ago. 2021.
- ALBERT, A., DROUILLARD, K.; HAFFNER G.D.; DIXON, B. Dietary exposure to low pesticide doses causes long-term immunosuppression in the Leopard Frog (*Rana pipiens*). **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 26, p. 1179-1185, 2007.
- AL-HARBI, A. H. Faecal coliforms in pond water, sediments and hybrid tilapia *Oreochromis niloticus* x *Oreochromis aureus* in Saudi Arabia. **Aquaculture Research**, v. 34, p. 517-524, 2003.
- ALTIZER, S.; BARTEL, R.; HAN, B.A. Animal migration and infectious disease risk. **Science**, v. 331, p. 296-302, 2011.

ANDREAZZI, M. A.; DOS SANTOS, J. M. G.; LAZARETTI, R. M. J. Destinação dos resíduos da suinocultura em granjas das regiões noroeste e sudoeste do Paraná. **Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**, v.19, n. 3, p. 744-751, 2015.

ANTWIS, R. E.; PREZIOSI, R. F.; HARRISON, X. A.; AND GARNER, T. W. J. Amphibian symbiotic bacteria do not show a universal ability to inhibit growth of the global panzootic lineage of *Batrachochytrium dendrobatidis*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 81, p. 3706-3711, 2015.

ARNEBERG, P.; SKORPING, A.; GRENFELL, B.; READ, A. F. Host densities as determinants of abundance in parasite communities. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 265, p. 1283-1289, 1998.

ARRIBAS, R., DIAZ-PANIAGUA, C.; CAUT, S.; GOMEZ-MESTRE, I. Stable isotopes reveal trophic partitioning and trophic plasticity of a larval amphibian guild. **PLoS One**, v. 10, n. 6, e0130897, 2015.

ATAFAR, Z.; MESDAGHINIA, A.; NOURI, J.; HOMAEE, M., YUNESIAN, M.; AHMADIMOGHADDAM, M.; MAHVI, A. H. Effect of fertilizer application on soil heavy metal concentration. **Environmental Monitoring and Assessment**, n. 160, p. 83-89, 2010.

AZAT, C. Not just a pathogen: The importance of recognizing genetic variability to mitigate a wildlife pandemic, **Molecular Ecology Resources**, v. 21, n. 5, p. 1410-1412, 2021.

BARNOSKY, A.D.; MATZKE, N.; TOMIYA, S.; WOGAN, G. O. U.; SWARTZ, B.; QUENTAL, T.B.; *et al.* Has the Earth's sixth mass extinction already arrived? **Nature**, 471, p. 51-57, 2011.

BATES, K. A.; CLARE, F. C.; O'HANLON, S.; BOSCH, J.; BROOKES, L.; HOPKINS, K.; MCLAUGHLIN, E.; DANIEL, E.; GARNER, T.W.J.; FISHER, M.C.; HARRISON, X.A. Amphibian chytridiomycosis outbreak dynamics are linked with host skin bacterial community structure. **Nature Communications**, v. 9, p. 693, 2018.

BATTAGLIN, W.; FAIRCHILD, J. Potential toxicity of pesticides measured in midwestern streams to aquatic organisms. **Water Science Technology**, v. 45, p. 95-102, 2002.

BAUDRON, F.; GILLER, K. E. Agriculture and nature: Trouble and strife? **Biological Conservation**, v. 170, p. 232-245, 2014.

BECKER, C. G.; FONSECA, C.B.; HADDAD, C.F.B.; BATISTA, R.F.; PRADO, P.I. Habitat Split and Global Decline of Amphibians. **Science**, v. 318, p.1775-1777, 2007.

BELDEN, J.; MCMURRY, S.; SMITH L.; AND REILLEY P. Acute toxicity of fungicide formulations to amphibians at environmentally relevant concentrations. **Environmental Toxicology and Chemistry**, n. 29, p. 2477-2480, 2010.

BENTON, T. G.; VICKERY, J. A.; WILSON J. D. Farmland biodiversity, is habitat heterogeneity the key? **Trends Ecology Evolution**, n. 18, p. 182-188, 2003.

BERGER, L.; SPEARE, R.; DASZAK, P.; GREEN, D. E.; CUNINGHAM, A. A.; GOGGIN, C. L.; SLOCOMBE, R.; RAGAN, M. A.; HYATT, A. D.; MCDONALD, K. R.; HINES, H. B.; LIPS, K. R.; MARANTELLI, G.; PARKES, H. Chytridiomycosis causes amphibian mortality associated with population declines in the rain forest of Australia and Central America. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 95, p. 9031-9036, 1998.

BERGER, L.; MARANTELLI, G.; SKERRATT, L.F.; SPEARE, R. Virulence of the amphibian chytrid fungus *Batrachochytrium dendrobatidis* varies with the strain. **Diseases of Aquatic Organisms**, v. 68, p. 47-50, 2005.

BERGER, L.; SPEARE, R.; PESSIER A.; VOYLES, J.; SKERRATT, L.F. Treatment of chytridiomycosis requires urgent clinical trials. **Diseases of aquatic organisms**, v. 92, p. 165, 2010.

BEST, M. L.; WELSH, H. H. Jr. The trophic role of a forest salamander: impacts on invertebrates, leaf litter retention, and the humification process. **Ecosphere**, v. 5, p. 1-19, 2014.

BERVEN, K. A. Factors affecting population fluctuations in larval and adult stages of the wood frog (*Rana sylvatica*). **Ecology**, v. 71, n. 4, p. 1599-1608, 1990.

BISHOP, C. A.; MAHONY, N. A.; STRUGER, J.; NG, P.; PETTIT, K.E., Anuran development, density and diversity in relation to agricultural activity in the Holland River watershed, Ontario, Canada (1990-1992). **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 57, p. 21-43, 1999.

BLAUSTEIN, A. R. Chicken Little or Nero's Fiddle? A perspective on declining amphibian populations. **Herpetologica**, v. 50, p. 85-97, 1994.

BLAUSTEIN, A. R., BELDEN, L. K. Amphibian defenses against ultraviolet-B radiation. **Evolute Development & Search**, v. 3, n. 5, p. 89-97, 2003.

BLAUSTEIN, A. R.; JOHNSON, P. T. J. The complexity of deformed amphibians. **Frontiers in Ecology and Evolution**, v. 1, n. 87-94, 2003.

BLAUSTEIN, A. R.; KIESECKER, J. M. Complexity in conservation: Lessons from the global decline of amphibian populations. **Ecology Letters**, v. 5, v. 597-608, 2002.

BLAUSTEIN, A. R.; ROMANSIC, J. M.; SCHEESSELE, E. A.; HAN, B. A.; PESSIER, A. P.; LONGCORE, J. E. Interspecific variation in susceptibility of frog tadpoles to the pathogenic fungus *Batrachochytrium dendrobatidis*. **Conservation Biology**, v. 19, p. 1460-1468, 2005.

BLAUSTEIN, A. R.; HAN, B. A.; RELYEA, R. A.; JOHNSON, P. T.; 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 Sciences**, v. 1223, p.108-119, 2011.

BLETZ, M. C.; ARCHER, H.; HARRIS, R. N.; MCKENZIE, V. J.; RABEMANANJARA, F. C. E.; RAKOTOARISON, A.; *et al.* Host ecology rather than host phylogeny drives amphibian skin microbial community structure in the biodiversity hotspot of Madagascar. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, p.530, 2017.

BOLLINGER, T. K.; MAO, J.; SCHOCK, D.; BRIGHAM, R.M.; CHINCHAR, V.G. Pathology, isolation, and preliminary molecular characterization of a novel iridovirus from tiger salamanders in Saskatchewan. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 35, p. 413-429, 1999.

BOSCH, J.; CARRASCAL, J.; M., DURÁN, L.; WALKER, S.; FISHER, M. C. Climate change and outbreaks of amphibian chytridiomycosis in a montane area of Central Spain; is there a link? **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 274, p. 253-260, 2007.

BRIDGES, C. M. Effects of a pesticide on tadpole activity and predator avoidance behavior. **Journal of Herpetology**, v. 33, v. 303-306, 1999.

BRIGGS, C. J.; KNAPP, R. A.; VREDENBURG, V. T. Enzootic and epizootic dynamics of the chytrid fungal pathogen of amphibians. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 107, n. 9695-9700, 2010.

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**, v. 26, p. 80-84, 2007.

BROOKSHIRE, E. N. J.; VALETT, H. M.; THOMAS, S. A.; WEBSTER, J. R. Coupled cycling of dissolved organic nitrogen and carbon in a forested stream. **Ecology**, v. 86, n. 9, p. 2487-2496, 2005.

BROWN, K. S.; BROWN, G. G. Habitat alteration and species loss in Brazilian forests. In: WHITMORE, T.C.; SAYER, J.A. (ed.). **Tropical Deforestation and Species Extinction**. London: Chapman and Hall, p.119-142, 1992.

BROWN, S. B.; IKENBERRY, C.D.; SOUPIR, M.L.; BISINGER, J.; RUSSELL, J.R. (Predicting Time Cattle Spend in Streams to Quantify Direct Deposition of Manure for TMDL Development. **Applied Engineering in Agriculture**, 30, 187-195, 2014.

BRUCKER, R. M.; BAYLOR, C. M.; WALTERS, R. L.; LAUER, A.; HARRIS, R. N.; MINBIOLE, K. P. C. The identification of 2,4-diacetylphloroglucinol as an antifungal metabolite produced by cutaneous bacteria of the salamander *Plethodon cinereus*. **Journal of Chemical Ecology**, v. 34, p. 39-43, 2008.

BRÜHL, C. A.; SCHMIDT T.; PIEPER, S.; ALSCHER, A. Terrestrial pesticide exposure of amphibians: an underestimated cause of global decline? **Scientific Reports**, v. 3, n. 1135, 2013.

BRUNNER, J. L.; SCHOCK, D. M.; COLLINS, J. P. Transmission dynamics of the amphibian ranavirus *Ambystoma tigrinum* virus. **Diseases of Aquatic Organisms**, v. 77, 87-95, 2007.

BUCK, J. C.; SCHEESSELE, E. A.; RELYEA, R. A.; BLAUSTEIN, A. R. The effects of multiple stressors on wetland communities: pesticides, pathogens and competing amphibians. **Freshwater Biology**, v. 57, p. 61-73, 2012.

BUFFIE, C. G.; PAMER, E. G. Microbiota-mediated colonization resistance against intestinal pathogens. **Nature Reviews Immunology**, v. 13, p. 790-801, 2013.

BURNE, M. R.; GRIFFIN, C.R. Habitat associations of pool-breeding amphibians in eastern Massachusetts, USA. **Wetlands Ecology and Management**, v. 13, p. 247-259, 2005.

BYRNE, A. Q.; VREDENBURG, V. T.; MARTEL, A. N.; PASMANS, F.; BELL, R. C.; BLACKBURN, D. C.; BLETZ, M. C.; BOSCH, J.; BRIGGS, C. J.; BROWN, R. M.; *et al.* Cryptic

diversity of a widespread global pathogen reveals expanded threats to amphibian conservation. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, 116, 20382-20387, 2019.

SALLA, R. F.; JONES-COSTA, M.; ABDALLA, F. C.; VIDAL, F. A. P.; BOEING, G. A. N. S.; OLIVEIRA, C. R.; SILVA-ZACARIN, E. C. M.; FRANCO-BELUSSI, L.; RIZZI-POSSIGNOLO, G. M.; LAMBERTINI, C.; TOLEDO, L. F. Differential liver histopathological responses to amphibian chytrid infection. **Diseases of Aquatic Organisms**, v. 142, p. 177-187, 2020.

SEGALLA, M. V.; BERNECK, B.; CANEDO, C.; CARAMASCHI, U.; CRUZ, C. A. G.; GARCIA, P. C. A.; GRANT, T.; HADDAD, C. F. B.; LOURENÇO, A. C. C.; MÂNGIA, S.; MOTT, T.; WERNECK, F. P.; NASCIMENTO, L. B.; TOLEDO, L. F.; LANGONE, J. A. List of Brazilian amphibians. **Herpetologia Brasileira**, n. 10, n. 1, p. 121-216, 2021.

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

CAMARGO, J. A.; ALONSO, A.; SALAMANCA, A. Nitrate toxicity to aquatic animals: a review with new data for freshwater invertebrates. **Chemosphere**, v. 58, p. 1255-1267, 2005.

CAMPBELL, C. R.; VOYLES, J.; COOK, D. I.; DINUDOM, A. Frog skin epithelium: electrolyte transport and chytridiomycosis. **International. Jornal Of Cell Biology**, v. 44, p. 431-434, 2012.

CAMPOS, F. S.; LOURENÇO-DE-MORAES, R.; LLORENTE, G. A. SOLÉ, M. Cost-effective conservation of amphibian ecology and evolution. **Science Advances**, v. 3, n. 6, e1602929, 2017.

CAPOANE, V.; TIECHER, T.; SCHAEFER, G. L.; SANTOS, D. R. D. Impactos da suinocultura na qualidade da água da bacia hidrográfica do Arroio Caldeirão, Palmitinho, Rio Grande do Sul. **Brazilian Geographical Journal: geosciences and humanities research medium**, v. 5, p. 494-509, 2014.

CARR, J. A.; PATIÑO, R. The hypothalamus-pituitary-thyroid axis in teleosts and amphibians: endocrine disruption and its consequences to natural populations. **General and Comparative Endocrinology**, v. 170, n. 299-312, 2011.

CASHINS, S. D., GROGAN, L. F., MCFADDEN, M., HUNTER, D., HARLOW, P. S., BERGER, L.; *et al.* Prior infection does not improve survival against the amphibian disease Chytridiomycosis. **PLoS ONE**, v. 8, p. e56747, 2013.

CASTELLANI, D.; ABIMORAD, E. G. **Sistemas integrados em aquicultura**. Pesquisa e Tecnologia. São Paulo, 2012.

CAVALETT, O. **Análise emergética da piscicultura integrada à criação de suínos e de pesque pagues**. 2004, 156 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos). Universidade Estadual de Campinas. Campinas, 2004.

CEBALLOS, G.; EHRLICH, P. R.; BARNOKSY, A. D.; GARCIA, A.; PRINGLE, R.; PALMER, T. Accelerated modern human-induced species losses: Entering the sixth mass extinction. **Science Advances**, v. 1, p. 5, 2015.

CHENG, T. L., ROVITO, S. M., WAKE, D. B., AND VREDENBURG, V. T. Coincident mass extirpation of neotropical amphibians with the emergence of the infectious fungal pathogen *Batrachochytrium dendrobatidis*. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 108, p. 9502-9507, 2011.

CHINCHAR, V. G. Ranaviruses (family Iridoviridae): Emerging cold-blooded killers. **Archives of Virology**, v. 147, p. 447-470, 2002.

CHINCHAR, V. G.; HYATT, A.; MIYAZAKI, T.; WILLIAMS, T. **Family iridoviridae: Poor viral relations no longer**. In: Lesser Known Large dsDNA Viruses; Van Etten, J.L., Ed.; Springer: Berlin/Heidelberg, Germany, 2009; pp. 123-170.

CHRISTIN, M. S.; MÉNARD, 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, p. 33-43, 2004.

CLARE, F. C.; HALDER, J. B.; DANIEL, O.; BIELBY, J., SEMENOV, M. A.; JOMBART, T.; *et al.* Climate forcing of an emerging pathogenic fungus across a montane multi-host community. **Philosophical Transactions of the Royal Society B**, v. 371, p. 20150454, 2016.

CLEMENTS, W. H.; ROHR, J. R. Community responses to contaminants: using basic ecological principles to predict ecotoxicological effects. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 28, p.1789-1800, 2009.

COHEN, J. M.; CIVITELLO, D. J.; VENESKY, M. D.; MCMAHON, T. A.; ROHR, J. R. An interaction between climate change and infectious disease drove widespread amphibian declines. **Global Change Biology**, v. 25, p. 927-937, 2018.

COHEN, J. M.; MCMAHON, T. A.; RAMSAY, C.; ROZNIK, E. A.; SAUER, E. L.; BESSLER, S.; *et al.* Impacts of thermal mismatches on chytrid fungus *Batrachochytrium dendrobatidis* prevalence are moderated by life stage, body size, elevation and latitude. **Ecology Letters**, v. 22, p. 817-825, 2019.

COLLINS, J. P.; STORFER, A. Global amphibian declines: sorting the hypotheses. **Diversity and Distributions**, v. 9, p. 89-98, 2003.

COLOMBO, B. M.; SCALVENZI, T.; BENLAMARA, S.; POLLET, N. Microbiota and mucosal immunity in amphibians. **Frontiers in Immunology**, v. 6, p.111, 2015.

CORRÊA, R. M.; NASCIMENTO, C. W. A.; ROCHA, A. T. Adsorção de fósforo em dez solos do Estado de Pernambuco e suas relações com parâmetros físicos e químicos. **Acta Scientiarum Agronomy**, v. 33, p. 153-159, 2011.

COWMAN, D. F.; MAZANTI, L. E. Ecotoxicology of “new generation” pesticides to amphibians. In: SPARLING, D. W.; LINDER, G.; BISHOP, C. A., eds. **Ecotoxicology of amphibians and reptiles. Society of Environmental Toxicology and Chemistry (SETAC)**, Pensacola, FL, p 233-268, 2000.

CROWL, T. A.; CRIST, T. O.; PARMENTER, R. R.; BELOVSKY, G.; LUGO, A. E. The spread of invasive species and infectious disease as drivers of ecosystem change. **Frontiers Ecology Environment**, v. 6, p. 238-246, 2008.

CRUZ-ELIZALDE, R.; BERRIOZABAL-ISLAS, C.; HERNANDEZ-SALINAS, U. Amphibian species richness and diversity in a modified tropical environment of central Mexico. **Tropical Ecology**, v. 57, p. 407-417, 2016.

CUNNINGHAM, A. A.; LANGTON, T. E.; BENNET, P. M.; LEWIN, J. F.; DRURY, S. N.; GOUGH, R. E.; MACGREGOR, S. K. Pathological and microbiological findings from incidents of unusual mortality of the common frog *Rana temporaria*. **Philosophical Transactions of the Royal Society B**, v. 351, 1539-1557, 1996.

CUSHMAN, S. A. Effects of habitat loss and fragmentation on amphibians: a review and prospectus. **Biological Conservation**, v. 128, p. 231-240, 2006.

DASKIN, J. H.; BELL, S. C.; SCHWARZKOPF, L.; ALFORD, R. A. Cool temperatures reduce antifungal activity of symbiotic bacteria of threatened amphibians—implications for disease management and patterns of decline. **PLoS ONE**, v. 9, p. e100378, 2014.

DASZAK, P.; BERGER, L.; CUNNINGHAM, A. A.; HYATT, A. D.; GREEN, D. E.; SPEARE, R. Emerging infectious diseases and amphibian population declines. **Emerging Infectious Diseases**, v. 5, p. 735-748, 1999.

DASZAK, P.; CUNNINGHAM, A. A.; HYATT, A. D. Emerging infectious diseases of wildlife—threats to biodiversity and human health. **Science** 287:443-449, 2000.

DASZAK, P.; STRIEBY, A.; CUNNINGHAM, A. A.; LONGCORE, J. E.; BROWN, C. C.; PORTER, D. Experimental evidence that the bullfrog (*Rana catesbeiana*) is a potential carrier of chytridiomycosis, an emerging fungal disease of amphibians. **Journal of Herpetology**, v.14, p. 201-207, 2004.

DAVIC, R. D.; WELSH, H. H. On the ecological roles of salamanders. **Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics**, v. 35, 405-434, 2004.

DHAWAN, A.; KAUR, S. Effect of pig dung on water quality and polyculture of carp species during winter and summer. **Aquaculture International**, v. 10, p. 297-307, 2002.

DOCHERTY, D. E.; METEYER, C. U.; WANG, J.; MAO, J.; CASE, S.T.; CHINCHAR, V. G. Diagnostic and molecular evaluation of three iridovirus-associated salamander mortality events. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 39, n. 556-566, 2003.

DONALD, P. F. Biodiversity impacts of some agricultural commodity production systems. **Conservation Biology**, v. 18, p. 17-38, 2004.

DUELLMAN, W. E.; TRUEB, L. **Biology of Amphibians**. Baltimore and London. The Johns Hopkins University Press. p. 670, 1994.

DUTILLEUL, P.; LEGENDRE, P. Spatial heterogeneity against heteroscedasticity: an ecological paradigm versus a statistical concept. **Oikos**, v. 66, v. 152-171, 1993.

FASOLA, E.; RIBEIRO, R.; LOPES, I. Microevolution due to pollution in amphibians: a review on the genetic erosion hypothesis. **Environmental Pollution**, v.204, p. 181-190, 2015.

EDWARDS, P. Pigs over Fish- Ponds. **Pig International**, v. 15, p. 8-10, 1985.

EGEA-SERRANO, A.; RELYEA, R. A.; TEJEDO, M.; TORRALVA, M. Understanding of the impact of chemicals on amphibians: a meta-analytic review. **Ecology and Evolution**, v. 2, p. 1382-1397, 2012.

ELSAIDY, N.; ABOUELENIEN, F. G.; KIRRELLA, A. K. Impact of using raw or fermented manure as fish feed on microbial quality of water and fish. **Egyptian Journal of Aquatic Research**, v. 41, p. 93–100, 2015.

EPA - Environmental Protection Agency) **What is a pesticide?** 2009. Disponível em: <<http://www.epa.gov/pesticides/about/intheworks/volatilization.Htm>>. Acesso em: 20 mar. 2020.

ESKEW, E. A.; WORTH, S. J.; FOLEY, J. E.; TODD, B. D. American bullfrogs (*Lithobates catesbeianus*) resist infection by multiple isolates of *Batrachochytrium dendrobatidis*, including one implicated in wild mass mortality. **EcoHealth**, v. 12, p. 513-518, 2015.

EZEAFURUKWE, C. F.; OSUAGWU, L. E.; AHAOTU, E. O. Effect of Artificial Feed and Fertilization of Ponds on Growth and Body Composition of Genetically Improved Farmed Tilapia. **International Journal of Agriculture and Bioscience**, v. 2, p. 160-163, 2013.

FAHRIG, L.; BAUDRY, J.; BROTONS, L.; BUREL F. G.; CRIST, T. O.; *et al.* Functional landscape heterogeneity and animal biodiversity in agricultural landscapes. **Ecology Letters**, v. 14, p. 101-112, 2011.

FARIA, L. J. da SILVA. **Avaliação de diferentes solventes na extração em fase sólida de pesticidas em água: desenvolvimento e validação de metodologia.** 2004, 79 p. Dissertação (Mestrado em Química). Instituto de Química. Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP, Campinas, 2004.

FARRER, R. A., L. A.; WEINERT, BIELBY, J.; GARNER, T. W. J.; BALLOUX, F.; CLARE F.; BOSCH, J.; CUNNINGHAM A. A.; WELDON, C.; DU PREEZ, L. H.; ANDERSON, L.; POND,

S. L. K.; SHAHAR-GOLAN, R.; HENK, D. A.; FISHER M. C. Multiple emergences of genetically diverse amphibian-infecting chytrids 328 include a globalized hypervirulent recombinant lineage. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 108, p. 18732-18736, 2011.

FDA - US Food and Drug Administration. **Guidance for Industry: Guide to Minimize Microbial Food Safety Hazards for Fresh Fruits and Vegetables**. 1998.

FICETOLA, G. F.; MAIORANO, L. Contrasting effects of temperature and precipitation change on amphibian phenology, abundance and performance. **Oecologia**, v. 181, n. 3, 683-693, 2016.

FIGUEIREDO, G. T.; STORTI, L. F.; LOURENÇO-DE-MORAES, R.; SHIBATTA, O. A.; ANJOS, L. dos. Influence of microhabitat on the richness of anuran species: a case study of different landscapes in the Atlantic Forest of southern Brazil. **Anais da academia brasileira de ciências**, v. 91, p. e20171023, 2019.

FISCHBACH, M. A.; SEGRE, J. A. Signaling in host-associated microbial communities. **Cell**, v. 164, p.1288-1300, 2016.

FISHER, M. C.; BOSCH, J.; YIN, Z.; STEAD, D. A.; WALKER, J.; SELWAY, L.; BROWN, A. J. P.; WALKER, L.A.; GOW, N. A. R.; STAJICH, J. E.; *et al.* Proteomic and phenotypic profiling of the amphibian pathogen *Batrachochytrium dendrobatidis* shows that genotype is linked to virulence. **Molecular Ecology**. 18, 415-429, 2009.

FITES, S. J.; REINERT, L. K.; CHAPPELL, T. M.; ROLLINS-SMITH, L. A. Inhibition of local immune responses by the frog-killing fungus *Batrachochytrium dendrobatidis*. **Infection and Immunity**, v. 82, p. 4698-4706, 2014.

FOLEY, J. A.; RAMANKUTTY, N.; BRAUMAN, K. A. CASSIDYGERBER, E.; JOHNSTON, M.; MUELLER, N. D.; O'CONNELL, C.; RAY, D. K.; WEST, P. C.; BALZER, C.; *et al.* Solutions for a cultivated planet. **Nature**, v. 478, p. 337- 342, 2011.

FRANKLIN, A. B.; NOON, B. R.; GEORGE, T. L. What is Habitat Fragmentation? **Studies in Avian Biology**, n. 25, p. 20-29, 2002.

FRATERRIGO, J. M.; PEARSON; S. M.; TURNER, M. G. Joint effects of habitat configuration and temporal stochasticity on population dynamics. **Landscape Ecology**, v. 24, p. 863-877, 2009.

GAGNÉ, S. A.; FAHRIG, L. Effect of landscape context on anuran communities in breeding ponds in the National Capital Region, Canada. **Landscape Ecology**, v. 22, p. 205- 215, 2007.

GALLOWAY, J. N., ABER, J. D.; ERISMAN, J. W.; SEITZINGER, S. P.; HOWARTH, R. W.; COWLING, E. B.; COSBY, B. J. The nitrogen cascade. **Bioscience**, v. 53, p.341-356, 2003.

GARMYN, A.; VAN ROOIJ, P.; PASMANS, F.; HELLEBUYCK, T.; VAN DEN BROECK, W.; HAESEBROUCK, F.; *et al.* Waterfowl: potential environmental reservoirs of the chytrid fungus *Batrachochytrium dendrobatidis*. **PLoS ONE** v. 7, e35038, 2012.

GARNER, T. W.; PERKINS, M. W.; GOVINDARAJULU, P.; SEGLIE, D.; WALKER, S.; CUNNINGHAM, A. A.; FISHER, M. C. The emerging amphibian pathogen *Batrachochytrium dendrobatidis* globally infects introduced populations of the North American bullfrog, *Rana catesbeiana*. **Biology Letters**, v. 22, n.2, v. 3, p.455-9, 2006.

GARNER, T. W. J.; WALKER, S.; BOSCH, J.; LEECH, S.; ROWCLIFFE, M.; CUNNINGHAM, A. A.; *et al.* Life history tradeoffs influence mortality associated with the amphibian pathogen *Batrachochytrium dendrobatidis*. **Oikos** v. 118, n. 783-791, 2009.

GARNER, T. W.; SCHMIDT, B.R.; MARTEL, A.; PASMANS, F.; MUTHS, E.; CUNNINGHAM, A.A.; WELDON, C.; FISHER, M.C.; BOSCH, J. Mitigating amphibian chytridiomycoses in nature. **Philosophical Transactions of the Royal Society B**, v. 371, p. 20160207, 2016.

GASTÓN, A.; BLÁZQUEZ-CABRERA, S.; GARROTE, G.; MATEO-SÁNCHEZ, M. C.; BEIER, P.; SIMÓN, M. A.; SAURA, S. Response to agriculture by a woodland species depends on cover type and behavioural state: Insights from resident and dispersing iberian lynx. **Journal of Applied Ecology**, v. 53, p. 814. 2016.

GENSOLEN, T.; IYER, S. S.; KASPER, D. L.; BLUMBERG, R. S. How colonization by microbiota in early life shapes the immune system. **Science**, v. 352, p. 539-544, 2016.

GIBBONS, J. W.; TSALIAGOS, R. N.; HARPER, S. J.; *et al.* Remarkable Amphibian Biomass and Abundance in an Isolated Wetland: Implications for Wetland Conservation. **Conservation Biology**, v. 20, n. 5, p. 1457-1465, 2006.

GIEHL, A. L.; MONDARDO, M. **Produção de suínos em Santa Catarina: uma análise da regionalização dos abates (2013/2018)**. In: XIII Encontro de Economia Catarinense, 2019, Criciúma. Anais do XIII Encontro de Economia Catarinense. Florianópolis: APEC, 2019.

GILLESPIE, T. R.; CHAPMAN, C. A.; GREINER, E. C.; Effects of logging on gastrointestinal parasite infections and infection risk in African primates. **Journal of Applied Ecology**, v. 42, n.394, p. 699-707, 2005.

GILLIOM, R. J.; BARBASH, J. E.; CRAWFORD, C. G.; HAMILTON, P. A.; MARTIN J. D.; NAKAGAKI, N.; NOWELL, L. H.; SCOTT, J. C.; STACKELBERG, P. E.; THELIN, G. P.; *et al.* Pesticides in the nation's streams and ground water, 1992-2001. U.S. **Geological Survey Circular**, v. 1291, n. 15, 2007.

GONÇALVES, D. S.; CRIVELLARI, L. B.; CONTE, C. E. Linking environmental drivers with amphibian species diversity in ponds from subtropical grasslands. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 87, p. 1751-1762, 2015.

GONÇALVES JUNIOR, A. C.; LINDINO, C. A.; ROSA, M. F.; BARICCATTI, R.; GOMES, G. D. Remoção de metais pesados tóxicos Cádmiu, Chumbo e Cromo em biofertilizante suíno

utilizando macrófita aquática (*Eichornia crassipes*) como bioindicador. **Acta Scientiarum Technology**, v. 30, n. 1, p. 9-14, 2008.

GOWER, D. J. DOHERTY-BONE, T.; LOADER, S.P.; WILKINSON, M.; KOUETE, M. T.; TAPLEY, B.; ORTON, F.; DANIEL, O. Z.; WYNNE, F.; FLACH, E.; MÜLLER, H.; MENEGON, M.; STEPHEN, I.; BROWNE, R. K.; FISHER, M. C.; CUNNINGHAM, A. A.; GARNER, T. W. *Batrachochytrium dendrobatidis* infection and lethal chytridiomycosis in caecilian amphibians (Gymnophiona). **EcoHealth**, v. 10, n. 2, p. 173-183, 2013.

GHOSH, P. N.; VERSTER, R.; SEWELL, T. R.; O'HANLON, S. J.; BROOKES, L. M.; RIEUX, A.; FISHER, M. C. Discriminating lineages of *Batrachochytrium dendrobatidis* using quantitative PCR. **Molecular Ecology Resources**, 2021.

GRANT, E. H. C.; MILLER, D. A.; SCHMIDT, B. R.; ADAMS, M. J.; AMBURGEY, S. M.; CHAMBERT, T.; CRUICKSHANK, S. S.; FISHER, R. N.; GREEN, D. M.; HOSSACK, B.R.; *et al.* Quantitative evidence for the effects of multiple drivers on continental-scale amphibian declines. **Scientific Reports**, v. 6. 2016.

GRANT, E. H. C.; MILLER, D. A.; MUTHS, E. A Synthesis of evidence of drivers of amphibian declines. **Herpetologica**, v. 76, p. 101-107, 2020.

GREENSPAN, S. E.; CALHOUN, A. J. K.; LONGCORE, J. E.; LEVY, M. G. Transmission of *Batrachochytrium dendrobatidis* to wood frogs (*Lithobates sylvaticus*) via a bullfrog (*L. catesbeianus*) vector. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 48, p. 575-582, 2012.

GREENSPAN, S. E.; LAMBERTINI, C.; CARVALHO, T.; JAMES, T. Y.; TOLEDO, L. F.; HADDAD, C. F. B.; BECKER, C. G. Hybrids of amphibian chytrid show high virulence in native hosts. **Scientific Reports**, v. 8, p. 9600, 2018.

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

HADDAD, C. F. B.; PRADO, C. P. A. Reproductive modes of the Atlantic Forest frogs. **BioScience**, v. 55, n. 3, p. 208-217, 2005.

HAMER, A. J.; PARRIS, K. M. Local and landscape determinants of amphibian communities in urban ponds. **Ecological Applications**, v. 21, p. 378-390, 2011.

HANLON, S. M.; KERBY, J. L.; PARRIS, M. J. Unlikely remedy: Fungicide clears infection from pathogenic fungus in larval Southern Leopard Frogs (*Lithobates sphenoccephalus*). **PLoS ONE**, v. 7, p. 1-8, 2012.

HANLON, S. M.; LYNCH, K. J., KERBY, J.; PARRIS, M. J. *Batrachochytrium dendrobatidis* exposure effects on foraging efficiencies and body size in anuran tadpoles. **Diseases of Aquatic Organisms**, v. 112, p. 237-242, 2015.

HANSELMANN, R.; RODRIGUEZ, A.; LAMPO, M.; FAJARDORAMOS, L.; AGUIRRE, A. A.; KILPATRICK, A. M.; RODRIGUEZ, J. P.; DASZAK, P. Presence of an emerging pathogen of amphibians in introduced bullfrogs *Rana catesbeiana* in Venezuela. **Biological Conservation**, v.120, p. 115-119, 2004.

HARRIS, R. N.; JAMES, T. Y.; LAUER, A.; SIMON, M. A.; PATEL, A. Amphibian pathogen *Batrachochytrium dendrobatidis* is inhibited by the cutaneous bacteria of amphibian species. **EcoHealth**, v. 3, p. 53-56, 2006.

HARRIS, R. N.; LAUER, A.; SIMON, M. A.; BANNING, J. L.; ALFORD, R. A. Addition of antifungal skin bacteria to salamanders ameliorates the effects of chytridiomycosis. **Diseases of Aquatic Organisms**, v. 83, p. 11-16, 2009a.

HARRIS, R. N.; BRUCKER, R. M.; WALKE, J. B.; BECKER, M. H.; SCHWANTES, C. R.; FLAHERTY, D. C.; *et al.* Skin microbes on frogs prevent morbidity and mortality caused by a lethal skin fungus. **The ISME Journal**, v. 3, p. 818-824, 2009b.

HAYES, T. B.; CASE, P.; CHUI, S.; CHUNG, D.; HAEFFELE, C.; HASTON, K.; LEE, M.; MAI, V.P.; MARJUA, 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.

HERRERO, M.; THORNTON, P. K. Livestock and global change: Emerging issues for sustainable food systems. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 110, p. 20878-20881, 2013.

HETTYEY, A.; ÜVEGES, B.; MORICZ, A.; DRAHOS, L.; CAPON, R.; VAN BUSKIRK, J.; TOTH, Z.; BOKONY, V. Predator-induced changes in the chemical defence of a vertebrate. **Journal of Animal Ecology**. v. 88, 1925e1935, 2019.

HOFFMANN, M.; HILTON-TAYLOR, C.; ANGULO, A.; BOHM, M.; BROOKS, T. M.; BUTCHART, S. H. M.; CARPENTER, K. E.; CHANSON, J.; COLLEN, B.; COX, N. A.; *et al.* The impact of conservation on the status of the world's vertebrates. **Science**, v. 330, p. 1503-1509, 2010.

HOOPER, L. V.; LITTMAN, D. R.; MACPHERSON, A. J. Interactions between the microbiota and the immune system. **Science**, v. 336, p. 1268-1273, 2012.

HOPKINS, K. D.; CRUZ, E. M. **The ICLARM-CLSU Integrated Animal-Fish Farming Project: Final Report**. ICLARM Technical Reports 5, International Center for Living Aquatic Resources Management, Makati. 1982.

HOPKINS, W.A.; DURANT, S.; ESTAUB, B.P.; ROWE, C.L.; JACKSON B.P. Reproduction, embryonic development, and maternal transfer of contaminants in the amphibian *Gastrophryne carolinensis*. **Environmental Health Perspectives**, v. 114, p. 661-666, 2006.

HORWITZ P.; WILCOX, B. A. Parasites, ecosystems and sustainability: an ecological and complex systems perspective. **International Journal for Parasitology**, v. 35, p. 725-732, 2005.

HUMENIK, F. J.; SMOLEN, M. D.; DRESSING, S. A. ES&T feature: pollution from nonpoint sources. **Environmental Science & Technology** 21, 737-742, 1987.

HUSE, S. M.; WELCH, D. M.; MORRISON, H. G.; SOGIN, M. L. Ironing out the wrinkles in the rare biosphere through improved OTU clustering. **Environmental Microbiology**, v. 12, n. 7, p.1889-1898, 2010.

HUTCHINGS, M. J.; JOHN, E.A.; STEWART, A. J. A. **The Ecological Consequences of Environmental Heterogeneity**. Blackwell Science, Oxford, UK. Eds. 2000.

HUTCHINGS, M. J.; JOHN, E. A.; WIJESINGHE, D. K. Toward understanding the consequences of soil heterogeneity for plant populations and community. **Ecology**, v. 84, p. 2322-2334, 2003

IBGE - **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**. Censo agropecuário 2016 - resultados preliminares. 2016. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br>>. Acesso em: 19 fev. 2020.

INGER, R.; COLWELL, R. K. Organization of contiguous communities of amphibians and reptiles in Thailand. **Ecological Monographs**, v. 47, p. 229-253, 1977.

IUNC - **The IUCN Red List of Threatened Species**. Disponível em: <<http://www.iucnredlist.org/initiatives/amphibians/analysis>>. Acesso em: 10 jun. 2021.

JAMES, T. Y.; VILGALYS, R. Amphibian chytridiomycosis as an emerging infectious disease of wildlife: what can we learn from the earliest diverging fungi? In: HEITMAN, J.; *et al.*, [eds.]. **Molecular Principles of Fungal Pathogenesis**. ASM Press, Washington, D. C. p. 271-278, 2006.

JAMES, T. Y.; TOLEDO, L. F.; RÖDDER, D.; DA SILVA LEITE, D.; BELASEN, A. M.; BETANCOURT-ROMÁN, C. M.; *et al.* Disentangling host, pathogen, and environmental determinants of a recently emerged wildlife disease: lessons from the first 15 years of amphibian chytridiomycosis research. **Ecology and Evolution**, v. 5, 4079-4097, 2015.

JIMÉNEZ R. R.; SOMMER S. The amphibian microbiome: natural range of variation, pathogenic dysbiosis, and role in conservation. **Biodiversity And Conservation**, v. 26, p. 763-786, 2016.

JANI, A. J.; BRIGGS, C. J. The pathogen *Batrachochytrium dendrobatidis* disturbs the frog skin microbiome during a natural epidemic and experimental infection. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 111, p. E5049-E5058, 2014.

JENKINS, B.; JONES, D.; TURN, S.; WILLIAMS, R. Emission factors for polycyclic hydrocarbons from biomass burning. **Environmental Science & Technology**, v. 30, p. 2462-2469, 1996.

JENKINSON, T. S.; BETANCOURT ROMAN, C.M.; LAMBERTINI, C.; *et al.* Amphibian-killing chytrid in Brazil comprises both locally endemic and globally expanding populations. **Molecular Ecology**, v. 25, p. 2978-2996, 2016.

JOHNSON, P. T. J.; LUNDE, K. B.; THURMAN, E. M.; RITCHIE, E. G.; WRAY, S. N.; SUTHERLAND, D. R.; KAPFER, J. M.; FREST, T. J.; BOWERMAN, J.; BLAUSTEIN, A. R. Parasite (*Ribeiroia ondatrae*) infection linked to amphibian malformations in the Western United States. **Ecological Monographs**, v. 72, p. 151-168, 2002.

JONES, D. K., DANG, T. D.; URBINA, J.; BENDIS, R. J.; BUCK, J. C.; COTHRAN, R. D.; BLAUSTEIN, A. R.; RELYEA, R. A. Effect of simultaneous amphibian exposure to pesticides and

an emerging fungal pathogen, *Batrachochytrium dendrobatidis*. **Environmental Science & Technology**, v. 51, p. 671-679, 2017.

KOLASA, J.; ROLLO, C. D. **Introduction: the heterogeneity of heterogeneity: a glossary. Ecological Heterogeneity**. eds KOLASA, J.; PICKETT, S.T.A.), pp. 1–23. Springer-Verlag, New York, NY, USA. 1991

KAMADA, N. KIM, Y.-G.; SHAM, H. P.; VALLANCE, B. A.; PUENTE, J. L.; MARTENS, E. C.; *et al.* Regulated virulence controls the ability of a pathogen to compete with the gut microbiota. **Science**, v. 336, p. 1325-1329, 2012.

KARRAKER, N. E.; GIBBS, J. P.; VONESH J. R. Impacts of road deicing salt on the demography of vernal pool-breeding amphibians. **Ecological Applications**, 18:724-734, 2008.

KÄRVEMO; S.; MEURLING, S.; BERGER, D.; HÖGLUND, J.; LAURILA A. Effects of host species and environmental factors on the prevalence of *Batrachochytrium dendrobatidis* in northern Europe. **PloS One**, v. 13, p. e0199852, 2018.

KELLER, A.; RÖDEL, M. O.; LINSENMAIR, K. E.; GRAFE, T. U. The importance of environmental heterogeneity for species diversity and assemblages' structure in bornean stream frogs. **Journal of Animal Ecology**, v. 78, p. 305-314, 2009.

KERBY, J. L.; RICHARDS-HRDLICKA, K. L.; STORFER, A. SKELLY, D. K. An examination of amphibian sensitivity to environmental contaminants: are amphibians poor canaries? **Ecology Letters**, v. 13, p. 60-67, 2010.

KIESECKER, J. M.; BLAUSTEIN, A. R.; BELDEN, L. K. Complex causes of amphibian population declines. **Nature**, v. 410, p. 681-684, 2001.

KIK, M.; MARTEL, A.; DER SLUIJS, A.S.; PASMANS, F.; WOHLSEIN, P.; GRÖNE, A.; RIJKS, J.M. Ranavirus-associated mass mortality in wild amphibians, The Netherlands, 2010: A first report. **The Veterinary Journal**, v. 190, p. 284-286, 2011.

KNUTSON, M. G.; SAUER, J. R.; OLSEN, D. A.; MOSSMAN, M. J.; HEMESA, T., H. L. M.; LANNOO, M. J. Effects of landscape composition and wetland fragmentation on frog and Toad abundance and species richness in Iowa and Wisconsin, USA. **Conservation Biology**, v. 13, p. 1437-1446, 1999.

KNUTSON, M. G.; RICHARDSON, W. B.; REINEKE, D. M.; GRAY, B. R.; PARMELEE, J. R.; WEICK, S. E. Agricultural ponds support amphibian populations. **Ecological Applications**, v. 14, p. 669-684, 2004.

KOLPIN, D. W.; FURLONG E. T.; MEYER, M. T.; THURMAN, E. M.; ZAUGG, S. D.; BARBER L.; B.; BUXTON H. T. Pharmaceuticals, hormones, and other organic wastewater contaminants in US streams, 1999-2000: a national reconnaissance. **Environmental Science & Technology**, v. 36, p. 1202-1211, 2002.

KONZEN, E. A.; PEREIRA FILHO, I. A.; BAHIA FILHO, A. F. C.; PEREIRA, F. A. **Manejo do esterco líquido de suínos e sua utilização na adubação do milho**. Sete Lagoas: EMBRAPA-CNPMS, 1997, 37 p.

KOUMARIS A.; FAHRIG L, Different anuran species show different relationships to agricultural intensity. **Wetlands**, v. 36, p. 731-744, 2016.

KRAPAC, I. G.; DEY, W. S.; ROY, W. R.; SMYTH, C. A.; STORMENT, E.; SARGENT, S. L. STEELE, J. D. Impacts of Swine Manure Pits on Groundwater Quality. **Environmental Pollution**, v. 120, p. 475-492, 2002.

KRIGER, K. M.; HERO, J. M. The chytrid fungus *Batrachochytrium dendrobatidis* is non-randomly distributed across amphibian breeding habitats. **Diversity and Distributions**, v. 13, p. 781-788, 2007.

KRIGER, K. M.; HERO, J. Chytridiomycosis, Amphibian Extinctions, and Lessons for the Prevention of Future Panzootics. **EcoHealth**, v. 6, p. 6-10, 2009.

KRYNAK, K. L.; BURKE, D. J.; BERNARD, M. F. Landscape and water characteristics correlate with immune defense traits across Blanchard's Cricket Frog (*Acris blanchardi*) populations. **Biological Conservation**, v. 193, p. 153-167, 2016.

KUENEMAN, J. G.; PARFREY, L. W.; WOODHAMS, D. C.; ARCHER, H. M.; KNIGHT, R., MCKENZIE, V. J. The amphibian skin-associated microbiome across species, space and life history stages. **Molecular Ecology**, v. 23, 1238-1250, 2014.

LAM, B. A.; WALKE, J. B.; VREDENBURG, V. T.; HARRIS, R. N. Proportion of individuals with anti-*Batrachochytrium dendrobatidis* skin bacteria is associated with population persistence in the frog *Rana muscosa*. **Biological Conservation**, v. 143, 529-531, 2010.

LAM, B. A.; WALTON, D. B.; AND HARRIS, R. N. Motile zoospores of *Batrachochytrium dendrobatidis* move away from antifungal metabolites produced by amphibian skin bacteria. **EcoHealth**, v. 8, p. 36-45, 2011.

LEE, W.-J.; HASE, K. Gut microbiota-generated metabolites in animal health and disease. **Nature Chemical Biology**, v. 10, p. 416-424, 2014.

LEFCORT, H.; BLAUSTEIN, A. R. Disease, predator avoidance, and vulnerability to predation in tadpoles. **Oikos**, v. 74, p. 469-474, 1995.

Li, H.; Reynolds, J.F. () On definition and quantification of heterogeneity. **Oikos**, v. 73, p. 280-284, 1995.

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, p. 615-623, 2020.

LIM, C. E.; WEBSTER, C. D.; LI, M. H. Feeding Practices. In: LIM, C.E.; WEBSTER, C.D., Eds., **Tilapia Biology, Culture, and Nutrition**, Food Products Press, New York, 547-559, 2006.

LINDER, G.; GRILLITSCH, B. Ecotoxicology of metals. In: SPARLING, D. W.; LINDER, G.; BISHOP, C. A. eds. **Ecotoxicology of amphibians and reptiles**. Society of Environmental Toxicology and Chemistry (SETAC), Pensacola, FL, pp. 325-459, 2000.

LIPS, K. R. Overview of chytrid emergence and impacts on amphibians. **Philosophical Transactions of the Royal Society B**, v. 371, p. 20150465, 2016.

LIPS, K. R. Amphibian monitoring in Latin America: a protocol manual. **Herpetological Circulars**, v.30, p.1-16, 2001.

LIPS, K. R.; DIFFENDORFER, J.; MENDELSON, J. R.; SEARS, M. W. Riding the wave: reconciling the roles of disease and climate change in amphibian declines. **PLoS Biology**, v. 6, p. 441-454, 2008.

LONGCORE, J. E.; PESSIER, A. P. *Batrachochytrium dendrobatidis* gen. et sp. nov., a chytrid pathogenic to amphibians. **Mycologia**, v.9, n.1, p.219-227, 1999.

LONGO A. V.; SAVAGE A. E.; HEWSON I.; ZAMUDIO K. R. Seasonal and ontogenetic variation of skin microbial communities and relationships to natural disease dynamics in declining amphibians. **Royal Society Open Science**, v. 2, p. 140377-140377, 2015.

LOPERA BARRERO, N. M.; RIBEIRO, R. P.; POVH, J. A.; VARGAS, L.; STREIT JR., D. PTilapicultura semi-intensiva em tanques: Alternativas de fertilizacao e producao - **Revisao**. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR**, v. 9, n. 1, p. 67-76, 2006.

LOUDON, A. H.; WOODHAMS, D. C.; PARFREY, L. W.; ARCHER, H.; KNIGHT R. MCKENZIE, V.; *et al.* Microbial community dynamics and effect of environmental microbial reservoirs on red-backed salamanders (*Plethodon cinereus*). **ISME Jornal**, v. 8, p. 830-840, 2014.

LOURENÇO-DE-MORAES, R.; MALAGOLI, L. R.; GUERRA VB, FERREIRA, R. B.; AFFONSO, I. P.; HADDAD, C. F. B.; SAWAYA, R. J.; BASTOS, R. P. Nesting patterns between Neotropical species assemblages: can reserves in urban areas be failing to protect anurans? **Urban Ecosystems**, v. 21, n. 5, p. 933-942, 2018.

LOZUPONE, C.; KNIGHT, R. UniFrac: a new phylogenetic method for comparing microbial communities. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 71, p. 8228-8235, 2005.

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, p. 2903-2927, 2009.

MARQUIS, O.; MIAUD, C.; FICETOLA, F.; BOCHER, A.; MOUCHET, F.; GUITTONNEAU, S.; DEVAUX, A. Variation in genotoxic stress tolerance among frog populations exposed to UV and pollutant gradients. **Aquatic Toxicology**, n. 95, p. 152-161, 2009.

MARTEL, A.; SPITZEN-VAN DER SLUIJS, A.; BLOOI, M.; BERT, W.; DUCATELLE, R.; FISHER, M.C.; WOELTJES, A.; BOSMAN, W.; CHIERS, K.; BOSSUYT, F.; *et al.* *Batrachochytrium salamandrivorans* sp. nov. causes lethal chytridiomycosis in amphibians. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 110, p. 15325-15329, 2013.

MARTIN, L. B.; BORUTA, M. **The impacts of urbanization on avian disease transmission and emergence. Avian Urban Ecology: Behavioral and Physiological Adaptations** (ed. by D. Gil and H. Brumm), pp. 116-128. Oxford University Press, New York. 2013.

MARTINS, L. A. P.; MILLAN, R. N.; MARTINS, E. S.; SANTIAGO, A. F. Water quality of small fish ponds associated with swine culture. **Pan-America Journal of Aquatic Sciences**, v. 13, p. 93-101, 2018.

MATTIAS, J. L. **Metais pesados em solos sob aplicação de dejetos líquidos de suínos em duas microbacias hidrográficas de Santa Catarina**. 2006. 164 p. Tese (Doutorado em Ciência do Solo) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2006.

MCCOY, K. A.; BORTNICK, L. J.; CAMPBELL, C. M.; HAMLIN, H. J.; GUILLETTE, L. J.; ST MARY, C. M. Agriculture alters gonadal form and function in the toad *Bufo marinus*. **Environmental Health Perspectives**, v. 116, p. 1526-1532, 2008.

MCCOY, K. A.; GUILLETTE, L. J. “**Endocrine disruptors,**” in **Amphibian Decline: Diseases, Parasites, Maladies, and Pollution**, eds H. F. Heatwole and J. W. Wilkinson (Baulkham Hills, NSW: Surrey Beatty and Sons), p. 3208-3238, 2009.

MCCOY, K. A.; PERALTA, A. L. Pesticides could alter amphibian skin microbiomes and the effects of *Batrachochytrium dendrobatidis*. Special Issue: Ecology of Amphibian-Microbial Symbioses. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, p. 748, 2018.

MCFALL-NGAI M.; HADFIELD, M. G.; BOSCH, T. C. G.; *et al.* Animals in a bacterial world, a new imperative for the life sciences. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 110, p.3229-3236, 2013.

MCKENNA P.; HOFFMANN, C.; MINKAH, N.; AYE, P.; LACKNER, A.; ZONGZHI L.; LOZUPONE, C.; HAMADY, M.; KNIGHT, R.; BUSHMAN F. The macaque gut microbiome in health, lentiviral infection, and chronic enterocolitis. **PLoS Pathog**, v. 4, p. e20. 2008

MCKENZIE, V. J.; BOWERS, R. M.; FIERER, N.; KNIGHT, R.; LAUBER, C.L. Co-habiting amphibian species harbor unique skin bacterial communities in wild populations. **ISME Journal**, v. 6, p. 588-96, 2012.

MCMAHON, T. A.; BRANNELLY, L. A.; CHATFIELD, M. W. H.; JOHNSON, P. T. J.; JOSEPH, M. B.; MCKENZIE, V. J.; *et al.* Chytrid fungus *Batrachochytrium dendrobatidis* has nonamphibian hosts and releases chemicals that cause pathology in absence of infection. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 110, p. 210-215, 2013.

MCMAHON, T. A.; SEARS, B. F.; VENESKY, M. D., BESSLER, S. M.; BROWN, J. M.; DEUTSCH, K.; *et al.* Amphibians acquire resistance to live and dead fungus overcoming fungal immunosuppression. **Nature**, v. 511, p. 224-227, 2014.

MCMENAMIN, S. K; HADLY, E. A.; WRIGHT, C. K. Climatic change and wetland desiccation cause amphibian decline in Yellowstone National Park. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v.105, p. 16988-16993, 2008.

MELLER, C. B. **Tecer, lançar e recolher redes de saberes ambientais de atores sociais que se envolvem com a suinocultura**. 2007, 214 f. Tese (Doutorado em Educação]. São Leopoldo: Universidade do Vale do Rio dos Sinos. 2007.

MILLER, D. L.; GRAY, M. J. Amphibian decline and mass mortality: The value of visualizing ranavirus in tissue sections. **Veterinary Journal**, 186, 133-134, 2010.

MLEJNKOVA, H.; SOVOVA, K. Impact of fish pond manuring on microbial water quality. **Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis**, v. 60, n. 117-124, 2012.

MORSE, S. S. Factors in the emergence of infectious diseases. **Emerging Infectious Diseases journal**, v. 406, n. 1, p.7-15, 2001.

MUELLER, U. G.; SACHS, J. L. Engineering microbiomes to improve plant and animal health. **Trends in Microbiology**, v. 23, p. 606-617, 2015.

NASH, C.E. **The History of Aquaculture**. Wiley Blackwell, Ames, Iowa. 2011, 227 p.

NEORI, A. “Green Water” Microalgae: The Leading Sector in Aquaculture. **Journal of Applied Phycology**, v. 23, p. 143-149, 2011.

NICHOLS, D. K.; LAMIRANDE, E. W.; PESSIER, A. P.; LONGCORE, J. E. Experimental transmission of cutaneous chytridiomycosis in dendrobatid frogs. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 37, p. 1-11, 2001.

O’HANLON, S. J.; RIEUX, A.; FARRER, R. A.; ROSA, G. M.; WALDMAN, B.; BATAILLE, A.; KOSCH, T. A.; MURRAY, K. A.; BRANKOVICS, B.; FUMAGALLI, M.; MARTIN, M. D.; *et al.* Recent Asian origin of chytrid fungi causing global amphibian declines. **Science**, v. 360, p. 621-627, 2018.

OGELLO, E. O.; MLINGI, F. T.; MUNGUTI, J. M. Can Integrated Livestock-fish Culture be a Solution to East Africa’s Food Insecurity? A Review. **African Journal of Food, Agriculture, Nutrition and Development**, v. 13, p. 8058-8076, 2013.

OLIVEIRA, P. A. V. **Manual de utilização dos dejetos de suínos**. Concórdia-SC: EMBRAPA-CNPSA. Documento n. 27, 1993, 188 p.

OLIVEIRA, P. A. V.; NUNES, M. L. A. Sustentabilidade ambiental da suinocultura. In: **Seminário Internacional sobre Produção, Mercado e Qualidade da Carne de Suínos**, 2002, Florianópolis - SC. Concórdia - SC: Embrapa Suínos e Aves, 2002, p. 63-71.

OLIVEIRA, P. A. V. de; KERMARREC, C.; ROBIN, P. Balanço de nitrogênio e fósforo em sistema de produção de suínos sobre cama de maravalha. In: **Congresso Mercosul de Produção**

Suína, 2000, Buenos Aires, Argentina. Memória... Buenos Aires, 2000. p. SP7. Parceria: INRA-França Biblioteca(s): Embrapa Suínos e Aves.

OLSON, D. H.; AANENSEN, D. M.; RONNENBERG, K. L.; POWELL, C. I.; WALKER, S.F.; BIELBY, J.; GARNER, T.W.J.; WEAVER, G.; FISHER, M.C. Mapping the global emergence of *Batrachochytrium dendrobatidis*, the amphibian chytrid fungus. **PLoS ONE**, v. 8, e56802. 2013.

OMOJOWO, F. S.; OMOJASOLA, P. F. Microbiological quality of fresh catfish raised in ponds fertilized with raw and sterilized poultry manures. **American Journal of Research Communication**, v. 1, p. 1-2, 2013.

ORTIZ, M. E.; MARCO, A.; SAIZ, M.; LIZANA, M.. Impact of ammonium nitrate on growth and survival of six European amphibians. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 47, p. 234-239, 2004.

OTTMAN, N.; SMIDT, H.; DE VOS, W. M.; BELZER, C. The function of our microbiota: who is out there and what do they do? **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 2, p. 104, 2012.

PALHARES, J. C. P.; COLDEBELLA, A. Monitoramento da qualidade da água no sistema integrado piscicultura-suinocultura em propriedades do Oeste Catarinense. **Revista Agropecuária Catarinense**, v. 25, p. 58- 62, 2012.

PARRIS, K. M. Environmental and spatial variables influence the composition of frog assemblages in subtropical eastern Australia. **Ecography**, v. 27, n. 3, p. 392-400, 2004.

PEREIRA, L. P. F.; MERCANTE, C. T. J. A amônia nos sistemas de criação de peixes e seus efeitos sobre a qualidade da água. Uma revisão. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 31, n. 1, p. 81-88, 2005.

PERL, R. G. B.; GAFNY, S.; MALKA, Y.; RENAN, S.; WOODHAMS, D. C.; ROLLINS-SMITH, L.; PASK, J. D.; BLETZ, M. C.; GEFFEN, E.; VENCES, M. Natural history and conservation of the rediscovered Hula painted frog, *Latonia nigriventer*. **Contributions to Zoology**, v. 86, p. 11-37, 2017.

PIOVIA-SCOTT, J.; REJMANEK, D.; WOODHAMS, D. C.; WORTH, S. J.; KENNY, H.; MCKENZIE, V.; *et al.* Greater species richness of bacterial skin symbionts better suppresses the amphibian fungal pathogen *Batrachochytrium dendrobatidis*. **Microbial Ecology**, v. 74, p. 217-226, 2017.

PITA, R.; MIRA, A.; MOREIRA, F.; MORGADO, R.; BEJA, P. Influence of landscape characteristics on carnivore diversity and abundance in Mediterranean farmland. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 132, p. 57-65, 2009.

POUGH, F. H. **A vida dos vertebrados**. 2. ed. São Paulo: Atheneu, 1999, 629 p.

POUNDS, J. A.; BUSTAMANTE, M. R.; COLOMA, L. A.; CONSUEGRA, J. A.; FOGDEN, M. P.; FOSTER, P. N.; LA MARCA, E.; MASTERS, K. L.; MERINO-VITERI, A.; PUSCHENDORF, R.; RON, S. R.; SÁNCHEZ-AZOFEIFA, G. A.; STILL, C. J.; YOUNG, B. E. Widespread amphibian extinctions from epidemic disease driven by global warming. **Nature**, v. 439, p. 161-167, 2006.

PREST, T. L.; KIMBALL, A. K.; KUENEMAN, J. G.; MCKENZIE, V. J. Host-associated bacterial community succession during amphibian development. **Molecular Ecology**, v. 27, p. 1992-2006, 2018.

PREUSS, J. F.; LAMBERTINI, C.; LEITE, D. da S.; TOLEDO, L. F.; LUCAS, E. M. Crossing the threshold: an amphibian assemblage highly infected with *Batrachochytrium dendrobatidis* in the southern Brazilian Atlantic Forest. **Studies on Neotropical Fauna and Environment**, v. 51, p. 1-10, 2016.

QUARANTA, A.; BELLANTUONO, V.; CASSANO, G.; LIPPE, C. Why amphibians are more sensitive than mammals to xenobiotics. **PLoS One**, v. 4, p. e7699, 2009.

QUAST, C.; PRUESSE, E.; YILMAZ, P.; GERKEN, J.; SCHWEER, T.; YARZA, P.; PEPLIES, J.; GLÖCKNER, F. O. The SILVA ribosomal RNA gene database project: Improved data processing and web-based tools. **Nucleic Acids Research**, v. 41, p. D590-D596, 2013.

RABOTYAGOV, S.; VALCU, A.; KLING, C. **Reversing the property rights: practice- based approaches for controlling agricultural non-point- source water pollution when emissions aggregate non linearly.** 2012. Disponível em: <<http://www.card.iastate.edu/publications/synopsis.aspx?id=1176>>. Acesso em: 1 fev. 2020.

RACHOWICZ, L. J.; HERO, J. M.; ALFORD, R. A.; TAYLOR, J. W.; MORGAN, J. A. T.; VREDENBURG, V. T.; *et al.* The novel and endemic pathogen hypothesis: competing explanations for the origin of emerging infectious diseases. **Conservation Biology**, v. 19, p. 1441-1448, 2005.

RAKUS, K.; RONSMANS, M.; VANDERPLASSCHEN, A. Behavioral fever in ectothermic vertebrates. **Developmental & Comparative Immunology**, 66, 84-91, 2017.

RAMSEY, J. P.; REINERT, L. K.; HARPER, L. K.; WOODHAMS, D. C.; ROLLINSSMITH, L. A. Immune defenses against *Batrachochytrium dendrobatidis*, a fungus linked to global amphibian declines, in the South African Clawed Frog, *Xenopus laevis*. **Infection and Immunity**, v. 78, p. 3981-3992, 2010.

REBOLLARE, E. A.; HUGHEY, M. C.; MEDINA, D.; HARRIS, R. N.; IBÁÑEZ, R.; BELDEN, L. K. Skin bacterial diversity of Panamanian frogs is associated with host susceptibility and presence of *Batrachochytrium dendrobatidis*. **ISME Jornal**, v. 10, p. 1682-1695, 2016.

REEVES, R. A.; PIERCE, C. L.; VANDEVER, M. W.; MUTHS, E., SMALLING, K. L. Amphibians, pesticides and the amphibian chytrid fungus in restored wetlands in agricultural landscapes. **Herpetological Conservation & Biology**, v. 12, p. 68-77. 2017.

RELYEA, R. A. The lethal impacts of Roundup and predatory stress on six species of North American tadpoles. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 48, p.351-357, 2005.

RELYEA, R.; HOVERMAN, J. Assessing the ecology in ecotoxicology: a review and synthesis in freshwater systems. **Ecology Letters**, v. 9, p. 1157-1171, 2006.

RELYEA, R. A.; JONES, D. K. The toxicity of roundup original maxR to 13 species of larval amphibians. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 28, p. 2004-2008, 2009.

RIBEIRO, J.; COLLI, G. R.; BATISTA, R.; SOARES, A. Landscape and local correlates with anuran taxonomic, functional and phylogenetic diversity in rice crops. **Landscape Ecology**, v. 32, n. 8, p. 1599-1612, 2017.

ROBERT, J.; GEORGE, E.; DE JESÚS ANDINO, F.; CHEN, G. Waterborne infectivity of the Ranavirus frog virus 3 in *Xenopus laevis*. **Virology**, v. 417, p. 410-417. 2011

RÖDDER, D.; KIELGAST, J.; LÖTTERS, S. Future potential distribution of the emerging amphibian chytrid fungus under anthropogenic climate change. **Diseases of Aquatic Organisms**, v. 92, p. 201-207, 2010.

ROHR, J. R.; RAFFEL, T. R. Linking global climate and temperature variability to widespread amphibian declines putatively caused by disease. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 107, p. 8269-8274, 2010.

ROLLINS-SMITH, L. A.; REINERT, L. K.; O'LEARY, C. J.; HOUSTON, L. E.; WOODHAMS, D. C. Antimicrobial peptide defenses in amphibian skin. **Integrative and Comparative Biology**, v. 45, p. 137-142, 2005.

ROLLINS-SMITH, L. A.; WOODHAMS, D. C.; REINERT, L. K.; VREDENBURG, V. T.; BRIGGS, C. J.; NIELSEN, P. F.; *et al.* Antimicrobial peptide defenses of the mountain yellow-legged frog (*Rana muscosa*). **Developmental & Comparative Immunology**, v. 30, p. 831-842, 2006.

ROLLINS-SMITH, L. A. The role of amphibian antimicrobial peptides in protection of amphibians from pathogens linked to global amphibian declines. **Biochim Biophys Acta**, v. 1788, p. 1593-1599, 2009.

ROLLINS-SMITH, L. A.; RAMSEY, J. P.; REINERT, L. K.; WOODHAMS, D. C.; LIVO, L. J.; CAREY, C. Immune defenses of *Xenopus laevis* against *Batrachochytrium dendrobatidis*. **Frontiers in Bioscience**, v. 1, p. 68-91, 2009.

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, 552-562, 2011.

ROSSA-FERES, D. C.; GAREY, M. V.; CARAMASCHI, U.; HADDAD, C. F. B. Anfíbios da Mata Atlântica: lista de espécies, histórico dos estudos, biologia e conservação. Pp. 237-314 in *Revisões em Zoologia: Mata Atlântica* (Monteiro Filho, E. L. A. e C. E. Conte, eds.). Editora UFPR, Curitiba, Brazil. 2017.

ROSENBLUM, E. B. VOYLES, J.; POORTEN, T. J.; STAJICH, J. E. The deadly chytrid fungus: a story of an emerging pathogen. **PLoS Pathogens**, v. 6, p. 1000- 550, 2010.

ROWLAND, F. E.; RAWLINGS M. B; SEMLITSCH, R.D. Joint effects of resources and amphibians on pond ecosystems. **Oecologia**, v. 183, p. 237, 2017.

ROY, H. E.; SCALERA, R.; DUNN, A. M.; HESKETH, H. Invasive species: control wildlife pathogens too. **Nature**, v. 530, n. 281, 2016.

SABINO-PINTO, J.; BLETZ, M.; HENDRIX, R.; PERL, R.G.B.; MARTEL, A.; PASMANS, F.; LÖTTERS, S.; MUTSCHMANN, F.; SCHMELLER, D.S.; SCHMIDT, B.R.; *et al.* First detection of the emerging fungal pathogen in Germany. **Amphibian & Reptile**, v. 36, p. 411-416, 2015.

ŠÁLEK, M.; KREISINGER, J.; SEDLÁČEK, F.; ALBRECHT, T. Corridor vs. Hayfield matrix use by mammalian predators in an agricultural landscape. **Agriculture, ecosystems & environment**, v. 134, p. 8, 2009.

SANTOS, T. G.; ROSSA-FERES, D. C.; CASATTI L. Diversidade e distribuição espaço-temporal de anuros em região com pronunciada estação seca no sudeste do Brasil. **Iheringia Série Zoologia**, v. 97, p. 37-49, 2007.

SANTOS, E. J.; CONTE, C. E. Riqueza e distribuição temporal de anuros (Amphibia: Anura) em um fragmento de Floresta Ombrófila Mista. **Iheringia Ser Zool**, v. 104, n. 3, p. 323-333, 2014.

SANTOS, E. J.; CONTE, C. E. Diversity of anurans in dry forest fragments of a subtropical region in Brazil. **Academia Brasileira de Ciência**, v. 88, p. 1923-1940, 2016.

SAVAGE, A. E.; ZAMUDIO, K. R. MHC genotypes associate with resistance to a frog-killing fungus. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 108, p. 16705-16710, 2011.

SAYLES, G. D.; YOU, G.; WANG, M.; KUPFERLE, M. J. DDT, DDD, and DDE dechlorination by zero-valent iron. **Environmental Science & Technology**, v. 31, p. 3448-3454, 1997.

SCHALK, C. M.; MONTAÑA, C. G.; WINEMILLER, K. O.; *et al.* Trophic plasticity, environmental gradients and food-web structure of tropical pond communities. **Freshwater Biology**, v. 62, p. 519-529, 2017.

SCHEELE, B.; BOYD, C.; FISCHER, J.; FLETCHER, A.; HANSPACH, J.; HARTEL, T. Identifying core habitat before it's too late: The case of *bombina variegata*, an internationally endangered amphibian. **Biodiversity and conservation**, v. 23, p. 775, 2014.

SCHEELE, B. C.; PASMANS, F.; SKERRATT, L. F.; BERGER, L.; MARTEL, A.; BEUKEMA, W.; *et al.* Amphibian fungal panzootic causes catastrophic and ongoing loss of biodiversity. **Science**, v. 363, p. 1459-1463, 2019.

SCHEELE, B. C.; PASMANS, F.; SKERRATT, L. F.; BERGER, L.; MARTEL, A.; BEUKEMA, W.; *et al.* Response to comment on “Amphibian fungal panzootic causes catastrophic and ongoing loss of biodiversity.” **Science**, v. 367, 2020.

SCHIESARI, L.; GRILLITSCH, B.; GRILLITSCH, H. Biogeographic biases in research and their consequences for linking amphibian declines to pollution. **Conservation Biology**, v. 21, p. 465-471, 2007.

SCHULTE, P. M., What is environmental stress? Insights from fish living in a variable environment. **The Journal of Experimental Biology**, v. 217, 23e34, 2014.

SEGAT, J. C. **Avaliação ecotoxicológica do uso de dejetos de suínos em solos de Santa Catarina**. 2012.130 p. dissertação (Mestrado em Ciências) - Universidade de São Paulo Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiróz”, 2012.

SEGALLA, M. V.; BERNECK, B.; CANEDO, C.; CARAMASCHI, U.; CRUZ, C. A. G.; GARCIA, P. C. A.; GRANT, T.; HADDAD, C. F. B.; LOURENÇO, A. C. C.; MÂNGIA, S.; MOTT, T.; WERNECK, F. P.; NASCIMENTO, L. B.; TOLEDO, L. F.; LANGONE, J. A. List of Brazilian amphibians. **Herpetologia Brasileira**, n. 10, n. 1, p. 121-216, 2021.

SEITZINGER, S. P.; SANDERS, R.W.; STYLES, R. Bioavailability of DON from natural and anthropogenic sources to estuarine plankton. **Limnology Oceanography**, v. 47, n. 2, p. 353-366, 2002.

SEMLITSCH, R. D.; SCOTT, D. E.; PECHMANN, J. H. K.; GIBBONS, J. W., In: CODY, M. L. (Eds.), **Long-term Stud. Vertebr. Communities**. Academic Press, San Diego, p. 217-248, 1996.

SEMLITSCH, R. D.; BRIDGES, C. M.; WELCH, A. M. Genetic variation and a fitness tradeoff in the tolerance of gray treefrog (*Hyla versicolor*) tadpoles to the insecticide carbaryl. **Oecologia**, v. 125, p. 179e185, 2000.

SEMLITSCH, R. D.; O'DONNELL, K. M.; THOMPSON, F. R. Abundance, biomass production, nutrient content, and the possible role of terrestrial salamanders in Missouri Ozark forest ecosystems. **Canadian Journal of Zoology**, v. 92, n. 12, p. 997-1004, 2014.

SHERMAN, E.; BALDWIN, L.; FERNANDEZ, G.; DEURELL, E. Fever and thermal tolerance in the toad *Bufo marinus* **Journal of Thermal Biology**, v. 16, p. 297-301, 1991.

SHERMAN, E. Thermal biology of newts (*Notophthalmus viridescens*) chronically infected with a naturally occurring pathogen. **Journal of Thermal Biology**, v. 33, p. 27-31, 2008.

SCHLOEGEL, L. M.; TOLEDO, L. F.; LONGCORE, J. E.; GREENSPAN, S. E.; VIEIRA, C. A.; LEE, M. Novel, panzootic and hybrid genotypes of amphibian chytridiomycosis associated with the bullfrog trade. **Molecular Ecology**, v. 21, n. 21, p. 5162-5177, 2012.

SILVA, F. R.; ROSSA-FERES, D. C. Uso de fragmentos florestais por anuros (Amphibia) de área aberta na região noroeste do Estado de São Paulo. **Biota Neotropica**, v. 7, p. 141-147, 2007.

SILVA, F. R.; GIBBS, J. P.; ROSSA-FERES, D. C. Breeding habitat and landscape correlates of frog diversity and abundance in a tropical agricultural landscape. **Wetlands**, v. 31, p.1079-1087, 2011.

SILVA, F. R.; CANDEIRA, C. P.; ROSSA-FERES, D. C. Dependence of anuran diversity on environmental descriptors in farmland ponds. **Biodiversity and Conservation**, v. 21, n. 6, p.1411-1424, 2012.

SILVA, C. L.; BASSI, N. S. S. da. Análise dos impactos ambientais no oeste catarinense e das tecnologias desenvolvidas pela Embrapa suínos e aves. **Informe Gepec**, v.16, p.128-143, 2012.

SILVANO, D. L.; SEGALLA, M. V. Conservation of Brazilian Amphibians. **Conservation Biology**, v.19, n.3, p. 653-658, 2005.

SKERRATT, L. F.; BERGER, L.; SPEARE, R.; CASHINS, S.; MCDONALD, K. R.; PHILLOTT, A. D.; *et al.* Spread of chytridiomycosis has caused the rapid global decline and extinction of frogs. **EcoHealth**, v. 4, p. 125-134, 2007.

SMALLING, K. L.; REEVES, R.A.; MUTHS, E.; VANDEVER, M.; BATTAGLIN, W. A. HLADIK, M. L.; PIERCE, C. L. Pesticide concentrations in frog tissue and wetland habitats in a landscape dominated by agriculture. **Science of the Total Environment**, v. 502, p.80-90, 2015.

SMITH, V. H.; TILMAN, G.D.; NEKOLA, J. C. Eutrophication: impacts of excess nutrient inputs on freshwater, marine, and terrestrial ecosystems. **Environmental Pollution**, v. 100, p. 179-196, 1999.

SNODGRASS, J. W.; CASEY, R. E.; JOSEPH, D.; SIMON J. A. Microcosm investigations of stormwater pond sediment toxicity to embryonic and larval amphibians: variation in sensitivity among species. **Environmental Pollution**, v. 154, p. 291-297, 2008.

SOMMER, F.; BÄCKHED, F. The gut microbiota—masters of host development and physiology. **Nature Reviews Microbiology**, v. 11, p. 227-238, 2013.

SPARLING, D. W.; LINDER, G.; BISHOP, C. A. **Ecotoxicology of amphibians and reptiles**. Society of Environmental Toxicology and Chemistry (SETAC), Pensacola, FL. 2000.

SPARLING, D. W.; FELLERS, G. M. Toxicity of two insecticides to California, USA, anurans and its relevance to declining amphibian populations. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 28, p. 1696-1703, 2009.

SPARROW, A. D. A heterogeneity of heterogeneities. **Trends in Ecology and Evolution**, v. 14, p. 422-423, 1999.

SPITZEN-VAN DER SLUIJS, A.; MARTEL, A.; HALLMAN, C.; BOSMAN, W.; GARNER, T. W. J.; VAN ROOIJ, P.; JOORIS, R.; HAESBROUCK, F.; PASMANS, F. Environmental determinants of recent endemism of *Batrachochytrium dendrobatidis* infections in amphibian assemblages in the absence of disease outbreaks. **Conservation Biology**, v. 28, p. 1302-1311, 2014.

SPITZEN-VAN DER SLUIJS, A.; MARTEL, A.; ASSELBERGHS, J.; BALES, E. K.; BEUKEMA, W.; BLETZ, M. C.; *et al.* Expanding distribution of lethal amphibian fungus *Batrachochytrium salamandrivorans* in Europe. **Emerging Infectious Diseases**, v. 22, n. 7, p. 1286-1288, 2016.

STICE, M. J.; BRIGGS, C. J. Immunization is ineffective at preventing infection and mortality due to the amphibian chytrid fungus *Batrachochytrium dendrobatidis*. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 46, p. 70-77, 2010.

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

TABASSUM-ABBASI, P. M.; ABBASI, T.; ABBASI, S. A. Wind energy: increasing deployment, rising environmental concerns. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 31, p. 270-288, 2014.

TEACHER, A. G. F.; CUNNINGHAM, A. A.; GARNER, T. W. J. Assessing the long-term impact of Ranavirus infection in wild common frog populations. **Animal Conservation**, v. 13, p. 514-522, 2010.

TENG, M.; HUANG, C.; WANG, P.; ZENG, L.; ZHOU, Z.; XIAO, W.; *et al.* Impacts of forest restoration on soil erosion in the Three Gorges Reservoir area, China. **Science of the Total Environment**, v. 697, 134164, 2019.

TESTA, V. M.; NADAL, R. de; MIOR, L.C.; BALDISERRA, I.T.; CORTINA, N. **O desenvolvimento sustentável do Oeste Catarinense (Proposta para discussão)**. Florianópolis: EPAGRI, 1996. 247 p.

TEWS, J.; BROSE, U.; GRIMM, V.; TIELBORGER, K.; WICHMANN, M. C.; SCHWAGER, M.; JELTSCH, F. Animal species diversity driven by habitat heterogeneity/diversity: the importance of keystone Structures. **Journal of Biogeography**, v.31, p. 79-92, 2004.

TILMAN, D.; FARGIONE, J.; WOLFF, B.; ANTONIO, C. D'.; DOBSON, A.; HOWARTH R.; SCHINDLER, D.; SCHLESINGER, W. H.; SIMBERLOFF, D.; SWACKHAMER D. Forecasting agriculturally driven global environmental change. **Science**, v. 292, p. 281-284, 2001.

TOWNSEND, C. R.; BEGON, M.; HARPER, J. L. **Fundamentos em Ecologia**. Porto Alegre: Artmed, 2009, 575 p.

TREECE, G. D. Zooplankton Culture. In: STICKNEY, R. R., Ed., **Encyclopedia of Aquaculture**, John Wiley and Sons, New York, 2000, p. 1037-1044.

TURNBAUGH, P. J.; LEY, R. E.; HAMADY, M.; FRASER-LIGGETT, C. M.; KNIGHT R.; GORDON, J. I. The human microbiome project: exploring the microbial part of ourselves in a changing world. **Nature**, v. 449, p. 804-810, 2007.

TURNER, M. G.; GARDNER, R. H.; O'NEILL, R. V. **Landscape Ecology in Theory and Practice: Pattern and Process**. Springer-Verlag, Berlin. 2001

TWEEDELL, K.; GRANOFF, A. viruses and renal carcinoma of *Rana pipiens*. Effect of frog virus 3 on developing frog embryos and larvae. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 40, p. 407-410, 1968.

VALENZUELA-SÁNCHEZ, A.; SCHMIDT, B. R.; URIBE-RIVERA, D. E.; COSTAS, F.; CUNNINGHAM, A. A.; SOTO-AZAT, C. Cryptic disease-induced mortality may cause host extinction in an apparently stable host-parasite system. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 284, 20171176, 2017.

VASCONCELOS, T. S.; SANTOS, T. G.; ROSSA-FERES, D. C.; HADDAD, C. F. B. Influence of the environmental heterogeneity of breeding ponds on anuran assemblages from southeastern Brazil. **Canadian Journal of Zoology**, v. 87, p. 699-707, 2009.

VASCONCELOS, T. S.; SILVA, F. R. DA; SANTOS, T. G. DOS; PRADO, V. H. M. PROVETE, D. B. South American Anurans: Species Diversity and Description Trends Through Time and Space. **Biogeographic Patterns of South American Anurans**, P. 9-84, 2019.

VENKATARAMAN, C.; HABIB, G.; KADAMBA, D.; SHRIVASTAVA, M.; LEON, J.; CROUZILLE, B.; BOUCHER, O.; STREETS, D. Emissions from open biomass burning in India, Integrating the inventory approach with high-resolution moderate resolution imaging spectroradiometer (MODIS) active and land cover data. **Global Biogeochem Cycles**, v. 20, p. GB2013, 2006.

VITOUSEK, P. M.; ABER J.; HOWARTH R. W.; LIKENS G. E.; MATSON P. A.; SCHINDLERM D. W.; SCHLESINGER W. H.; TILMAN G. D. Human alteration of the global nitrogen cycle: causes and consequences. **Ecological Applications**, v. 7, p. 737-750, 1997.

VOYLES, J.; BERGER, L.; YOUNG, S.; SPEARE, R.; WEBB, R.; WARNER, J.; RUDD, D.; CAMPBELL, R.; SKERRATT, L. F. Electrolyte depletion and osmotic imbalance in amphibians with chytridiomycosis. **Diseases of Aquatic Organisms**, v. 77, p. 113-118, 2007.

VOYLES, J.; YOUNG, S.; BERGER, L.; CAMPBELL, C.; VOYLES, W. F.; DINUDOM, A.; COOK, D.; WEBB, R.; ALFORD, R. A.; SKERRATT, L. F.; *et al.* Pathogenesis of chytridiomycosis, a cause of catastrophic amphibian declines. **Science**, v. 326, p. 582-585, 2009.

VREDENBURG, V. T.; KNAPP, R. A.; TUNSTALL, T. S.; BRIGGS, C. J. Dynamics of an emerging disease drive large-scale amphibian population extinctions. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 107, p. 9689-9694, 2010.

WAKE, D. B.; VREDENBURG, V. T. Are we in the midst of the sixth mass extinction? A view from the world of amphibians. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 105, p. 11466-11473, 2008.

WALKER, S. F.; BOSCH, J.; GOMEZ, V.; GARNER, T. W. J.; CUNNINGHAM, A. A.; SCHMELLER, D. S.; *et al.* Factors driving pathogenicity vs. prevalence of amphibian panzootic chytridiomycosis in Iberia. **Ecology Letters**, v. 13, p. 372-382, 2010.

WANG, W.; LI, X. H.; LU, H. Residual and potential risk of organochlorine pesticides in urban soils of Yinchuan. **Journal of Anhui University of Technology and Science (Natural Science)**, v. 29, p. 32-37, 2008.

WELDON, C.; DU PREEZ, L. H.; HYATT, A. D.; MULLER, R.; SPEARS, R. Origin of the amphibian chytrid fungus. **Emerging Infectious Diseases**, v. 10, p. 2100-2105, 2004.

WERTHER, J.; SAENGER, M.; HARTGE, E. U.; OGADA, T.; SIAGI, Z. Combustion of agricultural residues. **Progress in Energy and Combustion Science**, v. 2, p. 1-27, 2000.

WHITFIELD, S. M.; GEERDES, E.; CHACON, I.; BALLESTERO RODRIGUEZ, E.; JIMENEZ, R. R.; DONNELLY, M. A.; *et al.* Infection and co-infection by the amphibian chytrid fungus and ranavirus in wild Costa Rican frogs. **Diseases of Aquatic Organisms**, v. 104, n. 2, p. 173-8, 2013.

WIENS, J. A. **Ecological heterogeneity: an ontogeny of concepts and approaches. The Ecological Consequences of Environmental Heterogeneity.** eds HUTCHINGS, M.J.; JOHN, E.A. STEWART, A. J. A. pp. 9–32. Blackwell Science, Oxford, UK. 2000.

WILCOX, B. A.; COLWELL, R. R. Emerging and reemerging infectious diseases: biocomplexity as an interdisciplinary paradigm. **EcoHealth**, v. 2, p. 244, 2005.

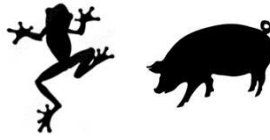
WILLIAMS, T.; BARBOSA-SOLOMIEU, V.; CHINCHAR, V. G. A decade of advances in iridovirus research. In: **Advances in Virus Research**; Academic Press: Cambridge, MA, USA, 2005; v.65, pp. 173-248.

WOODHAMS, D. C.; VREDENBURG, V. T.; SIMON, M.-A.; BILLHEIMER, D.; SHAKHTOUR, B.; SHYR, Y.; *et al.* Symbiotic bacteria contribute to innate immune defenses of the threatened mountain yellow-legged frog, *Rana muscosa*. **Biological Conservation**, v. 138, p. 390-398, 2007 a.

WOODHAMS, D. C.; ARDIPRADJA, K.; ALFORD, R. A.; MARANTELLI, G.; REINER, T. L. K.; ROLLINS-SMITH, L. A. Resistance to chytridiomycosis varies by amphibian species and is correlated with skin peptide defenses. **Animal Conservation**, v. 10, p. 409-417, 2007b.

WORTHYLAKE, K. M.; HOVINGH, P. Mass mortality of salamanders (*Ambystoma tigrinum*) by bacteria (*Acinetobacter*) in an oligotrophic seepage mountain lake. **Great Basin National**, v. 49, p. 364-372, 1989.

CAPITULO I



Widespread Pig Farming Practice Linked to Shifts in Skin Microbiomes and Disease in Pond-breeding Amphibians

Jackson F. Preuss^{}, ^{a, b}, Sasha E. Greenspan^c, Eliandra M. Rossi^b, Elaine M. Lucas Gonsales^d, Wesley J. Neely^c, Victor Hugo Valiati^a, Douglas C. Woodhams^e, C. Guilherme Becker^{3§}, Alexandro M. Tozetti^{1§}*

AUTHOR ADDRESS

a- Programa de Pós-Graduação em Biologia, Universidade do Vale do Rio dos Sinos, São Leopoldo, RS 93022-750, Brazil.

b- Departamento de Ciências da Vida, Universidade do Oeste de Santa Catarina, São Miguel do Oeste, SC 89900-000, Brazil.

c- Department of Biological Sciences, The University of Alabama, Tuscaloosa AL 35487, USA.

d- Departamento de Zootecnia e Ciências Biológicas, Universidade Federal de Santa Maria, RS 98300-000, Brazil.

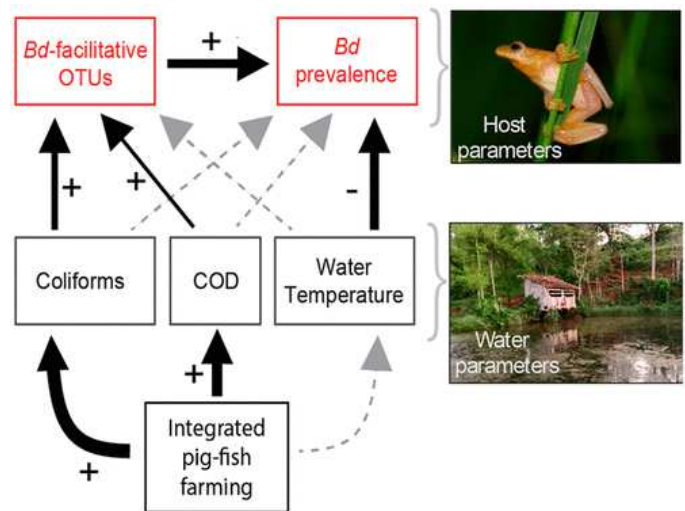
e- Department of Biology, University of Massachusetts Boston, Boston, MA 02125, USA.

§- These authors contributed equally to this study.

ABSTRACT:

Agricultural practices may reshape the structure of watersheds, water quality, and the health of aquatic organisms. Nutrient enrichment from agricultural pollution increases disease pressure in many host-pathogen systems, but the mechanisms underlying this pattern are not always resolved. For example, nutrient enrichment should strongly influence pools of aquatic environmental bacteria, which has the potential to alter microbiome composition of aquatic animals and their vulnerability to disease. However, shifts in the host microbiome have received little attention as a link between nutrient enrichment and diseases of aquatic organisms. We examined nutrient enrichment through the widespread practice of integrated pig-fish farming and its effects on microbiome composition of Brazilian amphibians and prevalence of the globally distributed amphibian skin pathogen *Batrachochytrium dendrobatidis* (*Bd*).

This farming system drove surges in fecal coliform bacteria, disturbing amphibian skin bacterial communities such that hosts recruited higher proportions of *Bd*-facilitative bacteria and carried higher *Bd* prevalence. Our results highlight previously overlooked connections between global trends in land use change, microbiome dysbiosis, and wildlife disease. These interactions may be particularly important for disease management in the tropics, a region with both high biodiversity and continually intensifying anthropogenic pressures on aquatic wildlife habitats.



1. INTRODUCTION

Agricultural practices may lead to destruction, fragmentation, and pollution of wildlife habitats, with consequences for the health and stability of animal populations¹⁻⁴. For instance, manure and wastewater from livestock farming can leach into water bodies and watersheds, altering the pool of aquatic microorganisms^{5,6} and mediating exposure of wildlife to pathogenic microbes^{7,8}. Runoff from livestock farming may also adversely influence vertebrates through shifts in host innate and adaptive immunity, increasing the likelihood of disease outbreaks⁹⁻¹¹.

Amphibians are among the most threatened vertebrates¹² and are particularly vulnerable to pollution due to their highly permeable skin and biphasic life cycles, which comprises both aquatic and terrestrial phases^{13,14}. The negative effects of environmental pollution on amphibian health are evidenced in many agricultural ponds systems¹⁵⁻¹⁷. Studies have suggested that agricultural runoff into aquatic habitats may increase both prevalence and virulence of amphibian pathogens^{18,19}, including ranavirus²⁰⁻²² and the amphibian chytrid fungus *Batrachochytrium dendrobatidis* (*Bd*)^{23,24}. *Bd* is a main driver of amphibian population declines and extinctions worldwide^{25,26} and the wide range of agricultural practices used in different regions highlights the need to investigate interactive effects between specific types of environmental pollution and the risk of chytridiomycosis in amphibians²⁷⁻³⁰.

Accelerated livestock production in tropical regions such as South America and Sub-Saharan Africa³¹ is expected to have detrimental effects on amphibian biodiversity through pollution as well as habitat destruction and fragmentation²⁵. In southern Brazil, diverse amphibian communities are exposed to an agricultural practice that integrates pig farming with fish farming³²⁻³⁴. This practice consists of housing pigs over a pond such that slurry (liquid manure) drains directly into the pond³⁵⁻³⁸. Swine slurry changes the physicochemical variables and raises the biological productivity of the pond³⁹⁻⁴⁰, consequently increasing fish production. Fish also feed directly on the pig excrement, which contains 70 percent digestible food⁴¹. This practice has been acknowledged as an efficient method of both waste utilization and disposal³⁶. Recent studies have analyzed effects of this practice on dissemination of viruses and other human-associated pathogens⁴. However, studies linking integrated pig-fish farming and amphibian diseases are sorely needed, especially because man-made ponds are critical for the persistence of native frogs in agricultural landscapes^{42,43}.

It has been increasingly recognized that the consortium of symbiotic microorganisms recruited by amphibians (the microbiome) plays an important role in host health, including

amphibians⁴⁴⁻⁴⁶. For instance, members of the amphibian skin bacterial community have been shown to inhibit the pathogen *Bd* in both laboratory and natural conditions⁴⁷⁻⁵¹ through the production of antimicrobial peptides and anti-fungal metabolites⁵²⁻⁵⁴. Nutrient enrichment in water bodies should strongly influence the environmental pool of pathogenic, commensal, and mutualistic microbes, which has the potential to alter the composition of the host microbiome. For instance, growth of opportunistic bacteria in the microbiome of a coral increased in response to elevated nutrient concentrations⁵⁵. In the same way, runoff waste from livestock farming may exacerbate disease risk by exposing amphibians to large pools of opportunistic and pathogenic microorganisms, such as fecal coliforms, a group of gram-negative bacteria that are associated with pathogenic infections in vertebrates⁵⁶. These bacteria have the potential to compete with mutualistic microbes and alter the structure and function of the amphibian skin microbiome^{45,57}. Surprisingly, however, shifts in microbiome structure is an understudied pathway through which nutrient enrichment may influence wildlife pathogen dynamics.

Here, we tested whether integrated pig-fish farming (i) alters the skin microbial communities in Brazilian amphibians and (ii) increases *Bd* infection parameters. We predicted that this integrated farming practice would lead to high levels of environmental pollutants (e.g., fecal coliforms), disrupting amphibian skin bacterial communities and facilitating *Bd* infections in native amphibians. We conducted our study in southern Brazil, a *Bd*-endemic region where integrated pig-fish farming at both small scale (family consumption) and industrial scale have been widely implemented for over two decades^{58,59}. We compared estimated disease risk in populations of the native Golden Lesser Treefrog (*Dendropsophus minutus*, Hylidae) in man-made ponds with and without integrated fish-pig farming. We measured environmental and water quality parameters (e.g., fecal coliforms, nitrates, temperature) and quantified *Bd* infection loads and skin bacterial composition in amphibians using a combination of qPCR assays and 16S rRNA amplicon sequencing. Our results link a common agricultural practice employed in several countries with host microbiome dysbiosis and disease in tropical amphibians.

2. METHODS

2.1 Study area and sampling design

We sampled anurans and surface water from twenty agricultural ponds located in the extreme west of Santa Catarina state, southern Brazil (Fig. S1). Mean elevation of sampling sites is 548 ± 134 SD

m and the local climate is subtropical humid Cfa in the Köppen classification⁶⁰. The swine population in southern Brazil is over 25 million head, accounting for 60% of national swine production⁶¹. To avoid confounding effects of seasonality on environmental and water quality parameters, all ponds were sampled in an interval of 42 days during the beginning of the amphibian breeding season in September and October 2018. We selected ten agricultural ponds that have been used in integrated fish-pig farming for at least twenty years (hereafter slurry-present; Figure 2). The other ten sampling ponds were used only for fish farming and did not receive swine slurry runoff (hereafter slurry-absent). Slurry-present and slurry-absent ponds were randomly distributed in the study area to avoid spatial biases in our analyses.

We collected 350 individuals of *D. minutus*, with an average of 17 ± 4 SD individuals per sampling pond. This species is a habitat generalist that breeds in ponds during spring and summer. We actively searched for amphibians at night⁶² and used new disposable gloves between captures to avoid cross contamination among individuals. We individually housed captured frogs in sterile plastic bags and swabbed each individual at the end of each sampling night (within ~2h of capture). To remove transient environmental bacteria from the host skin prior to swabbing, we rinsed each individual with distilled water. We swabbed the skin of each individual frog using a sterile swab following protocols described by Hyatt et al.⁶³. To avoid DNA degradation during field collection, we preserved swabs in sterile microtubes kept on ice until processing. Since each agricultural pond was sampled only once, we released individual tree frogs at the same collection site, at the end of the sampling night.

2.2 Water characterization

During three days in October 2018, we manually collected 0.5 L of surface water in each pond using sterile polyethylene bottles for physicochemical and microbiological analysis. Surface water was collected 10 cm from the edge of the ponds in randomly selected points, and the samples were kept refrigerated (2-8 °C) and analyzed at the Laboratory of Microbiology of the Universidade do Oeste de Santa Catarina - UNOESC (São Miguel do Oeste, Brazil) within 48 h of sampling. Microbiological analysis of the Most Probable Number of Thermotolerant Coliforms (MPN/mL) was performed using the multiple tube fermentation technique according to the Standard Methods for Water and Effluent Testing⁶⁴. To assess water quality parameters associated with nutrient enrichment, we performed the following chemical analyses using a spectrophotometer

(Spectroquant pharo 100) with Merck Ready Kits(r): total phosphorus (Merck Colorimetric analogous to APHA 4500), ammoniacal nitrogen (Merck Colorimetric analogous to APHA 4500), nitrate (Merck Colorimetric), biochemical oxygen demand (potassium hydroxide solution), chemical oxygen demand (COD; Merck Colorimetric Analogous to APHA 5220). In the laboratory, pH was also measured using an electrometric method with a multiparameter meter (Akso). Water temperature of each pond was measured at dusk on the day of sampling using an Incoterm waterproof digital thermometer at dusk. Physicochemical and microbiological conditions of the ponds are shown in Table S1.

2.3 qPCR and 16S profiling

We sequenced the V4 region of the 16S rRNA gene from the bacterial genome to characterize bacterial composition and quantify *Bd* from skin swabs. To extract DNA, we used the DNeasy Blood and Tissue Kit (Qiagen, Valencia, CA, USA), following the manufacturer's protocol with small modifications to increase DNA yield, including increasing the incubation time in the lysis phase to 8h. To quantify *Bd* infection loads, we used quantitative Taqman PCR assays following standard protocols⁶⁵, including gBlock synthetic standards ranging from 10^6 to 10^2 gene copies (Integrated DNA Technologies, Coralville, Iowa, USA). Our metric of infection load is thus based on number of ITS copies rather than number of zoospore genomic equivalents. To amplify and sequence bacterial DNA, we followed the Earth Microbiome Project 16S Illumina Amplicon Protocol (515F and 806R universal primers) using a dual index approach⁶⁶⁻⁶⁸. We amplified duplicate samples using Phire Hot Start II Polymerase DNA (Finnzyme, Espoo, Finland) and combined duplicate PCR products. We visualized amplicons on 1% agarose gels to confirm the consistency of the gel band, and then grouped the samples in equal volumes to generate the amplicon library. We purified the library using the QIAquick Gel Extraction Kit (Qiagen, Valencia, CA, USA) and measured the DNA concentration of the purified sample using the Qubit 2.0 fluorometer with the dsDNA Wide Spectrum Assay Kit (ThermoFisher Scientific, San Jose, CA, USA). The library was sequenced using an Illumina MiSeq (2 x 250 bp) Sequencer at Tufts University (TUCF Genomics), Boston, Massachusetts, USA.

2.4 Bioinformatics

We analyzed bacterial sequences using Quantitative Insights into Microbial Ecology (QIIME II) v. 2019.1⁶⁹. Only forward reads, trimmed to 150 base pairs, were used for the analyses. We used the q-score plugin to filter low-quality reads. We used the deblur workflow⁷⁰ to cluster sequences into operational taxonomic units (OTUs), aligned sequences (alignment plugin) with MAFFT⁷¹ and constructed a phylogenetic tree (phylogeny plugin) using FastTree with QIIME default parameters⁷². We assigned taxonomy (feature-classifier plugin) with the classify-sklearn naïve Bayes taxonomy classifier and the Greengenes 13.8 reference sequence database⁷³⁻⁷⁵. We discarded sequences identified as chloroplasts or mitochondria and OTUs with fewer than 0.005% of the total number of reads⁷⁶. We rarefied samples to 4000 reads (rarefaction curves provided in electronic supplementary material, figure S2) and none of the PCR controls were retained after filtering and rarefaction. After filtering and rarefaction, we detected a total of 897 OTUs across 160 frogs from slurry-absent ponds and 156 frogs from slurry-present ponds. For analyses of alpha diversity, we calculated the total number of observed OTUs for each sample and Faith's phylogenetic diversity⁷⁷, a widely used diversity index that incorporates phylogenetic relatedness among bacterial taxa, which should be a proxy for ecological diversity^{45,78,79}. For analyses of bacterial community composition, we calculated unweighted and weighted UniFrac distances between samples^{80,81}. In addition, we identified putative *Bd*-inhibitory and *Bd*-facilitative OTUs in frog microbiomes by blasting our OTU table against a comprehensive database of bacterial sequences with known functional responses to *Bd* (Woodhams et al. 2015) at 100% sequence similarity. We then calculated the proportion of potentially *Bd*-facilitative and *Bd*-inhibitory sequence reads per individual frog.

2.5 Statistical analyses

We compared the following water quality parameters between slurry-present and slurry-absent ponds using General Linear Models (GLM): pH, water temperature (°C), chemical oxygen demand (COD; mg / L), ammoniacal nitrogen (mg / L), phosphate (mg / L), total nitrate (mg / L), and thermotolerant coliforms (Most Probable Number [MPN] / 100 mL). We employed Generalized Linear Mixed Models (GLMMs) testing whether skin microbial diversity (observed OTUs and Faith's phylogenetic diversity of OTUs; log link model, normal distribution) differed between slurry-present and slurry-absent ponds. To test for differences in skin microbial composition between slurry-present and slurry-absent ponds, we performed permutation analyses of variance

(PerMANOVA) on weighted and unweighted UniFrac distances using the `adonis` function from the `vegan` package in Program R^{82,83}. To visualize differences in bacterial community composition between slurry-present and slurry-absent sites, we performed principal coordinate analyses on unweighted UniFrac distances in QIIME II and plotted values for the first two principal coordinate axes with centroids using the `pca2d` function from the `phytools` package in Program R^{83,84}. To identify the bacterial taxa driving observed differences in frog skin bacterial composition between slurry-present and slurry-absent ponds, we used the linear discriminant analysis effect size (LEfSe) method on the `galaxy` platform (<https://huttenhower.sph.harvard.edu/galaxy/>), with default parameters except for increasing the threshold LDA score to 3, and the Analysis of Composition of Microbiomes (ANCOM) method in QIIME 2. To visualize differences in frog skin bacterial composition, we plotted the LEfSe results with the `heatmap.2` function from the `gplots` package in Program R. We used GLMMs (gaussian, log link) to test whether the proportion of OTUs matching bacterial taxa showing *Bd*-facilitative and *Bd*-inhibitory properties varied between frogs sampled at slurry-present and slurry-absent ponds. We used GLMMs to test whether the proportion of sequences matching *Bd*-facilitative properties was a significant predictor of *Bd* prevalence (binomial, logit link) and infection loads (gaussian, log link; *Bd*-positive samples only). Sampling pond was included as a random effect in all GLMMs. We used JMP software for all GLMs and GLMMs⁸⁵.

We used a path analysis approach to test for direct and indirect links among integrated pig-fish farming (categorical variable: slurry-absent=0, slurry-present=1) and the following water and host parameters: water temperature, thermotolerant coliforms, COD, percent putatively *Bd*-facilitative OTUs, and *Bd* (either prevalence or infection loads). Our path models were built with the RAMONA function in SYSTAT.

3. RESULTS

3.1 Integrated pig-fish farming alters water-quality parameters

As predicted, we found higher concentrations of thermotolerant coliforms in slurry-present than in slurry-absent ponds ($F_{[1, 18]} = 22.816$, $r^2 = 0.559$, $P = 0.0002$; Figure 1); other water quality parameters, including COD, followed expected trends when comparing slurry treatments (Table S1).

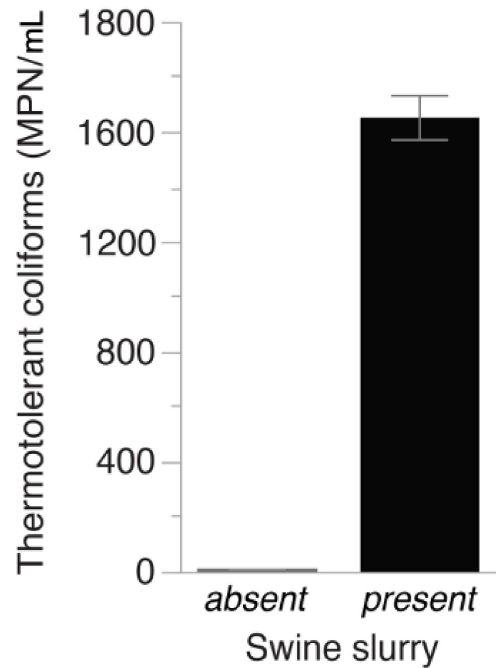


Figure 1. Average thermotolerant coliform concentration (Most Probable Number /100 mL) obtained from water samples in slurry and no-slurry ponds.

3.2 Host microbiome structure and *Bd* infection respond to integrated pig-fish farming

We found lower average skin bacterial diversity in amphibians from slurry-present than in slurry-absent ponds [(observed OTUs: $F_{[1, 17.63]} = 8.310$; $r^2 = 0.698$, $P = 0.010$); (Faith's Phylogenetic Diversity: $F_{[1, 17.89]} = 5.501$; $r^2 = 0.708$, $P = 0.030$)]. The richness of skin bacterial OTUs in amphibian populations from slurry-present and slurry-absent ponds were on average 113.94 ± 35.39 SD and 161.07 ± 44.18 SD, respectively.

Host skin bacterial composition significantly varied between slurry-present and slurry-absent ponds (unweighted unifracs distances: $F_{[1, 314]} = 13.626$; $r^2 = 0.042$; $P = 0.001$, Figure 2; weighted unifracs distances: PerMANOVA $F_{[1, 314]} = 15,367$, $r^2 = 0.047$, $P = 0.001$). Differences in community composition of frog skin microbiomes were driven by higher relative abundances of bacteria in the orders Flavobacteriales and Burkholderiales in slurry-present ponds and Rhizobiales and Rhodospirillales in slurry-absent ponds (Figure 3, Table S2-S3). Within the order Actinomycetales, frogs in slurry-present ponds carried higher relative abundances of bacteria in the family Corynebacteriaceae, whereas frogs in slurry-absent ponds carried higher relative abundances of

bacteria in the families Microbacteriaceae, Pseudonocardiaceae, and Sanguibacteraceae (Figure 3, Table S2-S3). Within the order Pseudomonadales, frogs in slurry-present ponds carried higher relative abundances of bacteria in the family Moraxellaceae, whereas frogs in slurry-absent ponds carried higher relative abundances of bacteria in the family Pseudomonadaceae (Figure 3, Table S2-S3).

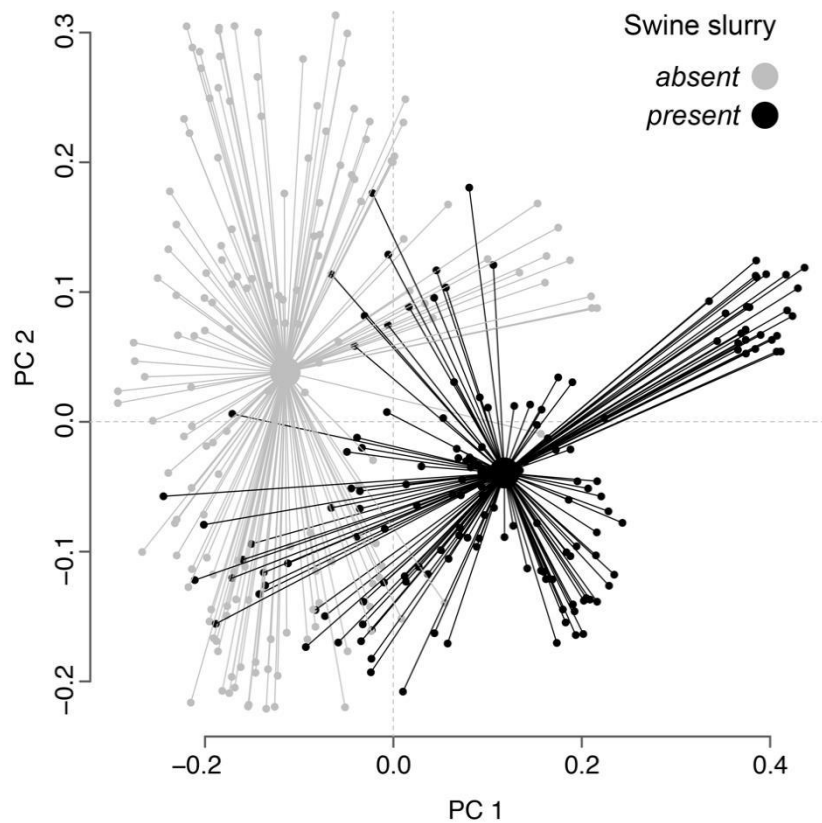


Figure 2. Bacterial community composition of the amphibian skin microbiome calculated using principal coordinates analysis based on unweighted UniFrac distance matrices. Small circles indicate individual frogs sampled from slurry-present (black) and slurry-absent (grey) ponds; large circles indicate group centroids.



Figure 3. Heatmap indicating bacterial taxa driving differences in the composition of frog skin bacterial communities between slurry-present (black bar) and slurry-absent (gray bar) ponds. Rows represent indicator OTUs. Columns represent individual samples. Indicator taxa were identified with the linear discriminant analysis effect size method (LEfSe). Some OTUs could not be identified to all taxonomic ranks.

When analyzed independently through univariate statistics, we detected a marginally higher proportion of OTUs matching bacterial taxa showing *Bd*-facilitative properties in slurry-present than in slurry-absent ponds ($F_{[1, 18.35]} = 3.920$, $r^2 = 0.504$; $P = 0.061$; Figure 4A). As anticipated,

proportion of *Bd*-facilitative OTUs was a positive predictor of *Bd* prevalence ($\chi^2 = 13,616$, $B = 0.034$; $\beta = 0.034$; $N = 20$; $P = 0.0002$) and infection loads ($F_{[1, 165.6]} = 6.847$, $\beta = 0.013$; $r^2 = 0.302$; $P = 0.0097$). The observed lower average proportion of OTUs matching anti-*Bd* bacteria in slurry-present than in slurry-absent ponds was not statistically significant ($F_{[1, 18.2]} = 0.111$; $r^2 = 0.494$; $P = 0.743$; Figure 4B). Furthermore, the proportion of putatively anti-*Bd* bacteria was not a significant predictor of either *Bd* prevalence or loads.

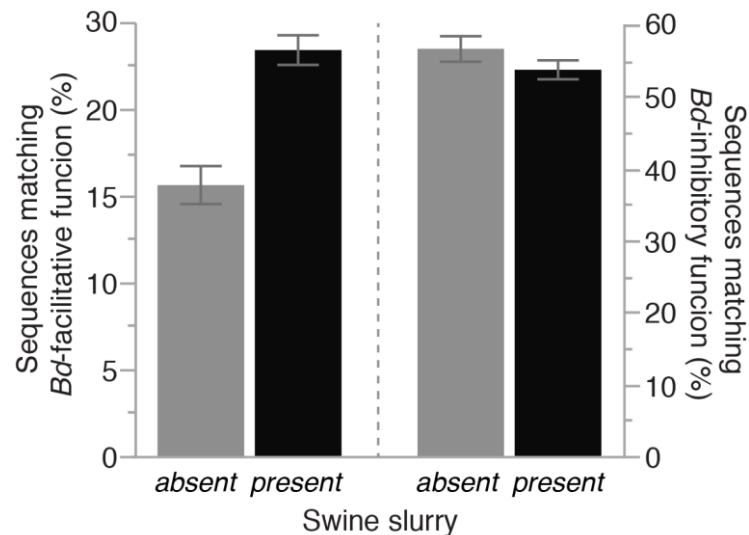
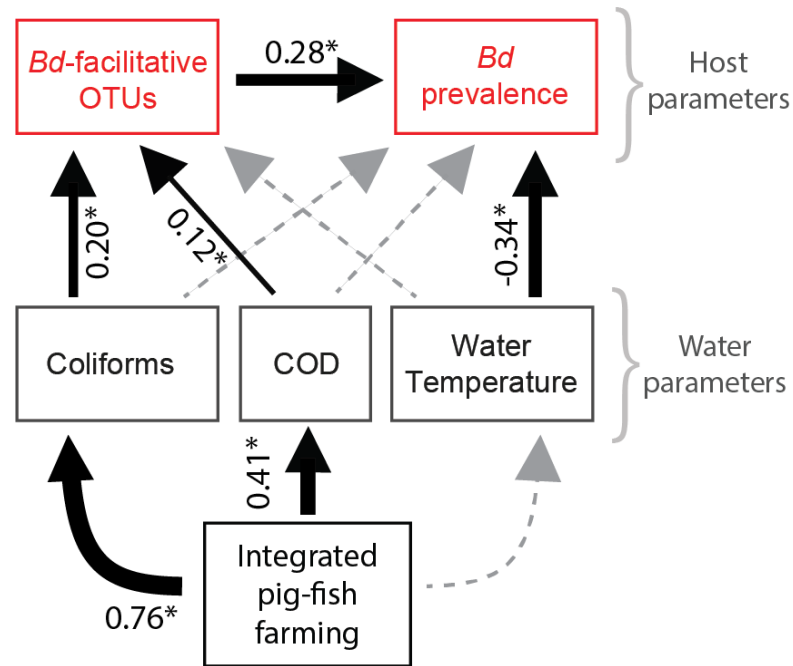


Figure 4. Percent OTUs matching *Bd*-inhibitory and *Bd*-facilitative function based on Woodhams *et al.* (2015).

3.3 Linking pig-fish farming to reduced water quality, host microbiome dysbiosis and disease

Our path analysis indicated that integrated pig-fish farming was linked to higher COD and higher concentration of thermotolerant coliforms in ponds, and these indicators of high levels of water pollution were consecutively linked with higher proportions of *Bd*-facilitative bacteria in the amphibian skin microbiome. High proportions of *Bd*-facilitative bacteria, a proxy for microbiome dysbiosis, in turn predicted higher *Bd* prevalence, even after accounting for the direct effects of coliforms, COD and water temperature (Scheme 1). Water temperature was the only significant negative predictor of *Bd* infection load when included in a similar model that only included *Bd*-positive individuals.



Scheme 1. Path diagram depicting the indirect link between integrated pig-fish farming and higher *Bd* prevalence through increased levels of thermotolerant coliforms, chemical oxygen demand (COD), and *Bd*-facilitative members of the skin microbiome. AIC=0.876; effective number of parameters = 16; d.f. = 5; RMSEA close fit $P = 0.001$.

4. DISCUSSION

Among the many sources of environmental pollution, intensive agriculture is a behemoth, exposing wildlife to the dual threats of habitat loss and pollution and, in the case of amphibians, leaving man-made agricultural ponds as critical breeding habitats⁸⁶. In our study system in southern Brazil, we found positive indirect associations between integrated pig-fish farming and *Bd* infection through increased levels of water pollution and, in turn, higher relative abundances of *Bd*-facilitative taxa in the host microbiome. Our results suggest that massive inputs of fecal coliform bacteria into the aquatic environment offset the balance of the aquatic environmental bacterial pool, altering recruitment to the host skin microbiome in ways that facilitated *Bd* infection. Anthropogenic environmental changes are strong drivers of amphibian disease dynamics globally^{25,79}. Climatic shifts, deforestation, and environmental contaminants may drastically influence host immunity, pathogen virulence, and ecological community interactions^{8,87,88}. The permeable skin and the

biphasic life cycle of amphibians make them particularly vulnerable to environmental pollutants, with consequences for growth, development, reproduction, and disease risk⁸⁹⁻⁹³.

Effects of anthropogenic nutrient enrichment on wildlife disease dynamics vary by host species, type of pathogen, and ecosystem context⁹⁴. However, evidence across many taxa indicates positive correlations between nutrient enrichment and the prevalence, severity, or distribution of wildlife diseases⁹⁴. Observed mechanisms underlying this pattern include facilitation of pathogen vectors, intermediate hosts, or pathogens themselves, if they can directly benefit from the nutrient additions⁹⁵⁻⁹⁷. Nutrient enrichment may also alter pathogen transmission rates through changes in host densities, alter pathogen infectivity through changes in host survival rates, or enhance pathology associated with infection⁹⁴.

Previous studies on interactions between elevated nutrients and pathogen dynamics among amphibians are relatively scarce. Forson and Storfer⁹⁸ found that inorganic fertilizers may compromise leukocyte-mediated immunity in larval *Ambystoma tigrinum nebulosum* but may also directly kill a ranavirus that infects this host species. In the only other study to our knowledge that investigated effects of nutrient enrichment on *Bd* dynamics, Buck et al.⁹⁹ predicted that nutrient additions could reduce host *Bd* loads if nutrients facilitated microeukaryote predators of *Bd* zoospores. As an alternative hypothesis, the authors proposed that nutrient additions could increase host *Bd* loads if nutrients enhanced *Bd* infectivity or transmission, perhaps by promoting *Bd* zoospore longevity or motility in the environment⁹⁹. However, their experimental trials revealed no clear effects of nutrient additions on *Bd* loads in larval *Pseudacris regilla*⁹⁹.

In our study, integrated pig-fish farming was associated with high levels of water pollution indicators, including high concentrations of thermotolerant coliform bacteria and high chemical oxygen demand. These pollution indicators, in turn, were associated with higher proportions of *Bd*-facilitative bacteria in the amphibian skin microbiome. We also observed lower OTU richness and altered composition of the skin bacterial community in slurry-present ponds compared to slurry-absent ponds. The water quality parameters in slurry ponds are consistent with highly eutrophic systems in which excess nutrients promote overgrowth of algae and microbial decomposition of dead algae depletes dissolved oxygen. Thus, direct inputs of pig slurry and overabundances of dead organic matter in response to eutrophication both likely represent strong forces shaping the environmental bacterial communities of slurry ponds, including increases in abundances of coliform bacteria. Our results suggest that the overabundance of coliform bacteria in the pool of

environmental bacteria altered recruitment to the amphibian skin microbiome, consistent with previous studies demonstrating that amphibian-associated bacterial assemblages are heavily influenced by bacterial taxa in the surrounding environment^{78,79, 100- 102}.

Our path analysis synthesized our findings, revealing a cascade of effects in which integrated pig-fish farming was linked to higher *Bd* prevalence through shifts in microbiome composition in response to water pollution, even after accounting for direct effects of water temperature on *Bd* prevalence. As expected, *Bd* prevalence and loads were higher among frogs carrying higher proportions of *Bd*-facilitative bacteria. Higher proportions of *Bd*-facilitative taxa and, in many cases, decreases in host skin bacterial diversity, are indicators of host microbiome dysbiosis, referring to disruption of the normal symbiotic host-microbe relationships in the microbiome¹¹¹. Higher relative abundances of pathogen-facilitating bacteria may increase rates of host infection by modifying the host microenvironment, shielding infective pathogen life stages from antibiotics produced by other taxa, and influencing pathogen virulence factors¹⁰⁴. Our findings support previous studies linking disease susceptibility to host microbiome structure^{47,105- 107}. Although we did not detect concomitant decreases in relative abundances of *Bd*-inhibitory skin bacterial taxa in slurry-present ponds, the observed decreases in OTU richness could also interfere with microbiome functions related to host health and immunity^{108,109}.

While our analyses strongly suggest that *Bd* responded to disturbances in the amphibian skin microbiome, *Bd* infections may also disturb frog skin bacterial assemblages^{110- 112}. Thus, it is also possible that slurry additions facilitated *Bd* zoospore motility, infectivity, or survival, perhaps through changes in the physicochemical properties of the water or shifts in populations of aquatic organisms that feed on zoospores, with host microbiome composition responding to *Bd* infections¹¹³. A useful avenue for future research would be to situate the linkages between nutrient enrichment, the host microbiome, and disease against the backdrop of the complex biotic interactions that are characteristic of aquatic ecological communities.

Livestock manure may also contain pesticides if animals were fed pesticide-treated food¹¹⁴. A large and growing body of work suggests that pesticide exposure may increase susceptibility of amphibians to parasitic infections by impairing host immune function or facilitating parasite vectors (reviewed in Hayes et al.¹¹⁵). Interactive effects of pesticide and *Bd* exposure are context dependent, ranging from exacerbating pathogen effects^{8,116} to mitigating pathogen effects^{117- 122} to neutral^{123- 125}. For example, exposure to the herbicide atrazine in early life stages altered growth and development

rates in *Osteopilus septentrionalis*, enhancing susceptibility to *Bd* at later life stages⁸. In contrast, the herbicide Roundup reduced *Bd* growth in *Hyla versicolor* tadpoles¹²² and the insecticide malathion did not alter effects of *Bd* on post-metamorphic *Hyla chrysoscelis*¹²⁵. Pesticides may also reduce populations of aquatic macroinvertebrates and microeukaryotes, suggesting altered aquatic community dynamics as an indirect pathway influencing pesticide effects on host-pathogen interactions¹²⁶. A study on gut microbiomes of frogs in natural and farmland habitats indicated that diet or other habitat differences altered bacterial diversity and community structure¹²⁷. Pesticide runoff can also enrich water bodies with nutrients that cause eutrophication and alter host feeding¹²⁸⁻¹³⁰, with downstream impacts on host immunity. Notably, however, the links between agrochemicals, amphibian microbiome structure, and disease have not been resolved.

Our study is consistent with growing evidence linking anthropogenic environmental impacts to changes in host microbiome structure^{127,131-133}. Our findings suggest that, by disturbing natural processes of microbiome assembly and function, integrated pig-fish farming may be increasing disease pressure on native amphibians that depend on agricultural ponds for population persistence in disturbed landscapes. Even small increases in disease pressure may threaten populations by leading to slow population declines that are difficult to detect, or if hosts face multiple interacting stressors¹³⁴⁻¹³⁶. With slurry ponds distributed across large geographic areas and aquatic-breeding amphibians making substantial seasonal migrations, future research guided by metapopulation theory would be valuable for assessing the potential role of slurry ponds as ecological traps for amphibians through losses in microbiome condition as well as whether these microbiome effects extend to larval fitness, juvenile recruitment, adult reproductive success, and ultimately, metapopulation stability. Our study highlights the complex mechanisms underlying wildlife disease dynamics in human-modified landscapes and sheds new light on the impacts of a widespread farming practice on the health of native wildlife populations. From a wider perspective, our work suggests the potential for profound parallel impacts on wildlife and human disease dynamics in many parts of the tropics, where diversity of hosts and pathogens is high and production of domestic and industrial sewage continue to outpace the development of wastewater treatment infrastructure.

ASSOCIATED CONTENT

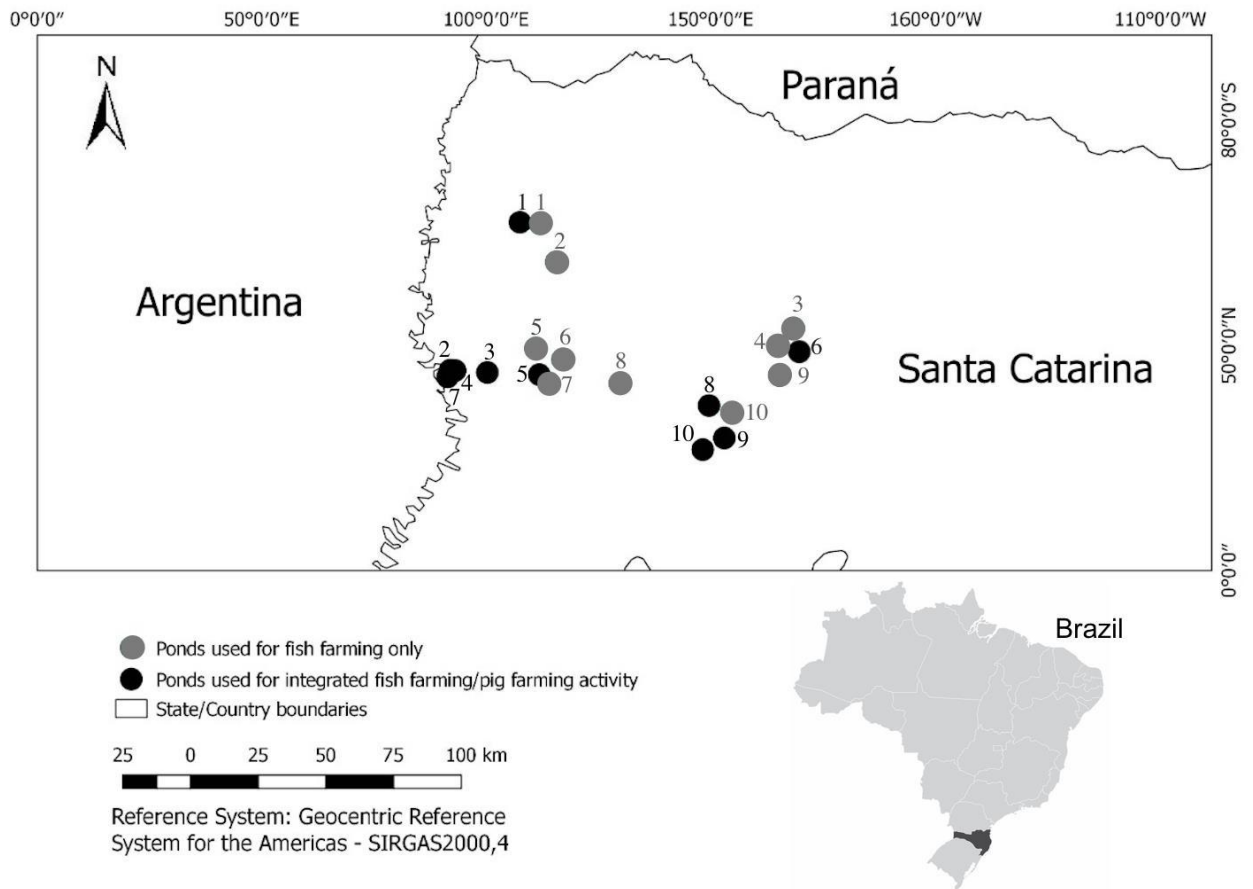


Figure S1. Geographic distribution of our 20 sampling ponds in western Santa Catarina state, Brazil. Circles indicate individual frogs sampled from slurry-present (black) and slurry-absent (grey) ponds.

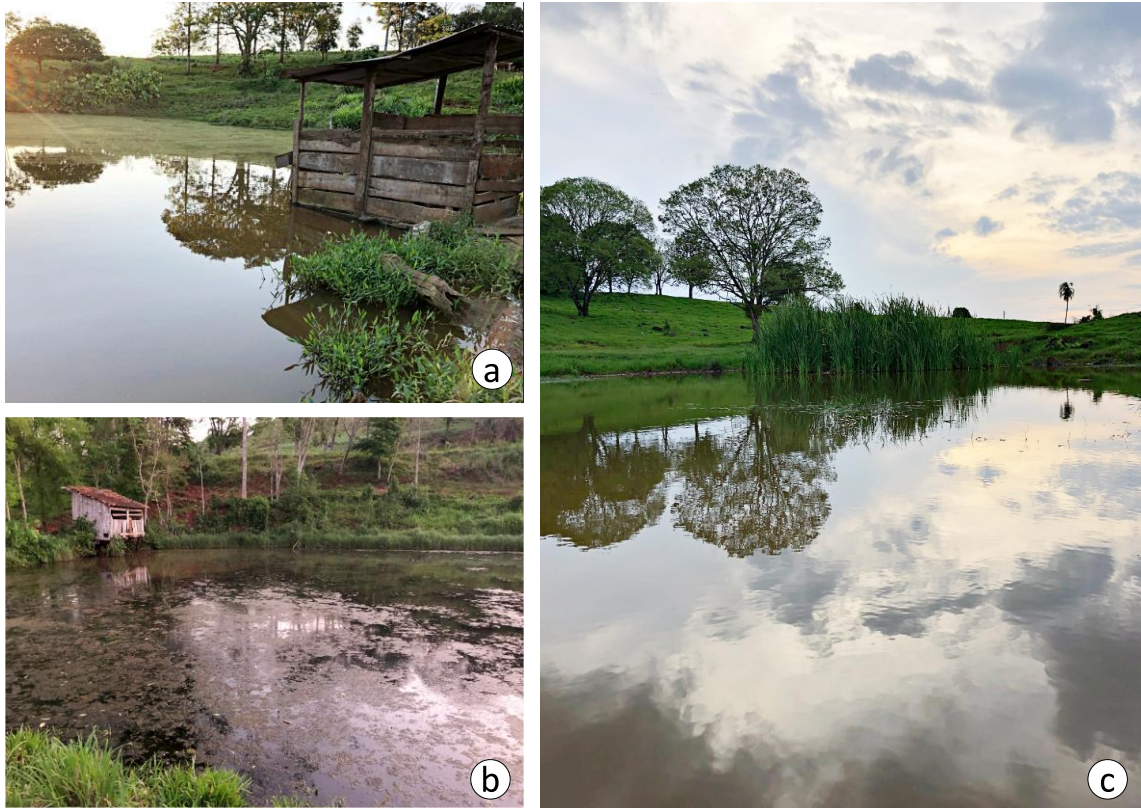


Figure S2. Agricultural ponds in the state of Santa Catarina, southern Brazil. Slurry-present (a-b) and slurry-absent ponds (c) are shown.

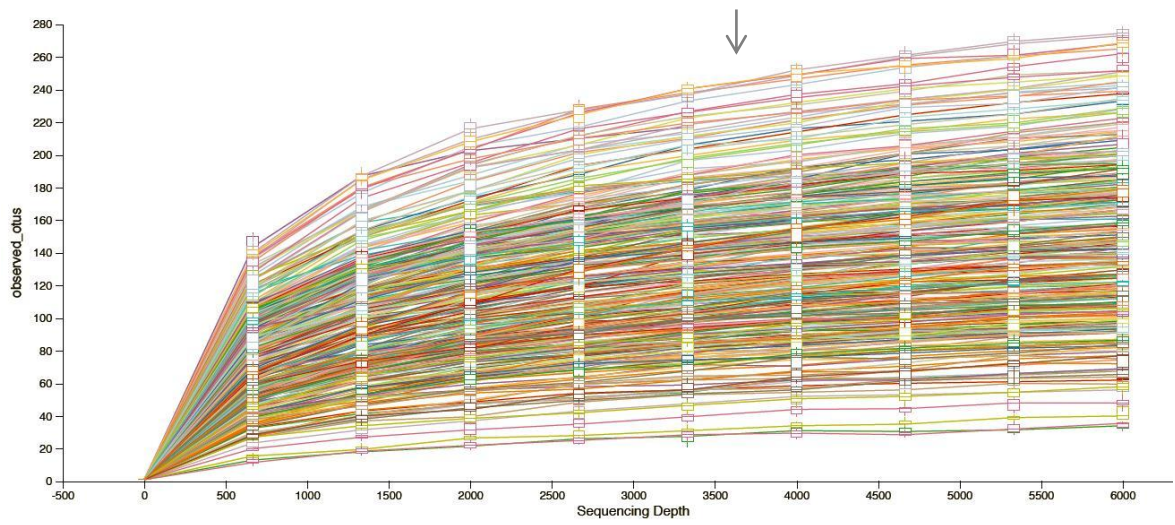


Figure S3. Alpha rarefaction curves indicating 4000 reads as the chosen sampling depth for analysis.

Table S1. Water quality parameters agricultural ponds in Santa Catarina state, southern Brazil. COD = chemical oxygen demand; N = nitrogen; MPN = most probable number; T = temperature.

Slurry	Sampling pond	Coordinates Lat./long.	COD mg/L	Phosphate mg/L	N Ammoniacal mg/L	Total N mg/L	Coliforms MPN/100 mL	pH	T water (°C)	T air (°C)
present	1	26°31'44.0"S; 53°34'13.6"W	91	1.1	3.8	27	11000	7.53	19.4	24.8
present	2	26°46'38.8"S; 53°41'16.4"W	114	2	2.5	10	1500	6.85	23.8	28.4
present	3	26°46'52.6"S; 53°37'31.3"W	203	4.3	8.9	18	24000	6.63	19.3	24.4
present	4	26°46'40.8"S; 53°40'47.0"W	203	4.3	8.9	18	24000	6.63	17.3	20.1
present	5	26°47'05.5"S; 53°32'16.7"W	63	1.1	6.4	32	24000	6.57	21.5	26.3
present	6	26°47'09.8"S; 53°08'00.2"W	88	2	1.7	8	24000	7	18	21
present	7	26°47'19.7"S; 53°41'32.3"W	103	3.5	1.7	8	24000	6.38	18.9	24
present	8	26°50'12.8"S; 53°15'07.8"W	745	0.7	3.6	151	2100	6.7	19	23.6
present	9	26°53'29.1"S; 53°13'34.8"W	120	11	2.9	8	2100	6.8	20.3	22.8
present	10	26°54'39.6"S; 53°15'45.8"W	76	0.1	3.1	29	24000	6.59	18.6	24.1
absent	1	26°31'51.5"S; 53°32'12.1"W	61	4.2	7.3	8	30	6.22	21.1	22.8
absent	2	26°35'44.3"S; 53°30'33.4"W	66	0.08	2.5	21	90	6.78	18.3	21.6
absent	3	26°42'25.6"S; 53°06'35.9"W	69	11.8	7.3	9	240	7.45	19	20.8
absent	4	26°44'11.7"S; 53°08'08.9"W	68	0.11	1.8	11	430	7.91	18.6	21.6
absent	5	26°44'26.5"S; 53°32'37.7"W	61	0.1	5	10	40	8.03	20.1	22.6
absent	6	26°45'33.8"S; 53°29'55.1"W	62	0.07	1.4	21	40	6.56	18.1	23.4
absent	7	26°47'56.5"S; 53°31'20.3"W	58	0.06	5.1	7	60	6.25	20.6	22.9

absent	8	26°47'57.9"S; 53°24'07.1"W	92	1.2	2	6	30	10.03	23	24.8
absent	9	26°42'25.6"S; 53°06'35.9"W	61	1.1	2.6	13	30	7.46	21.1	23.1
absent	10	26°50'54.8"S; 53°12'49.6"W	65	0.08	2.8	21	30	6.94	18.9	21.6

Table S2. Results of linear discriminant analysis effect size (LEfSe) analysis. Differentially abundant OTUs in frog skin microbiome for slurry-present and slurry-absent ponds. Some OTUs could not be identified to all taxonomic ranks.

Phylum	Class	Order	Family	Genus	Species	Slurry	LDA score	<i>p</i>
Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Corynebacteriaceae	<i>Corynebacterium</i>	<i>variabile</i>	present	3.05785223	0.000237157
Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Microbacteriaceae			absent	3.114387216	2.10E-10
Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Microbacteriaceae	<i>Microbacterium</i>	<i>maritypicum</i>	absent	3.145077597	4.78E-08
Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Pseudonocardiaceae	<i>Actinomycetospora</i>		absent	3.235335646	4.49E-09
Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Sanguibacteraceae	<i>Sanguibacter</i>		absent	3.244433757	2.03E-13
Bacteroidetes	Cytophagia	Cytophagales	Cytophagaceae	<i>Emticicia</i>		present	3.354991567	5.09E-06
Bacteroidetes	Flavobacteriia	Flavobacteriales	[Weeksellaceae]	<i>Chryseobacterium</i>		absent	3.016169417	6.85E-05
Bacteroidetes	Flavobacteriia	Flavobacteriales	[Weeksellaceae]	<i>Chryseobacterium</i>		present	3.482061717	4.58E-12
Bacteroidetes	Flavobacteriia	Flavobacteriales	[Weeksellaceae]	<i>Elizabethkingia</i>		present	3.208143757	3.23E-07
Bacteroidetes	Flavobacteriia	Flavobacteriales	[Weeksellaceae]	<i>Wautersiella</i>		present	3.147279749	7.44E-20
Bacteroidetes	Flavobacteriia	Flavobacteriales	Flavobacteriaceae	<i>Flavobacterium</i>		present	3.381959752	2.93E-33
Bacteroidetes	Flavobacteriia	Flavobacteriales	Flavobacteriaceae	<i>Flavobacterium</i>	<i>columnare</i>	present	3.023105144	2.27E-19
Bacteroidetes	Sphingobacteriia	Sphingobacteriales				absent	3.26198625	5.22E-05
Bacteroidetes	Sphingobacteriia	Sphingobacteriales				present	3.503713172	4.43E-15
Firmicutes	Bacilli	Lactobacillales	Streptococcaceae	<i>Lactococcus</i>		absent	3.15177385	1.54E-05
Firmicutes	Bacilli	Lactobacillales	Streptococcaceae	<i>Streptococcus</i>	<i>infantis</i>	absent	3.222632894	1.68E-10
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Caulobacterales	Caulobacteraceae			absent	3.041080059	9.43E-06
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Brucellaceae			absent	3.930516559	4.93E-19
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Methylobacteriaceae	<i>Methylobacterium</i>		absent	3.471481727	5.23E-12
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Methylobacteriaceae	<i>Methylobacterium</i>		absent	3.36701631	1.38E-12
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Methylobacteriaceae	<i>Methylobacterium</i>	<i>adhaesivum</i>	absent	3.199280032	1.61E-15
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Methylobacteriaceae	<i>Methylobacterium</i>	<i>komagatae</i>	absent	3.080877899	1.49E-10
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodospirillales	Acetobacteraceae	<i>Roseomonas</i>	<i>massiliensis</i>	absent	3.594839782	2.08E-18
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rickettsiales	Rickettsiaceae			absent	3.537817457	0.001129005
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rickettsiales	Rickettsiaceae			absent	3.238175844	0.025590877

Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Alcaligenaceae		absent	4.522963123	0.031136694
Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Alcaligenaceae		absent	3.201438491	0.000187214
Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Comamonadaceae		absent	3.973455347	1.91E-18
Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Comamonadaceae		present	3.068113505	2.66E-10
Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Comamonadaceae		present	3.042503071	1.22E-30
Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Comamonadaceae		present	3.235081848	4.22E-17
Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Comamonadaceae	<i>Acidovorax</i>	present	3.059993475	8.60E-22
Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Comamonadaceae	<i>Acidovorax</i>	present	3.035291806	4.69E-12
Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Comamonadaceae	<i>Aquabacterium</i>	present	4.208302165	1.03E-45
Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Comamonadaceae	<i>Comamonas</i>	absent	3.236924836	3.13E-08
Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Comamonadaceae	<i>Comamonas</i>	present	3.652934355	2.47E-10
Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Comamonadaceae	<i>Hydrogenophaga</i>	present	3.744374834	1.42E-22
Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Comamonadaceae	<i>Methylibium</i>	present	3.199699023	4.75E-26
Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Comamonadaceae	<i>Pelomonas</i>	present	3.678308721	2.89E-23
Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Oxalobacteraceae		present	3.144047703	3.64E-15
Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Oxalobacteraceae	<i>Janthinobacterium</i>	present	3.490099777	0.002995734
Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Oxalobacteraceae	<i>Massilia</i>	present	3.014673281	6.68E-15
Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Oxalobacteraceae	<i>Polynucleobacter</i>	present	3.178350242	1.97E-10
Proteobacteria	Betaproteobacteria	Neisseriales	Neisseriaceae	<i>Vogesella</i>	absent	3.181838736	3.70E-06
Proteobacteria	Betaproteobacteria	Rhodocyclales	Rhodocyclaceae	<i>Propionivibrio</i>	present	3.058715046	3.69E-06
Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Aeromonadales	Aeromonadaceae		present	3.206082424	8.01E-07
Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacteriales	Enterobacteriaceae		absent	4.146859706	4.59E-11
Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacteriales	Enterobacteriaceae		absent	3.330657656	2.99E-07
Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacteriales	Enterobacteriaceae		present	3.463100387	3.56E-10
Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacteriales	Enterobacteriaceae	<i>Pantoea</i>	absent	3.154244007	1.38E-11
Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pasteurellales	Pasteurellaceae	<i>Haemophilus</i> <i>parainfluenzae</i>	absent	3.073353445	1.24E-06

Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Moraxellaceae	<i>Acinetobacter</i>		present	4.423616551	2.21E-18
Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Moraxellaceae	<i>Acinetobacter</i>		present	3.709303529	2.94E-14
Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Moraxellaceae	<i>Acinetobacter</i>		absent	3.138551571	2.96E-05
Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Moraxellaceae	<i>Acinetobacter</i>		present	4.877696488	7.00E-13
Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Moraxellaceae	<i>Acinetobacter</i>		present	3.520957455	9.15E-10
Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Moraxellaceae	<i>Acinetobacter</i>		present	3.370427421	6.46E-12
Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Moraxellaceae	<i>Acinetobacter</i>	<i>guillouiae</i>	present	4.451756943	0.004767993
Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Moraxellaceae	<i>Acinetobacter</i>	<i>johnsonii</i>	present	3.528596539	4.36E-14
Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Moraxellaceae	<i>Acinetobacter</i>	<i>lwoffii</i>	present	4.264029559	1.22E-13
Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Moraxellaceae	<i>Perlucidibaca</i>		present	3.038621748	4.80E-07
Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Pseudomonadaceae	<i>Pseudomonas</i>		absent	3.187056736	1.46E-05
Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Pseudomonadaceae	<i>Pseudomonas</i>		absent	3.352998693	0.003085897
Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Pseudomonadaceae	<i>Pseudomonas</i>	<i>fragi</i>	absent	4.764588259	4.96E-13
Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Pseudomonadaceae	<i>Pseudomonas</i>	<i>veronii</i>	absent	3.065452706	4.88E-13
Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Pseudomonadaceae	<i>Pseudomonas</i>	<i>viridiflava</i>	absent	3.735402349	0.001021978
Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	<i>Stenotrophomonas</i>		absent	4.515286187	1.03E-15
Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	<i>Stenotrophomonas</i>	<i>acidaminiphila</i>	present	3.275474125	1.36E-09

Table S3. Results of analysis of composition of microbiomes (ANCOM) analysis. Differentially abundant OTUs in frog skin microbiome for slurry-present and slurry-absent ponds. Some OTUs could not be identified to all taxonomic ranks.

Phylum	Class	Order	Family	Genus	Species	Slurry absent			Slurry present			W score
						0 pctl	50 pctl	100 pctl	0 pctl	50 pctl	100 pctl	
Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Corynebacteriaceae	<i>Corynebacterium</i>				1	2.5	45	345	
Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Dietziaceae	<i>Dietzia</i>				1	1	44	289	
Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Geodermatophilaceae	<i>Actinotelluria</i>	<i>brasiliensis</i>			1	1	4	339	
Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Kineosporiaceae	<i>Kineococcus</i>				1	1	3	309	
Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Kineosporiaceae	<i>Quadrisphaera</i>	<i>granulorum</i>			1	1	4	300	
Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Microbacteriaceae					1	2	30	333	
Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Microbacteriaceae	<i>Yonghaparkia</i>				1	1	6	343	
Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Pseudonocardiaceae	<i>Actinomycetospora</i>				1	1	5	338	
Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Sanguibacteraceae	<i>Sanguibacter</i>				1	2	156	360	
Bacteroidetes	Cytophagia	Cytophagales	Cytophagaceae	<i>Hymenobacter</i>				1	1	12	357	
Bacteroidetes	Flavobacteriia	Flavobacteriales	[Weeksellaceae]	<i>Cloacibacterium</i>				1	3	23	327	
Bacteroidetes	Flavobacteriia	Flavobacteriales	[Weeksellaceae]	<i>Wautersiella</i>				1	3	1101	336	
Bacteroidetes	Flavobacteriia	Flavobacteriales	Cryomorphaceae	<i>Fluviicola</i>				1	1	184	291	
Bacteroidetes	Flavobacteriia	Flavobacteriales	Flavobacteriaceae					1	1	177	282	
Bacteroidetes	Flavobacteriia	Flavobacteriales	Flavobacteriaceae	<i>Flavobacterium</i>				1	14.5	344	361	
Bacteroidetes	Flavobacteriia	Flavobacteriales	Flavobacteriaceae	<i>Flavobacterium</i>	<i>columnare</i>			1	1	173	286	
Bacteroidetes	Sphingobacteriia	Sphingobacteriales						1	10	507	350	
Bacteroidetes	Sphingobacteriia	Sphingobacteriales	Sphingobacteriaceae	<i>Sphingobacterium</i>				1	2	292	321	
Firmicutes	Bacilli	Lactobacillales	Streptococcaceae	<i>Streptococcus</i>				1	1	17	285	
Firmicutes	Bacilli	Lactobacillales	Streptococcaceae	<i>Streptococcus</i>	<i>alactolyticus</i>			1	1	29	294	
Firmicutes	Bacilli	Lactobacillales	Streptococcaceae	<i>Streptococcus</i>	<i>infantis</i>			1	1	258	328	
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Caulobacterales	Caulobacteraceae	<i>Brevundimonas</i>	<i>diminuta</i>			1	20.5	426	366	
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Caulobacterales	Caulobacteraceae	<i>Brevundimonas</i>	<i>vesicularis</i>			1	7	72	296	

Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Aurantimonadaceae		1	1	85	1	1	6	297
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Brucellaceae		1	64.5	343	1	6	326	373
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Methylobacteriaceae		1	2	172	1	1	6	321
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Methylobacteriaceae	<i>Methylobacterium</i>	1	8	725	1	3	30	359
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Methylobacteriaceae	<i>Methylobacterium adhaesivum</i>	1	4	210	1	1	7	357
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Methylobacteriaceae	<i>Methylobacterium komagatae</i>	1	3	214	1	1	7	339
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Methylobacteriaceae	<i>Methylobacterium organophilum</i>	1	1	97	1	1	2	314
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Methylocystaceae		1	1	173	1	1	6	339
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhodospirillales	Acetobacteraceae	<i>Roseomonas massiliensis</i>	1	27.5	164	1	3	77	372
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Sphingomonadales	Sphingomonadaceae	<i>Sphingomonas</i>	1	3	260	1	1	11	353
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Sphingomonadales	Sphingomonadaceae	<i>Sphingomonas</i>	1	6	303	1	2	65	348
Proteobacteria	Betaproteobacteria				1	1	2	1	2	17	294
Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Comamonadaceae		1	1	39	1	3	93	348
Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Comamonadaceae	<i>Acidovorax</i>	1	1	72	1	13	337	366
Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Comamonadaceae	<i>Aquabacterium</i>	1	1	35	1	63	879	376
Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Comamonadaceae	<i>Hydrogenophaga</i>	1	1	122	1	21	1382	373
Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Comamonadaceae	<i>Methylibium</i>	1	1	47	1	6.5	165	348
Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Comamonadaceae	<i>Pelomonas</i>	1	2	720	1	24.5	588	360
Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Comamonadaceae	<i>Rubrivivax</i>	1	1	483	1	8	52	299
Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Oxalobacteraceae		1	2	683	1	17.5	324	361
Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Oxalobacteraceae	<i>Massilia</i>	1	7	562	1	16	135	301
Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Oxalobacteraceae	<i>Polynucleobacter</i>	1	1	48	1	5	131	306
Proteobacteria	Betaproteobacteria	Neisseriales	Neisseriaceae	<i>Chromobacterium</i>	1	1	38	1	1	8	306
Proteobacteria	Betaproteobacteria	Rhodocyclales	Rhodocyclaceae	<i>Dechloromonas</i>	1	1	67	1	2	45	295
Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Alteromonadales	[Chromatiaceae]	<i>Rheinheimera</i>	1	1	28	1	2.5	89	301
Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacteriales	Enterobacteriaceae		3	98	2065	5	30.5	3412	336
Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Enterobacteriales	Enterobacteriaceae	<i>Pantoea</i>	1	8	415	1	2	79	339
Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Moraxellaceae		1	1	6	1	7	158	365
Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Moraxellaceae	<i>Acinetobacter</i>	1	11	1091	15	136	1567	375

Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Moraxellaceae	<i>Acinetobacter</i>		1	133.5	1794	10	698.5	2930	353
Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Moraxellaceae	<i>Acinetobacter</i>	<i>johnsonii</i>	1	1	506	1	18.5	508	346
Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Moraxellaceae	<i>Acinetobacter</i>	<i>lwoffii</i>	1	8	331	1	46	1799	351
Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Moraxellaceae	<i>Agitococcus</i>	<i>lubricus</i>	1	1	4	1	2	56	329
Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Moraxellaceae	<i>Perlucidibaca</i>		1	1	376	1	16	439	362
Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Pseudomonadaceae			1	1	279	1	7	61	318
Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Pseudomonadaceae	<i>Pseudomonas</i>	<i>alcaligenes</i>	1	1	101	1	2	157	295
Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Pseudomonadales	Pseudomonadaceae	<i>Pseudomonas</i>	<i>fragi</i>	1	570.5	2204	1	29	2038	366
Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	<i>Stenotrophomonas</i>		2	250	1336	1	21	905	371
Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	<i>Stenotrophomonas</i>	<i>acidaminiphila</i>	1	1	82	1	1	87	321

ACKNOWLEDGMENT

We thank Molly Bletz for assistance with the antifungal isolates database. Our study was carried out in accordance with the recommendations of the Ethics Committee for the Use of Animals at the University of Vale do Rio dos Sinos. Field collecting permits were provided by Sisbio/Brasil (#65049-1).

REFERENCES

- (1) Martin, L. B.; Hopkins, W. A.; Mydlarz, L. D.; Rohr, J.R. The effects of anthropogenic global changes on immune functions and disease resistance. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **2010**, 1195129-148, DOI: 10.1111/j.1749-6632.2010.05454x.
- (2) Newman, J. R. Effects of industrial air pollution on wildlife. *Biol. Conserv.* **1979**, 15 (3), 181-190, DOI: 10.1016/0006-3207(79)90039-9.
- (3) Vitousek, P. M.; Mooney, H. A.; Lubchenco, J.; Melillo, J. M. Human domination of Earth's ecosystems. *Science* **1997**, 277 (5325), 494-499, DOI: 10.1126/science.277.5325.494.
- (4) Scanes, C. G. Impact of Agricultural Animals on the Environment. In *Animals and Human Society*. Academic Press, 2018; pp 427-449.
- (5) van Elsas, J. D.; Chiurazzi, M.; Mallon, C. A.; Elhottová, D.; Křišťůfek, V.; Falcão-Salles, J. Microbial diversity determines the invasion of soil by a bacterial pathogen. *Proc. Natl. Acad. Sci., U. S. A.* **2012**, 109 (4), 1159-1164, DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.1109326109>.
- (6) Teng, Y.; Xu, Y.; Wang, X.; Christie, P. Function of Biohydrogen Metabolism and Related Microbial Communities in Environmental Bioremediation. *Front. Microbiol.* **2019**, 10, 106, DOI: 10.3389/fmicb.2019.00106.
- (7) Davidson, C.; Shaffer, H. B.; Jennings, M. R. Spatial tests of the pesticide drift, habitat destruction, UV-B, and climate-change hypotheses for California amphibian declines. *Conserv. Biol.* **2002**, 16, 1588-1601, DOI: 10.1046/j.1523-1739.2002.01030.x.
- (8) 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* **2008**, 455 (7217), 1235-1239, DOI: <https://doi.org/10.1038/nature07281>.
- (9) 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. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* **2012**, 20 (2), 601-611, DOI: 10.1007/s11356-012-1160-1.

(10) Ghose, S. L.; Donnelly, M. A.; Kerby, J.; Whitfield, S. M. Acute toxicity tests and meta-analysis identify gaps in tropical ecotoxicology for amphibians. *Environ. Toxicol. Chem.* **2014**, 33 (9), 2114-2119. <https://doi.org/10.1002/etc.2665>.

(11) 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* **2019**, 1-10, DOI: 10.1007/s13157-019-01207-1.

(12) IUCN The IUCN Red List of Threatened Species). 2020. Version 2020-1. (<http://www.iucnredlist.org>) (Accessed March 13, 2020).

(13) Lambert, M. R. K. Environmental effects of heavy spillage from a destroyed pesticide store near Hargeisa (Somaliland) assessed during the dry season, using reptiles and amphibians as bioindicators. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* **1997**, 32 (1), 80-93, DOI: <https://doi.org/10.1007/s002449900158>.

(14) Schiesari, L.; Grillitsch, B, Grillitsch, H. Biogeographic biases in research and their consequences for linking amphibian declines to pollution. *Conserv. Biol.* **2007**, 21 (2), 465-471, DOI: 10.1111/j.1523-1739.2006.00616.x.

(15) Reeves, R. A.; Pierce, C. L, Vandever, M. W.; Muths, E.; Smalling, K. L. Amphibians, Pesticides, and the Amphibian Chytrid Fungus in Restored Wetlands in Agricultural Landscapes. *Herpetol. Conserv. Bio.* **2017**, 12 (1), 68-77.

(16) Islam, A.; Malik, M. F. Impact of Pesticides on Amphibians: A Review. *J Toxicol. Anal.* **2018**, 1 (2), 3.

(17) McCoy, K. A.; Peralta. A. L. Pesticides could alter amphibian skin microbiomes and the effects of *Batrachochytrium dendrobatidis*. Special Issue: Ecology of Amphibian-Microbial Symbioses. *Front. Microbiol.* **2018**, 9, 748, DOI: 10.3389/fmicb.2018.00748.

(18) Johnson, P. T. J.; Lunde, K. B.; Thurman, E. M.; Ritchie, E. G.; Wray, S, N.; Sutherland, D. R.; Kapfer, J. M.; Frest, T. J.; Bowerman, J.; Blaustein, A. R. Parasite (*Ribeiroia ondatrae*) infection linked to amphibian malformations in the western United States. *Ecol. Monogr.* **2002**, 72 (2),151-168, DOI: 10.2307/3100022.

(19) Paull, S. H.; Johnson, P. T. J. High temperature enhances host pathology in a snail-trematode system: possible consequences of climate change for the emergence of disease. *Freshw. Biol.* **2011**, 56 (4), 767-778, DOI: 10.1111/j.1365-2427.2010.02547.x.

- (20) Johnson, P. T. J.; Carpenter, S. R. Influence of eutrophication on disease in aquatic ecosystems: patterns, processes, and predictions. In *Infectious Disease Ecology: Effects of Ecosystems on Disease and of Disease on Ecosystems*; Ostfeld, R. S.; Keesing, F.; Eviner, V. T. Princeton University Press, Princeton, 2007; pp 71-99.
- (21) Johnson, P. T. J.; Chase, J. M.; Dosch, K. L.; Hartson, R. B.; Gross, J. A.; Larson, D. J.; Sutherland, D. R.; Carpenter, S. R. Aquatic eutrophication promotes pathogenic infection in amphibians. *Proc. Natl. Acad. Sci., U. S. A.* **2007**, *104* (40),15781-15786, DOI: 10.1073/pnas.0707763104.
- (22) Tylianakis, J. M.; Hidham, R. K.; Bascompte, J.; Wardle, D. A. Global change and species interactions in terrestrial ecosystems. *Ecol. Lett.* **2008**, *11*(12), 1351-1363, DOI: 10.1111/j.1461-0248.2008.01250x.
- (23) Mann, R. M.; Hyne, R. V.; Choung, C. B.; Wilson, S. P. Amphibians and agricultural chemicals: review of the risks in a complex environment. *Environ. Pollut.* **2009**, *157* (11), 2903-2927, DOI: 10.1016/j.envpol.2009.05.015.
- (24) Reeves, R. A.; Pierce, C. L.; Vandever, M. W, Muths E.; Smalling, K. L. Amphibians, Pesticides, and the Amphibian Chytrid Fungus in Restored Wetlands in Agricultural Landscapes. *Herpetol. Conserv. Bio.* **2017**, *12* (1), 68-77.
- (25) Hof, C.; Araújo, M. B.; Jetz, W.; Rahbek, C. 2011. Additive threats from pathogens, climate and land-use change for global amphibian diversity. *Nature* **480**, (7378), 516-519, DOI: 10.1038/nature10650.
- (26) Scheele, B. C.; Pasmans, F.; Skerratt, L. F.; Berger, L.; Martel, A.; Beukema, W.; Acevedo, A. A.; Burrowes, P. A.; Carvalho T.; Catenazzi, A.; De la Riva, I.; Fisher, M. C.; Flechas, S. V.; Foster, C. N.; Frías-Álvarez, P.; Garner, T. W. J.; Gratwicke, B.; Guayasamin, J. M.; Hirschfeld, M.; Kolby, J. E.; Kosch, T. A.; La Marca, E.; Lindenmayer, D. B.; Lips, K.; R.; Longo, A. V.; Maneyro, R.; McDonald, C. A.; Mendelson, J.; Palacios-Rodriguez, P.; Parra-Olea, G.; Richards-Zawacki, C. L.; Rödel M. O.; Rovito, S. M.; Soto-Azat, C.; Toledo, L.F.; Voyles, J.; Weldon, C.; Whitfield, S. M.; Wilkinson, M.; Zamudio, K. R. Canessa, S. 2019. Amphibian fungal panzootic causes catastrophic and ongoing loss of biodiversity. *Science* **363**, (6434), 1459-1463, DOI: 10.1126/science. aav0379.
- (27) Wise, R. S.; Rumschlag, S. L.; Boone, M. D. Effects of amphibian chytrid fungus exposure on American toads in the presence of an insecticide. *Enviorn. Toxicol. Chem.* **2014**, *33* (11), 2541-2544, DOI: 10.1002/etc.2709.
- (28) Gaietto, K. M.; Rumschlag, S. L.; Boone, M. D. Effects of pesticide exposure and the amphibian chytrid fungus on gray treefrog (*Hyla chrysoscelis*) metamorphosis. *Environ. Toxicol. Chem.* **2014**, *33* (10), 2358-2362, DOI: 10.1890/10-2319.1.

- (29) Jones, D. K.; Dang, T. D.; Urbina, J.; Bendis, R. J.; Buck, J. C.; Cothran, R. D.; Blaustein, A. R.; Relyea, R. A. Effect of Simultaneous Amphibian Exposure to Pesticides and an Emerging Fungal Pathogen, *Batrachochytrium dendrobatidis*. *Environ. Sci. Technol.* **2017**, *51* (1), 671-679, DOI: 10.1021/acs.est.6b06055.
- (30) Rohr J.R.; Brown, J.; Battaglin, W. A.; McMahon, T. A.; Relyea, R. A. A pesticide paradox: fungicides indirectly increase fungal infections. *Ecol. Appl.* **2017**, *27* (8), 2290-2302, DOI: 10.1002/eap.1607.
- (31) FAO Food and Agriculture Organization of the United Nations. World Livestock: Transforming the livestock sector through the Sustainable Development Goals. Rome. 222 pp. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO. 2018. (<http://www.fao.org/3/y4252e/y4252e07.htm>) (accessed January 17, 2020).
- (32) Corrêa, R. M.; Nascimento, C. W. A.; Rocha, A. T. Adsorção de fósforo em dez solos do Estado de Pernambuco e suas relações com parâmetros físicos e químicos. *Acta Sci. Agron.* **2011**, *33* 153-159, DOI: 10.4025/actasciagron. v33i1.3129.
- (33) Fernandes, N. M.; Sartini, B.; Dias, R. J.; D'Agosto, M. Quantitative study of *Trichodina heterodentata* (Ciliophora: Mobilialia) infrapopulations infesting tadpoles of a Brazilian endemic toad *Rhinella pombali* (Anura: Bufonidae). *Zoologia* **2011**, *28* (6), 777-783, DOI: 10.1590/S1984-46702011000600011.
- (34) Martins, M. L.; Cardoso, L.; Marchiori, N. C.; Pádua, S. B.; Protozoan infections in farmed fish from Brazil: diagnosis and pathogenesis. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.* **2015**, *24* (1), 1-20, DOI: 10.1590/S1984-29612015013.
- (35) Tripathi, S. D.; Mishra, D. N. Synergistic approach in carp polyculture with grass carp as a major component. *Aquaculture*, **1986**, *54* (1), 157-160, DOI: 10.1016/0044-8486(86)90268-1.
- (36) Sharma, B. K.; Olah, J. Integrated fish-pig farming in India and Hungary. *Aquaculture* **1986**, *54* (1), 135-139, DOI: 10.1016/0044-8486(86)90265-6.
- (37) Sharma B. K. Integrated fish farming-various possibilities and economic consideration. In *Techniques of Aquaculture Management in Large Water Bodies*; CIFA (ICAR), Bhubaneswar, India, 1990; pp 66-76.
- (38) Javed, M.; Sial, M. B.; Zafar, S. A. Fish Pond fertilization. II. Influence of broiler manure fertilization on the growth performance of major carps. *J. Agric. Sci.* **1990**, *27* (3), 212-215.
- (39) Dhawan, A.; Kaur, S. Effect of pig dung on water quality and polyculture of carp species during winter and summer. *Aquac. Int.* **2002**, *10*, 297-307.

- (40) Treece, G. D. Zooplankton Culture. In *Stickney*, Ed. Encyclopedia of Aquaculture, Wiley J.; Sons, New York 2000; pp 1037-1044.
- (41) Edwards, P. Pigs over Fish-Ponds. *Pig International*, **1985**, *15*, 8-10.
- (42) Knutson, M. G.; Richardson, W. B.; Reineke, D. M.; Gray, B. R.; Parmelee, J. R.; Weick, S. E. Agricultural ponds support amphibian populations. *Ecol. Appl.* **2004**, *14*, 669-684, DOI: 10.1016/j.biocon.2008.03.00510.1890/02-5305.
- (43) Herzon, I.; Helenius, J. Agricultural drainage ditches, their biological importance and functioning. *Biol. Conserv.* **2008**, *141*, 1171-1183, DOI: 10.1016/j.biocon.2008.03.005.
- (44) Kueneman, J. G.; Parfrey, L. W.; Woodhams, D. C.; Archer, H. M.; Knight, R., McKenzie, V. J. The amphibian skin-associated microbiome across species, space and life history stages. *Mol. Ecol.* **2014**, *23* (6), 1238-1250, DOI: 10.1111/mec.12510.
- (45) Bletz, M. C.; Goedbloed, D. J.; Sanchez, E.; Reinhardt, T.; Tebbe, C. C.; Bhujju, S. Amphibian gut microbiota shifts differentially in community structure but converges on habitat-specific predicted functions. *Nat. Commun.* **2016**, *7*, 1-12, DOI: 10.1038/ncomms13699.
- (46) Prado-Irwin, S. R.; Bird, A. K.; Zink, A. G.; Vredenburg, V. T. Intraspecific variation in the skin-associated microbiome of a terrestrial salamander. *Microb. Ecol.* **2017**, *74* (3), 745-756, DOI: 10.1007/s00248-017-0986-y.
- (47) Harris, R. N.; Brucker, R. M.; Walke, J. B.; Becker, M. H.; Schwantes, C. R.; Flaherty, D. C.; Lam, B. A.; Woodhams, D. C.; Briggs, C. J.; Vredenburg, V. T.; Minbiole, K. P. Skin microbes on frogs prevent morbidity and mortality caused by a lethal skin fungus. *ISME J.* **2009**, *3* (7), 818-824, DOI:10.1038/ismej.2009.27.
- (48) Becker, M. H. Harris, R. N. Cutaneous bacteria of the Redback salamander prevent morbidity associated with a lethal disease. *PLoS One* **2010**, *5* (6), 1-6, DOI: 10.1371/journal.pone.0010957.
- (49) Flechas, S. V.; Sarmiento, C.; Cardenas, M. E.; Medina, E. M.; Restrepo, S.; Amezcua, A. Surviving chytridiomycosis: differential anti-*Batrachochytrium dendrobatidis* activity in bacterial isolates from three lowland species of Atelopus. *PLoS One* **2012**, *7* (9), e44832, DOI: 10.1371/journal.pone.0044832.
- (50) Becker, M. H.; Walke, J.B.; Murrill, L.; Woodhams, D. C. Reinert, L. K.; Rollins-Smith, L. A.; Burzynski E. A.; Umile, T. P.; Minbiole, K. P.; Belden, L. K. Phylogenetic distribution of symbiotic bacteria from Panamanian amphibians that inhibit growth of the lethal fungal pathogen *Batrachochytrium dendrobatidis*. *Mol. Ecol.* **2015**, *24* (7), 1628-1641, DOI: 10.1111/mec.13135.

- (51) Woodhams, D. C.; Alford, R. A.; Antwis, R. E.; Archer, H.; Becker, M. H.; Lisa, L.; Bell S. C.; Bletz, M.; Daskin, J. H.; Davis, L. R.; Flechas, S. V.; Gonzalez, L. A. A.; Harris, R. N.; Holden, W. M.; Hughey, M. C.; Ibáñez, R.; Knight, R.; Kueneman, J.; Rabemananjara, F.; Reinert, L. K.; Rollins-Smith L. A.; Roman-Rodriguez, F.; Shaw, S. D.; Walke, J. B.; McKenzie, V. Antifungal isolates database of amphibian skin-associated bacteria and function against emerging fungal pathogens. *Ecology* **2015**, *96* (2), 595-595, DOI: 10.1890/14-1837.
- (52) Becker, M. H.; Brucker, R. M.; Schwantes, C. R.; Harris, R. N.; Minbiole, K. P. C. The bacterially produced metabolite violacein is associated with survival of amphibians infected with a lethal fungus. *Appl. Environ. Microbiol.* **2009**, *75* (21), 6635-6638, DOI: 10.1128/AEM.01294-09.
- (53) Rollins-Smith, L. A.; Reinert, L. K.; O'leary, C. J.; Houston, L. E.; Woodhams, D. C. Antimicrobial peptide defenses in amphibian skin. *Integr. Comp. Biol.* **2005**, *45* (1):137-142, DOI: 10.1093/icb/45.1.137.
- (54) 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. *Integr. Comp. Biol.* **2011**, *51* (4), 552-562, DOI:10.1093/icb/icr095.
- (55) Kline, D. I.; Kuntz, N. M.; Breitbart, M.; Knowlton, N.; Rohwer, F. Role of elevated organic carbon levels and microbial activity in coral mortality. *Mar. Ecol Prog. Ser.* **2006**, *314*, 119-125, DOI: 10.3354/meps314119.
- (56) Zhou, H. Y.; Cheung, R. Y. H.; Wong, M. H. Bioaccumulation of organochlorines in freshwater fish with different feeding modes cultured in treated wastewater. *Water Resour.* **1999**, *33* (12), 2747-2756, DOI:10.1016/S0043-1354(98)00506-5.
- (57) Bletz, M. C.; Kelly, M.; Sabino-Pinto, J.; Bales, E.; Van Praet, S.; Bert, W. Disruption of skin microbiota contributes to salamander disease. *Proc. R. Soc. B.* **2018**, *85* (1885), 20180758, DOI: 10.1098/rspb.2018.0758.
- (58) Castellani, D.; Abimorad, E. G. *Sistemas integrados em aquicultura*. Pesquisa e Tecnologia. São Paulo, 2012.
- (59) Testa, V. M.; Nadal, R. de.; Mior, L. C.; Baldiserra, I. T.; Cortina, N. *O desenvolvimento sustentável do Oeste Catarinense (Proposta para discussão)*. Florianópolis: EPAGRI, 1996.
- (60) Peel, M. C.; Finlayson, B. L.; McMahon, T. A. Updated world map of the Köppen-Geiger climate classification. *Hydrol Earth Syst. Sci.* **2007**, *11*, 1633-1644, DOI:10.1021/es401725s.

- (61) IBGE Instituto Brasileiro de Estatística. Censo Agropecuário 2017 (https://censoagro2017.ibge.gov.br/templates/censo_agro/resultadosagro/pdf/SC.pdf) (accessed January 17, 2020).
- (62) Heyer, W. R.; Donnelly, M. A.; McDiarmid, R.W.; Hayek, L. C.; Foster, M. S. *Measuring and monitoring biological diversity: standard methods for amphibians*. Smithsonian Institution Press, Washington and London, 1994.
- (63) Hyatt, A. D.; Boyle, D. G.; Olsen, V.; Boyle, D. B.; Berger, L.; Obendorf, D.; Dalton, A.; Kriger, K.; Hero, M.; Hines, H.; Phillott, R.; Campbell, R.; Marantelli, G.; Gleason, F.; Colling, A. Diagnostic assays and sampling protocols for the detection of *Batrachochytrium dendrobatidis*. *Dis. Aquat. Org.* **2007**, *73* (3), 175–192, DOI: 10.3354/dao073175.
- (64) APHA American Public Health Association. Standard methods for the examination of water and Wastewater, 21st ed. Washington, 2005.
- (65) Boyle, D. G.; Boyle, D. B.; Olsen, V.; Morgan, J. A. T.; Hyatt, A. D. Rapid quantitative detection of chytridiomycosis (*Batrachochytrium dendrobatidis*) in amphibian samples using real-time Taqman PCR assay. *Dis. Aquat. Organ.* **2004**, *60* (2), 141-148, DOI:10.1038/s41587-019-0252-6.
- (66) Caporaso, J. G.; Kuczynski, J.; Stombaugh, J.; Bittinger, K.; Bushman, F. D.; Costello, E. K.; Fierer, N.; Peña, A. G.; Goodrich, J. K.; Gordon, J. I.; Huttley, G. A.; Kelley, S. T.; Knights, D.; Koenig, J. E.; Ley, R. E.; Lozupone, C. A.; McDonald, D.; Muegge, B. D.; Pirrung, M.; Reeder, J.; Sevinsky, J. R.; Turnbaugh, P. J.; Walters, W. A.; Widmann, J.; Yatsunenko, T.; Zaneveld, J.; Knight, R. QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data. *Nat. Methods* **2010**, *7* (5), 335–336, DOI: 10.1038/nmeth.f.303.
- (67) Caporaso, J. G.; Lauber, C. L.; Walters, W. A.; Berg-Lyons, D.; Huntley, J.; Fierer, N.; Owens, S. M.; Betley, J.; Fraser, L.; Bauer, M.; Gormley, N.; Gilbert, J. A.; Smith, G.; Knight, R. 2012. Ultra-high-throughput microbial community analysis on the Illumina HiSeq and MiSeq platforms. *ISME J.* **2010** (8), 1621–1624, DOI: 10.1038/ismej.2012.8.
- (68) Kozich, J. J.; Westcott, S. L.; Baxter, N. T.; Highlander, S. K.; Schloss, P. D. Development of a dual-index sequencing strategy and curation pipeline for analyzing amplicon sequence data on the MiSeq Illumina sequencing platform. *Appl. Environ. Microbiol.* **2013**, *79* (17), 5112-5120, DOI: 10.1128/AEM.01043-13.
- (69) Bolyen, E.; Rideout, J. R.; Dillon, M. R.; Bokulich, N. A.; Abnet, C. C.; Al-Ghalith, G. A. et al., Reproducible, interactive, scalable and extensible microbiome data science using QIIME 2. *Nat. Biotechnol.* **2019**, *37* (9), 852-857, DOI:10.3354/dao060141.

- (70) Amir, A.; McDonald, D.; Navas-Molina, J. A.; Kopylova, E.; Morton, J. T.; Xu, Z. Z.; Kightley, E. P.; Thompson, L. R.; Hyde, E. R.; Gonzalez, A.; Knight R. Deblur rapidly resolves singlenucleotide community sequence patterns. *mSystems* **2017**, *2* (2), 1-7, DOI:10.1128/mSystems.00191-16.
- (71) Katoh, K.; Misawa, K.; Kuma, K.; Miyata, T. MAFFT: a novel method for rapid multiple sequence alignment based on fast Fourier transform. *Nucleic. Acid.* **2002**, *30* (14), 3059-3066, DOI:10.1093/nar/gkf436.
- (72) Price, M. N.; Dehal, P. S.; Arkin, A. P. FastTree 2— approximately maximum-likelihood trees for large alignments. *PLoS One* **2010**, *5* (3), e9490, PMID: 20224823, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0009490>.
- (73) DeSantis, T. Z.; Hugenholtz, P.; Larsen, N.; Rojas, M.; Brodie, E. L.; Keller, K. Greengenes, a chimera-checked 16S rRNA gene database and workbench compatible with ARB. *Appl. Environ. Microbiol.* **2006**, *72* (7), 5069-5072, DOI: 10.1128/AEM.03006-05.
- (74) McDonald, D.; Price, M. N.; Goodrich, J.; Nawrocki, E. P.; Desantis, T. Z.; Probst, A.; Andersen, G. L.; Knight, R.; Hugenholtz, P. An improved Greengenes taxonomy with explicit ranks for ecological and evolutionary analyses of bacteria and archaea. *ISME Journal* **2012**, *6* (3), 610-618, DOI: 10.1038/ismej.2011.139.
- (75) Bokulich, N. A.; Kaehler, B. D.; Rideout, J. R.; Dillon, M.; Bolyen, E.; Knight, R.; Huttley, G. A., Caporaso J. G. Optimizing taxonomic classification of marker-gene amplicon sequences with QIIME 2's q2-feature-classifier plugin. *Microbiome* **2018**, *6* (1), 1-17, DOI:10.1186/s40168-018-0470-z.
- (76) Bokulich, N. A.; Subramanian, S.; Faith, J. J.; Gevers, D.; Gordon, J. I.; Knight, R.; Mills, D. A.; Caporaso, J. G. Quality-filtering vastly improves diversity estimates from Illumina amplicon sequencing. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2013**, *10* (1), 57-59, DOI: 10.1038/nmeth.2276.
- (77) Faith, D. P. Conservation evaluation and phylogenetic diversity. *Biol. Conserv.* **1992**, *61*, 1-10, DOI:10.1016/0006-3207(92)91201-3.
- (78) Rebollar, E. A.; Hughey, M. C.; Medina, D.; Harris, R. N.; Ibáñez, R.; Belden, L. K. Skin bacterial diversity of Panamanian frogs is associated with host susceptibility and presence of *Batrachochytrium dendrobatidis*. *ISME J.* **2016**, *10* (7), 1682-1695, DOI:10.1038/ismej.2015.234.
- (79) Becker, C. G.; Longo, A. V.; Haddad, C.F. B.; Zamudio, K. R.; Land cover and forest connectivity alter the interactions among host, pathogen and skin microbiome. *Proc. R. Soc. B.* **2017**, *284* (1861), 20170582, DOI: 10.1098/rspb.2017.0582.

- (80) Lozupone, C.; Knight, R. UniFrac: A new phylogenetic method for comparing microbial communities. *Appl. Environ. Microb.* **2005**, *71*, 8228-8235.
- (81) Lozupone, C.; Lladser M. E.; Knights D.; Stombaugh J.; Knight R. UniFrac: an effective distance metric for microbial community comparison. *The ISME Journal* **2011**, *5*, 169-172.
- (82) Oksanen, J.; Blanchet, F.; Kindt, R.; Legendre, P.; O'hara, R.; Simpson, G.; Solymos, P.; Stevens, M.; Wagner, H. vegan: community ecology package. R package version 2.4-1. 2016 (<https://CRAN.R-project.org/package=vegan>) (Accessed March 13, 2020).
- (83) R Core Team. R: a language and environment for statistical computing. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing 2018 ([https:// www.R-project.org/](https://www.R-project.org/)) (Accessed March 10, 2020).
- (84) Revell, L. J. phytools: An R package for phylogenetic comparative biology (and otherthings). *Methods Ecol. Evol.* **2012**, *3* (2), 217-223, DOI: 10.1111/j.2041-210X.2011.00169.x.
- (85) SAS Institute Inc. JMP[®], Version 14. Cary, NC, 1989-2019, 2016.
- (86) Haddad, C. F. B.; Toledo, L. F.; Prado, C. P. A.; Loebmann, D.; Gasparini, J. L.; Sazima, I. Guia dos Anfíbios da Mata Atlântica: Diversidade e Biologia. São Paulo, Editora Anolis Books, 2013.
- (87) Rohr, J. R.; Raffel, T. R. Linking global climate and temperature variability to widespread amphibian declines putatively caused by disease. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2010**, *107* (18), 8269-8274, DOI: 10.1073/pnas.0912883107.
- (88) Hua, J.; Wuerthner, V. P.; Jones, D. K.; Mattes, B.; Cothran, R. D.; Relyea, R. A.; Hoverman J.T. Evolved pesticide tolerance influences susceptibility to parasites in amphibians. *Evol. Appl.* **2017**, *10* (8), 802-812, DOI: 10.1111/eva.12500.
- (89) Hayes, T. B.; Case, P.; Chui, S.; Chung, D.; Haeffele, C.; Haston, K.; Lee, M.; Mai, V. P.; Marjua, Y.; Parker, J.; Tsui, M. Pesticide mixtures, endocrine disruption, and amphibian declines: Are we underestimating the impact? *Environ. Health Perspect.* **2006**, *114*, 40-50, DOI:10.1289/ehp.8051.
- (90) Martin, L. B.; Hopkins, W. A.; Mydlarz, L. D.; Rohr, J. R.; The effects of anthropogenic global changes on immune functions and disease resistance. *Ann. N.Y. Acad.Sci.* **2010**, 1195129-1195148, DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2010.05454.x>.
- (91) 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* **2008**, 455 (7217), 1235-1239, DOI: 10.1038/nature07281.

(92) Rohr, J. R.; Raffel, T. R.; Halstead, N. T.; McMahon, T. A.; Johnson, S. A.; Boughton, R. K.; Martin, L. B. Early-life exposure to a herbicide has enduring effects on pathogen-induced mortality. *Proc. R. Soc. B. Biol. Sci.* **2013**, 280 (1772), 20131502-20131502, DOI: 10.1098/rspb.2013.1502.

(93) Knutie, S. A.; Wilkinson, C. L.; Kohl, K. D.; Rohr, J. R., Early-life disruption of amphibian microbiota decreases later-life resistance to parasites. *Nat. Commun.* **2017**, 8 (1), 86, DOI: 10.1038/s41467-017-00119-0.

(94) Johnson, P.T.; Townsend, A. R.; Cleveland, C. C.; Glibert, P. M.; Howarth, R. W.; McKenzie, V. J.; Rejmankova E.; Ward M. H. Linking environmental nutrient enrichment and disease emergence in humans and wildlife. *Ecol. Appl.* **2010**, 20 (1), 16-29, DOI: 10.1890/08-0633.1.

(95) Bruno, J. F.; Petes, L. E.; Harvell, C. D.; Hettinger, A. Nutrient enrichment can increase the severity of coral diseases. *Ecol. Lett.* **2003**, 6 (2), 1056-1061, DOI: 10.1046/j.1461-0248.2003.00544.x.

(96) Voss J. D.; Richardson, L. L. Nutrient enrichment enhances black band disease progression in corals. *Coral Reefs.* **2006**, 25, 569-576, DOI: 10.1007/s00338-006-0131-8.

(97) McKenzie, V. J.; Townsend, A. R. Parasitic and infectious disease responses to changing global nutrient cycles. *EcoHealth* **2007**, 4 (4), 384-396. DOI: 10.1007/s10393-007-0131-3.

(98) Forson D.; Storfer, A. Effects of atrazine and iridovirus infection on survival and life-history traits of the long-toed salamander (*Ambystoma macrodactylum*). *Environ. Toxicol. Chem.* **2006**, 25 (1), 168-73, DOI: 10.1897/05-260r.1.

(99) Buck, J. C.; Rohr, J. R.; Blaustein, A. R. Effects of nutrient supplementation on host-pathogen dynamics of the amphibian chytrid fungus: a community approach. *Freshw Biol.* **2016**, 61 (1), 110-120, DOI: 10.1111/fwb.12685.

(100) Loudon, A. H.; Woodhams, D. C.; Parfrey, L. W.; Archer, H.; Knight, R.; McKenzie, V., Harris, R. N. Microbial community dynamics and effect of environmental microbial reservoirs on red-backed salamanders (*Plethodon cinereus*). *ISME J.* **2014**, 8 (4), 830-840, DOI: 10.1038/ismej.2013.200.

(101) Jani, A. J.; Briggs, C. J. Host and aquatic environment shape the amphibian skin microbiome but effects on downstream resistance to the pathogen *Batrachochytrium dendrobatidis* are variable. *Front. Microbiol.* **2018**, 9, 487, DOI: 10.3389/fmicb.2018.00487.

- (102) Hughey, M. C.; Sokol, E. R.; Walke J. B.; Becker, M. H.; Belden, L. K. Ecological Correlates of Large-Scale Turnover in the Dominant Members of *Pseudacris crucifer* Skin Bacterial Communities. *Microb. Ecol.* **2019**, 78 (4), 832-842, DO: 10.1007/s00248-019-01372-0.
- (103) Walker, W. A. 2016. Dysbiosis. In: *The microbiota in gastrointestinal pathophysiology: implications for human health, prebiotics, probiotics, and dysbiosis*. Floch MH, Ringel Y, Walker WA, ed, Academic Press, 227-232.
- (104) Wargo M. J.; Hogan, D. A. Fungal-bacterial interactions: a mixed bag of mingling microbes. *Curr. Opin. Microbiol.* **2006**, 9 (4), 359-364, DOI: 10.1016/j.mib.2006.06.001.
- (105) Vredenburg, V. T.; Briggs, C. J.; Harris, R. N. Hostpathogen dynamics of amphibian chytridiomycosis: the role of the skin microbiome in health and disease. In *Fungal Diseases: An Emerging Threat to Human, Animal, and Plant Health*. Olson, L.; Choffnes, E.; Relman, D.; Pray, L. Ed. National Academy Press: Washington, DC, USA, 2011; pp 342-355.
- (106) Becker, M. H.; Walke, J. B.; Murrill, L.; Woodhams, D. C.; Reinert, L. K.; Rollins-Smith, L. A.; Burzynski, E. A.; Umile, T. P.; Minbiole, K. P.; Belden, L. K. Phylogenetic distribution of symbiotic bacteria from Panamanian amphibians that inhibit growth of the lethal fungal pathogen *Batrachochytrium dendrobatidis*. *Mol. Ecol.* **2015**, 24 (7), 1628-1641, DOI: 10.1111/mec.13135.
- (107) Longo, A. V.; Savage, A. E.; Hewson, I.; Zamudio, K. R. Seasonal and ontogenetic variation of skin microbial communities and relationships to natural disease dynamics in declining amphibians. *R. Soc. Open. Sci.* **2015**, 2 (7), 140377, DOI:10.1098/rsos.140377.
- (108) Piovia-Scott, J.; Rejmanek, D.; Woodhams, D. C.; Worth, S. J., Kenny, H.; McKenzie, V, Lawler, S. P.; Foley, J. E. Greater Species Richness of Bacterial Skin Symbionts Better Suppresses the Amphibian Fungal Pathogen *Batrachochytrium dendrobatidis*. *Microb. Ecol.* **2017**, 74 (1), 217-226, DOI:10.1007/s00248-016-0916-4.
- (109) Bates, K, A.; Clare, F. C.; O'Hanlon, S.; Bosch, J, Brookes, L.; Hopkins, K.; McLaughlin, E. J. Daniel, O.; Garner, T. W. J.; Fisher, M. C.; Harrison, X. A. Amphibian chytridiomycosis outbreak dynamics are linked with host skin bacterial community structure. *Nat. Commun.* **2018**, 9 (1), 693, DOI:10.1038/s41467-018-02967-w.
- (110) Fitzpatrick, B. M.; Allison, A, L. Similarity and differentiation between bacteria associated with skin of salamanders (*Plethodon jordani*) and free-living assemblages. *FEMS Microbiol. Ecol.* **2014**, 88, (3), 482-494, DOI:10.1111/1574-6941.12314.

- (111) Jani, A. J.; Briggs, C. J.; The pathogen *Batrachochytrium dendrobatidis* disturbs the frog skin microbiome during a natural epidemic and experimental infection. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2014**, *111* (47), E5049-58, DOI:10.1073/pnas.1412752111.
- (112) Walke, J. B. Becker, M. H.; Loftus, S. C.; House, L. L.; Teotonio, T. L.; Minbiole, K. P. C.; Belden, L. K. Community structure and function of amphibian skin microbes: an experiment with bullfrogs exposed to a chytrid fungus. *PLoS One* **2015**, *10* (10), e0139848, DOI:https://doi.org/10.1371/journal.pone.0139848.
- (113) Schmeller, D. S.; Blooi, M., Martel, A.; Garner. T. W.; Fisher, M. C.; Azemar, F.; Clare, F. C.; Leclerc, C.; Jäger, L.; Guevara-Nieto, M.; Loyau, A.; Pasmans, F. Microscopic aquatic predators strongly affect infection dynamics of a globally emerged pathogen. *Curr. Biol.* **2014**, *24* (2), 176-180, DOI: https://doi.org/10.1016/j.cub.2013.11.032.
- (114) Zhao, L.; Dong, Y. H.; Wang, H. Residues of organochlorine pesticides and polycyclic aromatic hydrocarbons in farm-raised livestock feeds and manures in Jiangsu, China. *Sci. Total. Environ.* **2013**, *450-451*, 348-355, DOI: 10.1016/j.scitotenv.2012.09.017.
- (115) Hayes, T. B.; Falso, P.; Gallipeau, S.; Stice, M. The cause of global amphibian declines: a developmental endocrinologist 's perspective. *J. Exp. Biol.* **2010**, *213*, 921-933, DOI:10.1242/jeb.040865.
- (116) Buck, J. C.; Hua, J.; Brogan, W, R.; Dang, T. D.; Urbina, J. Bendis, R. J.; Stoler, A; B.; Blaustein, A. R.; Relyea. R.A. Effects of pesticide mixtures on host-pathogen dynamics of the amphibian chytrid fungus. *PLoS One* **2015**, *10* (7), e0132832, DOI: 10.1371/journal.pone.0132832.
- (117) Gahl, M. K.; Pauli, B. D.; Houlahan, J. E. Effects of chytrid fungus and a glyphosate-based herbicide on survival and growth of wood frogs (*Lithobates sylvaticus*). *Ecol. Appl.* **2011**, *21* (7), 2521-2529, DOI:10.1890/10-2319.1.
- (118) Hanlon, S. M.; Kerby, J. L.; Parris, M. J.; Unlikely remedy: fungicide clears infection from pathogenic fungus in larval southern leopard frogs (*Lithobates sphenoccephalus*). *PLoS One* **2012**, *7* (8), e43573, DOI: 10.1371/journal.pone.0043573.
- (119) Hanlon, S. M. Parris, M. J.; The impact of pesticides on the pathogen *Batrachochytrium dendrobatidis* independent of potential hosts. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* **2012**, *63* (1):137-143, DOI: 10.1007/s00244-011-9744-1.
- (120) Brown, J. R.; Miiller, T.; Kerby, J. L. The interactive effect of an emerging infectious disease and an emerging contaminant on Woodhouse's toad (*Anaxyrus woodhousii*) tadpoles. *Environ. Toxicol. Chem.* **2013**, *32* (9), 2003-2008, DOI: 10.1002/etc.2266.

- (121) McMahon, T. A.; Romansic, J. M.; Rohr, J. R. Nonmonotonic and monotonic effects of pesticides on the pathogenic fungus *Batrachochytrium dendrobatidis* in culture and on tadpoles. *Environ. Sci. Technol.* **2013**, *47* (14), 7958-7964, DOI: 10.1021/es401725s.
- (122) Hanlon, S. M. Parris, M. J. The interactive effects of chytrid fungus, pesticides, and exposure timing on gray treefrog (*Hyla versicolor*) larvae. *Environ. Toxicol. Chem.* **2014**, *33* (1), 216-222, DOI: 10.1890/10-2319.1.
- (123) Buck, J. C.; Scheessele, E. A.; Relyea, R. A.; Blaustein, A. R. The effects of multiple stressors on wetland communities: pesticides, pathogens and competing amphibians. *Freshw Biol.* **2012**, *57* (1), 61-73, DOI: 10.1111/j.1365-2427.2011.02695.x.
- (124) Edge, C. B.; Gahl, M. K.; Thompson, D. G. Houlahan, J. E. Laboratory and field exposure of two species of juvenile amphibians to a glyphosate-based herbicide and *Batrachochytrium dendrobatidis*. *Sci. Total Environ.* **2013**, *444*, 145-152, DOI: 10.1016/j.scitotenv.2012.11.045.
- (125) Rumschlag, S. L; Boone, M, D. How Time of Exposure to the Amphibian Chytrid Fungus Affects *Hyla chrysoscelis* in the Presence of an Insecticide. *Herpetologica* **2015**, *71* (3), 169-176, DOI: 10.1655/HERPETOLOGICA-D-13-00070.
- (126) Hasenbein, S.; Lawler S. P.; Geist J.; Connon, R. E. A long-term assessment of pesticide mixture effects on aquatic invertebrate communities. *Environ. Toxicol. Chem.* **2016**, *35* (1), 218-232, DOI: 10.1002/etc.3187.
- (127) Chang, C. W.; Huang, B. H.; Lin, S. M.; Huang, C.L.; Liao, P. C. Changes of diet and dominant intestinal microbes in farmland frogs. *BMC Microbiol.* **2016**, *16*, 33, DOI: 10.1186/s12866-016-0660-4.
- (128) Lopera Barrero, N. M.; Ribeiro, R. P.; Povh, J. A.; Vargas, L.; Streit Jr., D. P. Tilapicultura semi-intensiva em tanques: Alternativas de fertilizacao e producao - Revisao. *Arq. ciênc. vet. zool. UNIPAR*, **2006**, *9* (1): 67-76.
- (129) Mlejnková, H.; Sovová, K. Impact of fish pond manuring on microbial water quality. *Acta Univ. Agric. Silvic. Mendel. Brun.* **2011**, *LX* (14): 117-124.
- (130) Martins, L. A. P.; Millan, R. N.; Martins, E. S.; Santiago, A. F. Water quality of small fish ponds associated with swine culture. *Pan-Am. j. aquat.* **2018**, *13*, 93-101.
- (131) Amato, K. R.; Yeoman, C. J.; Kent, A.; Righini, N.; Carbonero, F.; Estrada, A.; Gaskins, H. R.; Stumpf, R, M.; Yildirim, S.; Torralba, M.; Gillis, M.; Wilson.; B. A.; Nelson. K. E.; White, B. A.; Leigh, S. R. Habitat degradation impacts black howler monkey (*Alouatta pigra*) gastrointestinal microbiomes. *ISME J.* **2013**, *7* (7), 1344-1353, DOI: 10.1038/ismej.2013.16.

(132) Amato, K. R.; Leigh, S. R.; Kent, A.; Mackie, R. I.; Yeoman, C. J.; Stumpf R. M. Wilson, B. A.; Nelson, K. E.; White, B. A., Garber, P. A. The gut microbiota appears to compensate for seasonal diet variation in the wild black howler monkey (*Alouatta pigra*). *Microb. Ecol.* **2015**, *69* (2), 434-443, DOI: 10.1007/s00248-014-0554-7.

(133) Barelli, C.; Albanese, D.; Donati, C.; Pindo, M.; Dallago, C.; Rovero, F.; Cavaliere, D.; Tuohy, K. M.; Hauffe, H. C.; De Filippo, C.; Habitat fragmentation is associated to gut microbiota diversity of an endangered primate: implications for conservation. *Sci. Rep.* **2015**, *5*, 14862, DOI: 10.1038/srep14862.

(134) Phillott, A. D.; Grogan, L. F.; Cashins, S. D.; McDonald, K. R.; Berger, L.; Skerratt, L. F. Chytridiomycosis and seasonal mortality of tropical stream-associated frogs 15 years after introduction of *Batrachochytrium dendrobatidis*. *Conserv. Biol.* **2013**, *27* (5): 1058-1068, DOI: 10.1111/cobi.12073.

(135) Pilliod, D. S.; Muths, E.; Scherer, R. D.; Bartelt, P. E.; Corn, P. S.; Hossack, B. R.; Lambert, B. A.; McCaffery, R.; Gaughan, C. Effects of amphibian chytrid fungus on individual survival probability in wild boreal toads. *Conserv. Biol.* **2010**, *24* (5), 1259-1268, DOI:10.1111/j.1523-1739.2010.01506x.

(136) Valenzuela-Sánchez, A.; Schmidt, B. R.; Uribe-Rivera, D. E.; Costas, F.; Cunningham, A. A.; Soto-Azat, C. Cryptic disease-induced mortality may cause host extinction in an apparently stable host-parasite system. *Proc. R. Soc. B. Biol. Sci.* **2017**, *284* (1863), 201711176, DOI:10.1098/rspb.2017.1176.

CAPITULO II

**Oásis ou armadilhas ecológicas? Como a configuração do habitat favorece o estabelecimento de anuros em lagoas artificiais em áreas convertidas da Mata Atlântica**

Jackson Fabio Preuss^{1,5}; Diego Anderson Dalmolin²; Diego Brum³; Elaine Maria Lucas⁴; Alexandro Marques Tozetti¹

¹ Laboratório de Ecologia de Vertebrados Terrestres, Universidade do Vale do Rio dos Sinos, Avenida Unisinos, 950 - Cristo Rei, São Leopoldo, Rio Grande do Sul, 93022-750, Brasil

² Laboratório de Metacomunidades, Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Avenida Paulo Gama, 110, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, 91501-970, Brasil

³ Vizlab / X-Reality and GeoInformatics Lab - Universidade do Vale do Rio dos Sinos, Sinos, Avenida Unisinos, 950 - Cristo Rei, São Leopoldo, Rio Grande do Sul, 93022-750, Brasil

⁴ Departamento de Zootecnia e Ciências Biológicas, Universidade Federal de Santa Maria, Campus de Palmeira das Missões, Avenida Independência, 3751, Vista Alegre, Palmeira das Missões, Rio Grande do Sul, 98300-000, Brasil

⁵ Autor para correspondência, e-mail: jackson_preuss@yahoo.com.br

Resumo - Lagoas artificiais podem atuar como importantes sítios reprodutivos para anuros, especialmente em habitats antropizados com baixa disponibilidade de locais para a reprodução. Mas a aptidão em oferecer oportunidades reprodutivas, e consequentemente, ajudar a manter populações de anuros, depende da configuração do habitat em que essas lagoas estão inseridas. Na tentativa de entender essa relação, nós avaliamos a diversidade de anfíbios, a configuração do habitat de entorno e parâmetros da água de dez lagoas artificiais no Sul no Brasil. As lagoas estão inseridas em áreas com longo e contínuo histórico de supressão da Mata Atlântica. Os parâmetros físico-químicos da água e a configuração do habitat de entorno das lagoas foram os elementos que mais explicaram a variação da diversidade de anuros. Todavia, a caracterização do ambiente do entorno teve papel predominante sobre as diferenças entre as comunidades. O nível de exposição do solo na área de entorno foi o componente que mais atuou sobre o componente de *turnover* da diversidade beta. Aventamos aqui que o processo de *turnover* de espécies seja uma consequência da simplificação da paisagem causada pela remoção da cobertura vegetal original (florestas), culminando na homogeneização biótica. Dentre os parâmetros da água, apenas a concentração de fosfato se mostrou relevante para a configuração das comunidades. Picos de fosfato podem ser derivados da contaminação por esgoto ou fertilizantes. Ambos os tipos de contaminações são factíveis de ocorrer na área de estudo, ainda que ela se caracterize pela baixa densidade populacional humana e cuja atividade econômica seja baseada em agricultura de pequena escala (familiar). Apesar do enorme potencial das lagoas artificiais na manutenção das comunidades de anuros regional estas podem estar atuando como armadilhas ecológicas e sua efetividade dependerá da presença de remanescentes florestais bem como da qualidade da água.

Palavras – chave: Lagoas; Anfíbios. Diversidade beta; Agricultura familiar.

INTRODUÇÃO

A conversão do habitat em paisagens antrópicas causa mudanças nas propriedades físicas, químicas e biológicas do ambiente, comprometendo sua função ecossistêmica e resultando em perda de biodiversidade (FRACETTO *et al.*, 2013; NEVES *et al.*, 2014). Mesmo se tratando de um fenômeno perceptível a olho nu, como no caso da supressão da cobertura vegetal, os impactos da perda de habitat podem ser investigados em diferentes escalas e por meio de diversos parâmetros. Em menor escala, quando são avaliadas as mudanças em poucas dezenas de metros quadrados, é possível detectar níveis locais do impacto da perda de habitat sobre as populações (WOOLBRIGHT 1985; PORTER *et al.*, 2000; KNUTSON *et al.*, 1999). A conversão de ambientes naturais em paisagens agrícolas é certamente uma das ameaças mais importantes para a diversidade biológica em todo o mundo e em especial na América do Sul (DÍAZ *et al.*, 2005; LEAL *et al.*, 2012; WANG *et al.*, 2015; ZEE e FUKAMI, 2015; ARROYO-RODRÍGUEZ *et al.*, 2016; ALMEIDA-GOMES *et al.*, 2019). Assim, compreender a relação entre a estrutura da paisagem e a biodiversidade nestes locais é uma questão urgente para a conservação (BENTON *et al.*, 2003; FAHRIG *et al.*, 2011). No Brasil, a conversão de habitats naturais em agricultura e pecuária é uma prática comum e constitui alguns dos grandes desafios à conservação (BROWDER *et al.*, 2008; FRACETTO *et al.*, 2013), devido a crescente demanda de novas áreas de cultivo/criação ou pela contaminação da água e do solo por seus resíduos (RUBBO e KIESECKER, 2005). Essas atividades agropecuárias estão intensamente presentes no domínio da Mata Atlântica, o que contribui para torná-la um bioma crítico quanto a ações de conservação (LAURANCE, 2009; ZACHOS e HABEL, 2011).

De modo geral, as modificações da paisagem afetam mais intensamente aqueles táxons com especificidade a certos habitats e que têm baixa capacidade de dispersão, como muitos anfíbios (STORFER, 2003; STUART *et al.*, 2004; CUSHMAN, 2006). Assim,

algumas espécies de anfíbios são especialmente vulneráveis às mudanças ambientais (STOATE *et al.*, 2009; BECKER *et al.*, 2010; ARNTZEN *et al.*, 2017). Diferenças geradas na estruturação do hábitat (VON MAY *et al.*, 2010) e/ou no grau de perturbação (BITAR *et al.*, 2015) podem induzir a mudanças na composição de espécies das comunidades, tanto pela perda de espécies quanto pela substituição de algumas delas. Além disso, o longo processo de transformação da paisagem da Mata Atlântica por séculos de ocupação humana, tem efeito homogeneizador da paisagem (dos SANTOS *et al.*, 2021), reduzindo a complexidade de habitats e, por sua vez, a riqueza de espécies (HAZELL *et al.*, 2001; OLDEN *et al.*, 2004; VASCONCELOS e ROSSA-FERES 2005; BITAR *et al.*, 2015).

As áreas agrícolas possuem habitats aquáticos onipresentes que são potencialmente valiosos para a vida selvagem. O impacto negativo causado pela poluição nestes locais será exacerbado se os animais não os reconhecerem como habitats de baixa qualidade, funcionando assim como armadilhas ecológicas (SIEVERS *et al.*, 2018 b). Uma armadilha ecológica ocorre quando um ambiente tem características que fazem com que animais prefiram habitar lá, mas que na verdade causam efeitos negativos em longo prazo nas populações desses animais (ROBERTSON e HUTO 2006).

Os anuros dependem não só destes habitats para abrigo e forrageio, como também de locais específicos para sua reprodução. Para muitas espécies, a presença de corpos hídricos como lagoas e riachos é essencial para que completem seu ciclo reprodutivo, e/ou para o desenvolvimento de suas larvas aquáticas. Desse modo, a existência de corpos hídricos pode ser um fator limitante para a manutenção de suas populações em áreas com grande perda de habitat ou habitats fragmentados. Estudos tem mostrado que lagoas artificiais são componentes importantes no processo de manutenção e conservação de espécies de anuros em habitats florestais (KNUTSON *et al.*, 2004; PRADO e ROSSAFERES, 2014; SMALLING *et al.*, 2015). Grande parte dos remanescentes de Mata Atlântica no sul do

Brasil convive com a ocupação humana em uma paisagem fragmentada. Para os anfíbios nessa região, o estabelecimento de corredores ecológicos não traria aumento significativo na permeabilidade da matriz, devido a sua pequena capacidade de deslocamento (MOSER *et al.*, 2019). Assim, a tendência de que em muitas áreas de Mata Atlântica fragmentadas, a paisagem apresenta alto nível de isolamento para as espécies de anfíbios. Esse isolamento pode se dar, em termos funcionais, quando os indivíduos não têm acesso aos sítios reprodutivos (FONSECA *et al.*, 2008; BECKER *et al.*, 2010). É no âmbito dessa discussão que a existência de lagoas artificiais aparece como uma oportunidade de viabilizar o acesso dos indivíduos a sítios reprodutivos dentro de suas áreas de ocorrência. Há de se considerar também, que a presença de água por si só não é o suficiente para que o local se efetive como sítio reprodutivo. Por isso, diversos estudos têm tentado entender o processo de seleção de sítios reprodutivos, sítios de vocalização e de oviposição (ZINA e HADDAD, 2005; CARVALHO *et al.*, 2015; SANTOS *et al.*, 2016; CASSIANO-LIMA *et al.*, 2020; FARINA *et al.*, 2021).

A escassez de habitats pode ser uma das razões pelas quais as comunidades relativamente complexas são observadas até mesmo no interior de lavouras (CUNHA *et al.*, 2021). Isso leva a crer, que a simples presença de corpos hídricos acessíveis aos anuros já seriam suficientes para que estes fossem usados para reprodução. Porém, a configuração dos habitats associados aos sítios reprodutivos é determinante na viabilidade das populações (LAAN e VERBOOM, 1990; MARSH *et al.*, 2000; MARSH e TRENHAM, 2001; GIBBONS, 2003; VASCONCELOS *et al.*, 2009). Além do entorno dos corpos d'água, a própria qualidade da água está entre os fatores abióticos estruturais de maior importância para as populações de anfíbios (DAYTO e FITZGERALD, 2006; LIMA e PEIXOTO, 2007), pelo fato de que na fase larval grande parte das espécies é aquática, e a disponibilidade de oxigênio dissolvido, a temperatura, o pH, a presença de poluentes e contaminantes são

importantes para a sobrevivência até mesmo para espécies terrestres (PIANO *et al.*, 2019; GANCI *et al.*, 2021).

No entanto, não há consenso sobre como os componentes ambientais coocorrem e influenciam na definição das comunidades de anuros (VASCONCELOS *et al.*, 2009; SILVA *et al.*, 2012 a). Tais lacunas, ou incertezas no conhecimento servem de oportunidade para estudos em áreas sob intensa ação antropogênicas (VELLEND *et al.*, 2007). Por isso, áreas com mosaicos de diferentes tipos de uso do solo são consideradas boas oportunidades para a avaliação da relação entre alterações do habitat e diversidade de anfíbios. No sul do Brasil, existem pequenas propriedades agrícolas em que esse mosaico se apresenta de modo intenso de exploração, e que oferece uma excelente oportunidade para a avaliação em uma escala fina do efeito da paisagem sobre a diversidade de anfíbios. Em particular, estas propriedades agrícolas apresentam diferentes níveis de poluição ambiental e alteração da paisagem, abrigando um cenário extremamente favorável para o estudo da relação entre ocupação ou uso do solo, qualidade da água em sítios reprodutivos e diversidade de anfíbios.

Aproveitando dessa configuração, delineamos um estudo para investigar o efeito da composição da paisagem, qualidade da água e as mudanças nas composições de anuros (diversidade beta) entre lagoas artificiais no sul do Brasil.

MATERIAL E MÉTODOS

Área de estudo

O estudo foi desenvolvido em dez lagoas artificiais localizadas em diferentes propriedades agrícolas no extremo oeste do estado de Santa Catarina, sul do Brasil (Figura S1). As lagoas encontram-se em propriedades particulares (geralmente < 10 ha) nas quais é desenvolvida agricultura familiar. Em todas as lagoas são mantidos peixes (*Cyprinus carpio*, *Oreochromis niloticus*) eventualmente usados para o consumo local. A qualidade da água é variável entre as lagoas e desse modo, realizamos uma série de

medições de suas propriedades bioquímicas. O entorno das lagoas é formado por um mosaico de habitat antrópico e nativo. O clima é mesotérmico subtropical úmido, tipo Cfa de Köppen (ALVARES *et al.*, 2013) da Mata Atlântica, e por isso diversas espécies de anfíbios utilizam esses corpos d'água como sítios reprodutivos. O relevo é caracterizado por vales íngremes (SANTA CATARINA, 1986) e a altitude média é de 630 m acima do nível do oceano ocupados por capões de remanescentes de Floresta Estacional (KLEIN, 1978a; VIBRANS *et al.*, 2010).

Delineamento amostral

Amostramos dez lagoas artificiais, cada uma com em média 1954 m² (mínimo = 530 m²; máximo = 3979 m²) e profundidade média de 2 m (1,20 a 3,60 m) (Figura S1). Previamente à seleção das lagoas, as mesmas foram inspecionadas para constatar seu uso como locais de vocalização e postura de desovas.

Amostragem de anuros

As amostragens foram feitas por meio de registros da vocalização de machos no entorno de cada uma das lagoas (DIAS *et al.*, 2019). Cada lagoa foi amostrada uma noite por mês entre setembro de 2020 e dezembro de 2020. A cada noite, três lagoas eram monitoradas simultaneamente de modo a amostrar todas as dez lagoas ao longo de quatro dias consecutivos. Essa estratégia foi usada para minimizar as variações climáticas entre amostragens, uma vez que a atividade de vocalização dos anfíbios é diretamente afeta pela temperatura e umidade do ar (XIMENEZ e TOZETTI, 2015). O registro das espécies foi realizado pelo registro das vocalizações feita por um sistema automatizado de gravação (Automated Recording Systems, BRIDGES e DORCAS 2000). O sistema foi equipado com um gravador de voz digital (modelo Sony ICD-PX312/PX312F), instalado a uma altura de

um metro do solo em cada lagoa (DIAS *et al.*, 2019). Programamos os gravadores para registrarem o áudio ambiente entre as 19:00h e às 07:00h do dia seguinte (13 horas de gravação ininterruptas). Esse período compreende o horário com pico de atividade das espécies de anuros (SANTOS *et al.*, 2016). A avaliação dos áudios seguiu o protocolo usado em Dias *et al.* (2019). Desse modo, foi gerado um arquivo de áudio para cada noite amostrada em cada lagoa. A partir de cada arquivo de áudio foram extraídas 13 subamostras de áudio com duração de três minutos contados a partir do início das gravações e com intervalos de uma hora (exemplo: amostra 1: das 19:00h às 19:03; amostra 2: das 20:00h às 20:03; amostra 3: das 21:00h às 21:03; amostra 13: das 07:00h às 07:03). As espécies registradas nas gravações foram identificadas com auxílio de base de dados de áudio feitas na área de estudo bem como guias sonoros das espécies (HADDAD *et al.*, 2005; KWET e MÁRQUEZ, 2010). Estimamos a abundância de indivíduos por meio do número de machos em atividade de vocalização, considerando quatro categorias: A) 1 – 4 indivíduos em atividade de vocalização; B) 5 – 9 indivíduos em atividade de vocalização; C) 10 – 20 indivíduos em atividade de vocalização; D) >20 indivíduos em atividade de vocalização (BERTOLUCI e RODRIGUES 2002; XIMENEZ e TOZETTI 2015). Para análises de abundância, utilizamos o número mínimo de machos vocalizantes (XIMENEZ e TOZETTI, 2015; DIAS *et al.*, 2019).

Avaliação das características da água das lagoas

Em outubro de 2018, coletamos manualmente 0,5 L de água superficial em cada lagoa usando frascos de polietileno estéreis para análises químicas e microbiológicas. Em um ponto definidos aleatoriamente, água superficial foi coletada a 10 cm da borda das lagoas, e as amostras foram mantidas refrigeradas (2-8 °C) e em até 48 horas após a amostragem foram analisadas no Laboratório de Microbiologia da Universidade do Oeste de Santa

Catarina - UNOESC *campus* São Miguel do Oeste. A análise microbiológica do número mais provável de coliformes termotolerantes (NMP / 100 mL) foi realizada utilizando a técnica de fermentação em tubo múltiplo de acordo com os métodos padrão para teste de água e efluentes (APHA, 2005). Para avaliar os parâmetros de qualidade da água associados ao enriquecimento de nutrientes, realizamos as seguintes análises químicas usando um espectrofotômetro (Spectroquant pharo 100) com Merck Ready Kits: fósforo total (Merck Colorimetric análogo a APHA 4500), nitrogênio amoniacal (Merck Colorimetric análogo a APHA 4500), nitrato (Merck Colorimetric), e demanda química de oxigênio (DQO; Merck Colorimetric Análogo a APHA 5220). No laboratório, o pH também foi medido por método eletrométrico com multiparâmetro (Akso). As condições físico-químicas e microbiológicas das lagoas são mostradas na Tabela S1.

Avaliação do ambiente no entorno das lagoas

Consideramos como ambiente de entorno, uma área média de 36000 m² ao redor de cada lagoa. A avaliação foi feita a partir de imagens captadas por um drone a uma altura de 120 m e alinhado com o ponto central de cada lagoa. A fotointerpretação e vetorização das feições de interesse deste estudo, foram realizadas no software livre QGIS, versão 3.14. A captura das imagens foi realizada em outubro de 2020, utilizando o aplicativo DJIGO 4 no smartphone iPhone 11 Pro conectado ao radio controle de um Drone modelo Phantom 4 advanced, cujo modelo possui GPS/GLONASS e câmera de 20 megapixels de resolução acoplados na aeronave remotamente pilotada. O ortomosaico georreferenciado das imagens aéreas foi a base para a fotointerpretação e estudos que embasaram este monitoramento, sendo realizado o processo de georreferenciamento dos mosaicos, posteriormente foram feitas as vetorizações das feições de interesse realizada no software livre QGIS versão 3.14. Foram criadas 05 classes de acordo com a fotointerpretação realizada no ortomosaico obtido

com o mapeamento aéreo, sendo denominadas: corpos d'água, pastagem, solo, urbanização e floresta nativa (Figura S2 e Tabela S6).

Análises dos dados

Análise de abundancia da atividade de vocalização

Baseado em Ximenez e Tozetti (2015) os dados de abundância de cada espécie em cada mês foram transformados em média. A partir da escuta das 13 amostras de áudio de três minutos de cada noite de amostragem, construímos uma tabela com os dados de abundância das espécies (nas classes de abundância) por dia e por hora de amostragem. Realizamos esta avaliação com todas as doze espécies compartilhadas entre os dois tipos de unidades amostrais.

Preditores espaciais

Utilizamos os mapas de vetores próprios de Moran baseados na distância (dbMEMs; LEGENDRE e LEGENDRE, 2012; DRAY *et al.*, 2012) para criar variáveis espaciais (vetores próprios) com base na matriz de distância euclidiana das coordenadas geográficas das lagoas. Em primeiro lugar, definimos a matriz de vizinhança, que descreve as relações espaciais entre os objetos (DRAY *et al.*, 2012). Em outras palavras, definimos quais lagoas são vizinhas e quais não são. Usamos como gráficos de vizinhança espacial 'triangulação de Delaunay', 'gráfico de Gabriel' e 'Árvores de abrangência mínima', e como medida de peso usamos as distâncias lineares entre lagoas. Selecionamos a melhor matriz de vizinhança com base no AICc. O modelo mais parcimonioso foi aquele baseado no 'gráfico de Gabriel', e a distância de truncamento foi de 18,54 km (AIC = 84,82 contra 85,91 para o modelo nulo).

Este modelo também gerou nove variáveis espaciais (autovetores), duas das quais com autocorrelação positiva.

Avaliando os componentes da diversidade beta de anuros

Antes das análises, transformamos os dados de abundância usando a distância de Hellinger para homogeneizar a variação entre as abundâncias das espécies (LEGENDRE e LEGENDRE, 2012). Dividimos a diversidade beta em componentes gerais de diversidade beta, *turnover* e aninhamento seguindo os métodos propostos por Baselga, 2010. Este procedimento foi realizado utilizando a função “beta.pair” no pacote R betapart (BASELGA e ORME, 2012). Usamos a dissimilaridade de Bray-Curtis para os dados de abundância. Este procedimento produziu três matrizes de dissimilaridade: a diversidade beta total (*turnover* espacial geral; β_{Bray}); o componente de *turnover* (*turnover* imune à variação da riqueza de espécies; β_{Bal}); o componente de aninhamento (aninhamento resultante de diferenças de riqueza de espécies entre locais; β_{Gra}). Consideramos os valores de dissimilaridade altos quando ultrapassaram 70%.

Relações comunidade-ambiente

Usamos a análise de redundância baseada em distância (dbRDA) em cada matriz de dissimilaridade biológica para examinar as relações em mais detalhes de comunidade-ambiente (LEGENDRE e ANDERSON, 1999). Este método é semelhante à análise de redundância, mas pode ser baseado em qualquer dissimilaridade ou matriz de distância (em nosso caso, dissimilaridade de Bray-Curtis (LEGENDRE e LEGENDRE, 2012). Inicialmente, selecionamos apenas preditores de variação ambientais significativos na diversidade beta e seus componentes, que então foram usados para o modelo ambiental (LEGENDRE e ANDERSON, 1999). Usamos a seleção direta com 9999 permutações para

selecionar as variáveis ambientais para executar o modelo ambiental. Para isso, foram utilizadas as matrizes contendo cada componente da diversidade beta e os preditores ambientais. Para análises subsequentes, usamos apenas as variáveis retidas na última etapa de seleção (BLANCHET *et al.*, 2008). O procedimento de seleção direta foi executado com a função “ordistep” do pacote R vegan (BLANCHET *et al.*, 2008). Os resultados resumidos do procedimento de seleção direta são apresentados na Tabela S2 e S3.

Preditores espaciais

Também utilizamos a seleção direta com 9999 permutações para selecionar os MEMs para executar o modelo espacial. Os resultados resumidos do procedimento de seleção direta são apresentados na Tabela S4.

Partição de variação para a Diversidade beta taxonômica e funcional de anuros

As relativas contribuições dos descritores ambientais e variáveis espaciais para os padrões de diversidade beta foram avaliadas usando uma Análise de Redundância parcial (pRDA) com partição de variação (DRAY *et al.*, 2012). Esta análise divide a variância na composição da comunidade resultante de (1) cada variável explicativa ([E] = ambiente e [S] = espacial), (2) a contribuição única de cada variável explicativa ([E / S] = ambiente - variáveis puramente ambientais - ou [S / E] = espacial - variáveis puramente espaciais) e (3) a variância total explicada pelas variáveis ambientais e espaciais juntas (variáveis ambientais espacialmente estruturadas). A variância explicada por cada fração foi baseada no R^2 ajustado (PERES-NETO *et al.*, 2006). As variáveis ambientais utilizadas no modelo ambiental e as variáveis espaciais que compõem o modelo espacial foram aquelas previamente selecionadas em db-RDA e seleção direta, conforme descrito acima.

A significância dos eixos dbRDA e frações pRDA foram testadas por meio de um teste de permutação tipo ANOVA para avaliar a significância das restrições, usando 9999 permutações. As análises dbRDA e pRDA foram feitas usando as funções “capscale” e “var.part”, e as permutações usando a função “anova.cca”, do pacote R vegan (OKSANEN *et al.*, 2019).

RESULTADOS

Registramos 12 espécies de anuros distribuídos em cinco famílias: Bufonidae (1), Hylidae (5), Leptodactylidae (4), Odontophrynidae (1) e Ranidae (1). As espécies mais frequentemente registradas foram *Physalaemus cuvieri*, *Dendropsophus minutus* e *Lithobates catesbeianus* com uma média de 9,32 (\pm 11,25), 8,56 (\pm 10,86) e 5,08 (\pm 4,08) respectivamente do total indivíduos registrados nas dez lagoas (TS 5).

Preditores ambientais e espaciais e diversidade beta

Os conjuntos de variáveis preditoras retidas na análise de seleção direta para compor os modelos ambientais (variáveis da água e do entorno das lagoas) e espacial foram semelhantes entre a diversidade beta e seus componentes. Houve maior congruência entre a diversidade beta total e o componente de *turnover* (Tabelas S2 e S4). As variáveis ambientais ligadas às características da água selecionados foram Fosfato, DQO, coliformes totais e N Total (Tabela S2). O Fosfato foi selecionado para todos os componentes de diversidade beta. De forma semelhante ao observado para os conjuntos de variáveis da água, o conjunto de preditores do ambiente do entorno selecionados foram semelhantes entre todos os componentes da diversidade beta. Os preditores do entorno que mais influenciaram a diversidade beta foram solo exposto (o qual foi compartilhado por todos os componentes de diversidade beta) e urbanização (selecionado apenas para o aninhamento;

Tabela S3). Finalmente, os preditores espaciais retidos na seleção foram o MEM1 (β Bray and β Bal) e MEM7 (β Gra; Tabela S4).

Relação entre os preditores da água e do entorno e a diversidade beta

As análises de dbRDA que relacionaram os preditores ambientais (aquáticos e do entorno da lagoa) e os padrões de dissimilaridade entre as comunidades revelaram padrões congruentes entre a diversidade beta e seus componentes (Tabela 1 e 2). Nós não detectamos nenhuma relação significativa entre os preditores aquáticos e a diversidade beta e seus componentes (Tabela 1). Por outro lado, nós encontramos relações significativas quanto às características do ambiente de entorno, dentre eles o solo exposto e a diversidade beta total e o componente de *turnover*, embora a fração de variação explicada tenha sido relativamente baixa (β Bray: $R^2_{adj}= 0.14$, $F = 2.48$, $p = 0.04$; β Bal: $R^2_{adj} = 0.11$, $F = 2.06$, $p = 0.04$; Tabela 2). O componente de aninhamento não apresentou relação significativa com nenhum dos preditores do ambiente terrestre.

Tabela 1. Resultados de dbRDAs baseados em distância para os dados de estimativa de abundância de machos vocalizantes. As análises foram realizadas com base na diversidade beta total, rotatividade e dissimilaridades de aninhamento. Modelos completos e testes marginais de significância para variáveis aquáticas únicas são mostrados (ou seja, teste de significância separado para cada variável em um modelo quando todos os outros termos estão no modelo).

TOTAL (β Bray)			TURNOVER (β Bal)			ANINHAMENTO (β Gra)		
Teste geral			Teste geral			Teste geral		
$R^2_{adj}:0.05$; $F:1.52$; $p: 0.16$			$R^2_{adj}:0.08$; $F: 1.26$; $p: 0.23$			$R^2_{adj}:0.13$; $F: 1.32$; $p: 0.15$		
Variável	F	p	Variável	F	p	Variável	F	p
Preditora			Preditora			Preditora		
Fosfato	1.52	0.16	DQO	0.97	0.42	DQO	2.3	0.01
			Fosfato	1.62	0.14	Coliformes	0.76	0.69
			N Total	1.2	0.3	Fosfato	0.82	0.59
						N Total	1.41	0.15

Tabela 2. Resultados de dbRDAs baseados nos dados de abundância. As análises foram realizadas com base na diversidade beta total, rotatividade e dissimilaridades de aninhamento. Modelos completos e testes marginais de significância para variáveis do entorno únicas são mostrados.

TOTAL (β Bray)			TURNOVER (β Bal)			ANINHAMENTO (β Gra)		
Teste geral			Teste geral			Teste geral		
R^2_{adj} :0.14; F : 2.48; p : 0.04			R^2_{adj} :0.11; F : 2.06; p : 0.04			R^2_{adj} :0.09; F : 1.43; p : 0.11		
Variável Preditora	F	p	Variável Preditora	F	p	Variável Preditora	F	p
Solo exposto	2.48	0.04	Solo exposto	2.06	0.04	Solo exposto	1.7	0.07
						Urbanização	1.16	0.26

Variação de partição da beta diversidade e seus componentes

A beta diversidade total observada para o conjunto de comunidades foi de 75%. Deste total, 71,2% foram relativos ao componente de *turnover*, enquanto o aninhamento foi responsável por apenas 3,8% da variação.

As análises de partição da variância (pRDA) da diversidade beta e seus componentes identificaram efeitos significativos dos componentes aquáticos, terrestres e espaciais sobre os padrões de beta diversidade de anuros em lagos em que há presença de coliformes fecais. Nós observamos que a beta diversidade total foi o componente da diversidade cuja variação teve maior porcentagem de explicação pelos conjuntos de preditores (β Bray = 33%; Fig. 1). Do total de variação explicada, as frações únicas dos preditores do entorno das lagoas e espaciais foram o que geraram maiores contribuições (respectivamente, 15% e 10%). No entanto, nós também observamos uma quantidade substancial de variação explicada pelas frações compartilhadas pelos preditores da água e pelos preditores espaciais (9%) e, em menor grau, pelos preditores espaciais, do entorno das lagoas (2%) e pela fração compartilhada por todos os três conjuntos de preditores (3%). De forma semelhante, os nossos conjuntos de preditores foram capazes de explicar 30% da variação total atribuída ao componente de *turnover*. Para este componente, a fração única dos preditores do entorno das lagoas (12%) e espaciais (9%) foram as mais significativas, além da fração compartilhada pelos três conjuntos de preditores

(6%). Por outro lado, nossos conjuntos de preditores explicaram, no total, menos de 1% da variação atribuída ao componente de aninhamento. Nós não encontramos nenhuma relação significativa entre os três conjuntos de preditores e este componente da beta diversidade.

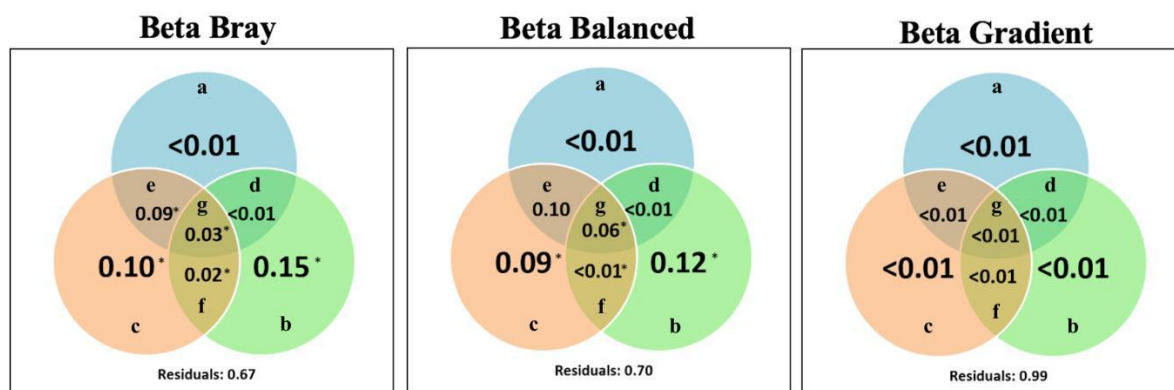


Figura 1. Variação de partição para diversidade beta total (*Beta Bray*) e seus componentes (*turnover* = *Beta Balanced*; aninhamento = *Beta Gradient*) de comunidades de anuros. (a) Variáveis aquáticas; (b) variáveis do ambiente terrestre; (c) variáveis espaciais; (d) fração compartilhada entre aquáticas e espaciais; (e) fração compartilhada entre variáveis aquáticas e terrestres; (f) fração compartilhada entre variáveis espaciais e da paisagem; (g) fração compartilhada entre todas; (*) $p < 0.05$.

DISCUSSÃO

Nossos resultados mostraram que as características da água e do entorno atuam de modo diferente, porém, ambas são relevantes para que as lagoas artificiais atuassem como sítios reprodutivos aos anuros. Os padrões da diversidade beta (entre as lagoas amostradas) indicaram que tanto o componente de *turnover* quanto o de aninhamento das comunidades foram guiados pelo mesmo conjunto de variáveis ambientais. Ressaltamos que o ambiente do entorno das lagoas teve um papel mais importante do que as características da água na configuração das comunidades. Dentre os elementos do entorno, destacaram-se a porcentagem de solo exposto e taxa de urbanização. Ambos são elementos da paisagem diretamente associados supressão da Mata Atlântica causada, por exemplo, pela agricultura, pecuárias ou pela expansão das cidades. É importante ressaltar que a atual configuração da

paisagem reflete um longo processo de supressão das florestas originais da região levando a um menor nível de estratificação vertical (SILVA *et al.*, 2012b; PIRANI *et al.*, 2013), menor complexidade estrutural, e menor diversidade de microhabitats (VASCONCELOS *et al.*, 2009; SILVA e ROSSA FERES, 2007; SILVA *et al.*, 2012b; ODA *et al.*, 2016, 2017; FIGUEIREDO *et al.*, 2019). A mudança da paisagem teria levado à substituição da comunidade original por uma nova comunidade com predomínio de espécies mais tolerantes à matriz (OLDEN *et al.*, 2004; BENGTTSSON, 2010). Acreditamos que a paulatina remoção da cobertura vegetal geraria um processo de substituição de espécies, levando à homogeneização biótica (OLDEN, 2006; MCKINNEY e LOCKWOOD 1999; SOLAR *et al.*, 2015; NOWAKOWSKI *et al.*, 2016). De fato, a diversidade entre lagoas variou predominantemente em função da substituição de espécies (*turnover*). Assim, podemos estar observando comunidades que são um retrato pós-intervenções que ocorrem há séculos na região (ALDRICH e HAMRICK, 1998; VIBRANS *et al.*, 2012).

A disponibilidade de habitat é determinante para a presença e permanência das populações das espécies registradas, bem como garantem sua acessibilidade às lagoas amostradas. Ainda assim, a manutenção dessas populações dependeria da existência de habitats remanescentes e adjacentes as lagoas (VASCONCELOS *et al.*, 2009; SILVA e ROSSA-FERES, 2011; SILVA *et al.*, 2011). Estudos mostraram que lagoas localizadas na borda e próximas a fragmentos florestais, suportaram maior abundância e riqueza de espécies de anuros do que açudes localizados distantes de fragmentos florestais e em ambientes abertos (SILVA *et al.*, 2012a), reforçando, assim como nós observamos, a importância da existência de habitats remanescentes. Nossa amostragem foi baseada no registro de vocalizações sendo direcionada para a atividade reprodutiva, e os indivíduos estavam usando as lagoas para encontro de parceiros e/ou oviposição. Assim, a qualidade da

água é um elemento importante para o desenvolvimento dos girinos (LAPOSATA e DUNSON, 2000; DE SOLLA *et al.*, 2002 a, b; SOWERS *et al.*, 2009; BABINI *et al.*, 2018).

O fosfato foi o elemento da água com maior efeito sobre a configuração das comunidades. Considerando que a contaminação de corpos hídricos por matéria orgânica gera picos de fosfato (CORDELL *et al.*, 2009; PETZET e CORNEL, 2013), é factível supor como o nível de contaminação dessas lagoas atue na seleção de espécies em sua comunidade de anuros. Muitas lagoas artificiais podem receber matéria orgânica, incluindo esgoto de animais criados em confinamento. Essa é, aliás, uma prática comum em muitas lagoas no Brasil (PREUSS *et al.*, 2020). O fosfato pode ter origem também no escoamento de fertilizantes de campos agrícolas (TILMAN, 1999; SMITH *et al.*, 2003). Desse modo, nossos resultados servem como destaque para a ameaça que a contaminação de corpo hídricos com esgoto pode trazer sobre as comunidades de anfíbios. Experimentos avaliaram os efeitos do fosfato em girinos e descobriram que a presença deste composto químico afeta espécies de diferentes formas, aumentando ou diminuindo a sobrevivência em algumas espécies (HAMER *et al.*, 2004) e pode não ter efeito sobre outras (HAMER *et al.*, 2004; SMITH, 2007; EARL e WHITEMAN, 2010).

Em uma avaliação mais abrangente, podemos prever que a qualidade da água dos sítios reprodutivos pode atuar como fator limitante para a manutenção de comunidades de anuros, ainda que haja disponibilidade de habitats (cobertura vegetal preservada). Sabe-se que em paisagens degradadas, as lagoas artificiais são elemento importante para o aumento da diversidade de anfíbios (CABALLERO-DÍAZ *et al.*, 2020; VALDEZ *et al.*, 2021). A presença de fosfato na água pode estar ligada ao fato de que em algumas lagoas há criação integrada de suínos em confinamento e piscicultura (PREUSS *et al.*, 2020). O dejetos animal é descarregado diretamente no tanque de peixes, onde os nutrientes sustentam a crescimento

de plâncton e outros microrganismos consumido por peixes (TREECE, 2000; MARTINS *et al.*, 2018).

A distância espacial entre as áreas amostradas foi um componente importante para a composição de espécies (i.e., corpos d'água mais próximos apresentam maior similaridade na composição de espécies em comparação com os corpos d'água mais distantes). Este padrão montado pela distância geográfica e a similaridade entre áreas já foram relatados em outros trabalhos com anuros (HUBBEL, 2001; BERTOLUCI *et al.*, 2007; SANTOS *et al.*, 2009; NEVES *et al.*, 2018). De maneira geral, cada lagoa amostrada possui uma paisagem distinta, incluindo diferentes estruturas florestais. Estes remanescentes podem ser utilizados de forma diferente pelas espécies, servindo como abrigo, forrageio e refúgio (SILVA e ROSSA-FERES, 2007; CUNHA, 2021). Se a distância entre eles for muito grande, o deslocamento das espécies diminui devido o aumento no risco de dessecação, predação, exposição a agrotóxicos e outros poluentes (MAZEROLLE e DESROCHERS, 2005; RICK, 2005).

Entre os fatores bióticos que podem influenciar o padrão de diversidade beta estão a história de vida da espécie (SOININEN *et al.*, 2007), a capacidade de dispersão dos organismos (DOBROVOLSKI *et al.*, 2011) e suas habilidades de dispersão entre diferentes fitofisionomias (SILVA *et al.*, 2017; DALMOLIN *et al.*, 2021). Nas lagoas artificiais, três espécies foram mais frequentes: *Physalaemus cuvieri* uma espécie generalista, que consegue se estabelecer de forma dominante em áreas alteradas, por vezes com abundâncias maiores que em áreas preservadas, é uma espécie que expande as suas distribuições geográficas em consequência dos desmatamentos e alteração da paisagem natural (HADDAD e PRADO 2005; MORAES *et al.*, 2007; HADDAD *et al.*, 2013). *Dendropsophus minutus* é encontrada em áreas abertas com gramíneas, próximas à margem de corpos d'água, áreas com vegetação herbácea imersa e áreas com vegetação herbáceo-

arbustivas, próximas à margem d'água (OLIVEIRA *et al.*, 2007; FERREIRA-SILVA *et al.*, 2016) e *Lithobates catesbeianus* uma espécie exótica invasora que apresenta uma grande capacidade de adaptação, podendo ser encontrada com frequência em ambientes naturais, e que é beneficiada positivamente por habitats abertos e/ou antropizado (BOTH *et al.*, 2014; PREUSS, 2017).

Fornecemos evidências de que as lagoas artificiais podem funcionar como armadilhas ecológicas, ameaçando a viabilidade das populações de anuros em mosaicos agrícolas. Os anfíbios são considerados sensíveis a modificação e contaminação de habitat (BLAUSTEIN *et al.*, 1994, SIEVERS *et al.*, 2018 a, b) e a presença de fosfato no ambiente aquático pode reduzir ainda mais sobrevivência se ocorrer uma combinação com outros contaminantes (RELYEA, 2009). Mais trabalhos são necessários para explorar se este é um resultado biológico significativo e, em caso afirmativo, seus efeitos subjacentes. Só assim, será possível minimizar os danos e perceber o potencial ecológico de habitats alterados pelo homem.

Concluimos que a alteração do entorno das lagoas e da qualidade da água são potenciais ameaças para diversidade de anfíbios. As complexas assembléias florestais foram substituídas por novos ecossistemas que têm assembléias simples de anuros, compostas principalmente por espécies colonizadoras generalistas, e que essas comunidades têm interações complexas com os fatores bióticos e abióticos de dentro e fora da água.

Material suplementar

Figura Suplementar 1. Distribuição geográfica das 12 lagoas artificiais de amostragem no oeste do estado de Santa Catarina, Brasil.

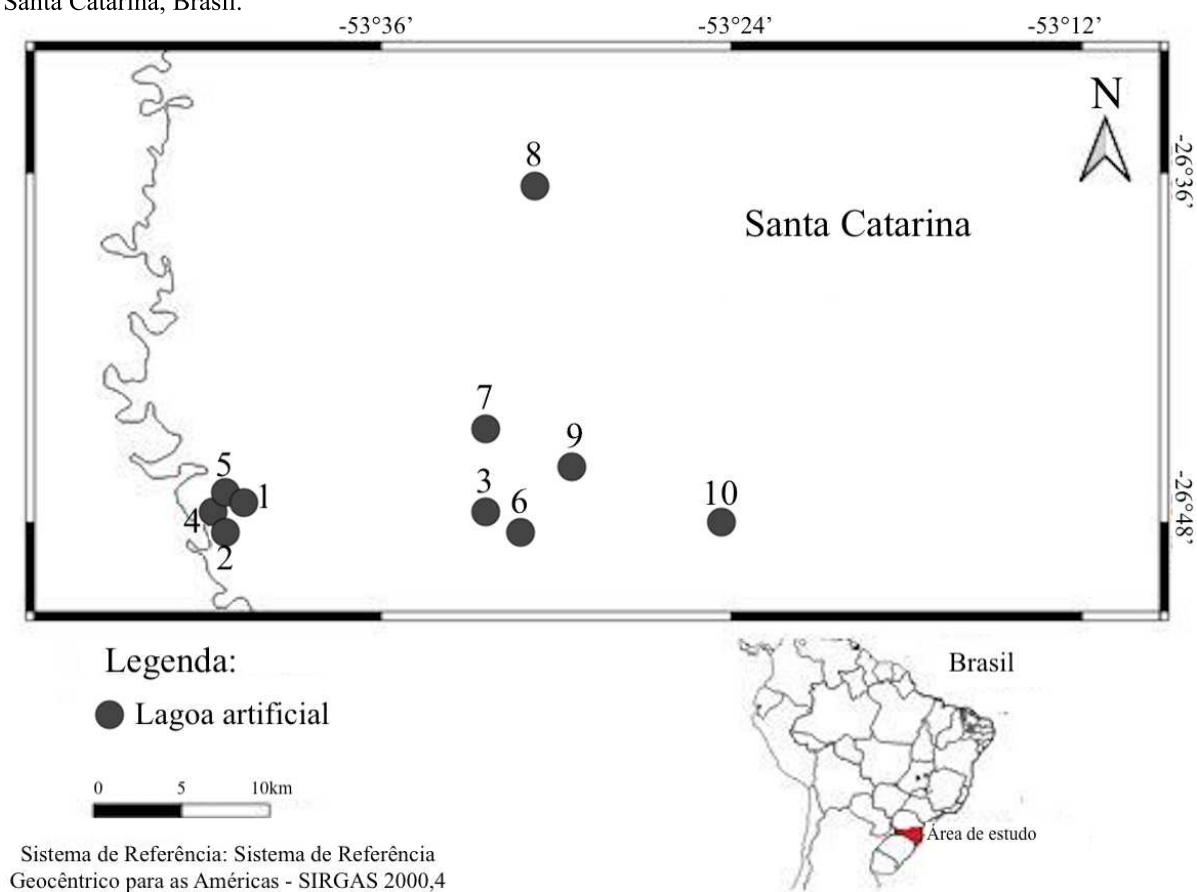


Tabela Suplementar 1. Parâmetros de qualidade da água para lagoas artificiais no estado de Santa Catarina, sul do Brasil. DQO = demanda química de oxigênio; N = nitrogênio; NMP = número mais provável.

Lagoa	Coordenadas Lat./long.	DQO mg/L	Fosfato mg/L	N Amoniacal mg/L	N Total mg/L	Coliformes NMP/100 mL	pH
1	-26.777432, -53.687968	114	2	2.5	10	1500	6,85
2	-26.784122, -53.695059	203	4.3	8.9	18	24000	6,63
3	-26.784790, -53.538097	203	4.3	8.9	18	24000	6,63
4	-26.784790, -53.538097	63	1.1	6.4	32	24000	6.57
5	-26.788811, -53.692371	103	3.5	1.7	8	24000	6,38
6	-26.595494, -53.509339	66	0.08	2.5	21	90	6.78
7	-26.740676, -53.543820	61	0.1	5	10	40	8,03
8	-26.759304, -53.498724	62	0.07	1.4	21	40	6,56
9	-26.798901, -53.522358	58	0.06	5.1	7	60	6,25
10	-26.799343, -53.402172	92	1.2	2	6	30	10,03

Tabela Suplementar 2. Resultados para o modelo Forward Selection das variáveis ambientais (variáveis aquáticas) para compor o modelo ambiental de diversidade beta e seus componentes durante as análises de dbRDA e pRDA.

Componentes de Beta			
Diversidade	Variável preditora	<i>F</i>	<i>p</i>
βBray	Fosfato	1.52	0.16
	DQO	4.69	0.02
βBal	Fosfato	3.88	0.02
	N Total	4.04	0.02
	DQO	2.3	0.02
βGra	Coliforme	1.83	0.05
	Fosfato	2.02	0.04
	N Total	2.08	0.04

Tabela Suplementar 3. Resultados para o modelo *Forward Selection* de variáveis do entorno para compor o modelo ambiental de diversidade beta e seus componentes durante as análises de dbRDA e pRDA.

Componentes de Beta Diversidade	Variável preditora	<i>F</i>	<i>p</i>
βBray	Solo exposto	2.48	0.04
βBal	Solo exposto	2.06	0.04
βGra	Solo exposto	1.70	0.05
	Urbanização	1.65	0.05

Tabela Suplementar 4. Resultados para o modelo *Forward Selection* de variáveis espaciais para compor o modelo espacial de diversidade beta e seus componentes durante as análises de pRDA.

Componentes de Beta Diversidade	Variáveis preditoras	<i>F</i>	<i>p</i>
βBray	MEM1	2.73	0.01
βBal	MEM1	3.14	0.02
βGra	MEM7	1,39	0.14

Tabela Suplementar 5. Espécies de anfíbios e estimativa média de abundância em lagoas artificiais com diferentes formas de manejo na região extremo oeste do estado de Santa Catarina, de setembro a dezembro de 2020. As lagoas artificiais 1a até 5a, são usadas exclusivamente para a criação de peixes. \pm = desvio padrão. Para mais detalhes veja materiais e métodos.

	Lagoa										média \pm
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
Famílias / Espécies											
Bufonidade											
<i>Rhinella icterica</i> (Spix, 1824)	–	0,25	0,25	–	–	0,33	–	–	–	–	0,10 \pm 0,14
Hylidae											
<i>Aplastodiscus perviridis</i> Lutz, 1950	1,00	1,25	–	11,00	4,25	–	–	–	–	1,50	2,11 \pm 3,60
<i>Boana faber</i> (Wied-Neuwied, 1821)	–	1,75	1,75	2,25	3,00	0,67	0,67	1,67	–	–	1,20 \pm 0,06
<i>Dendropsophus minutus</i> (Peters, 1872)	3,00	21,00	27,3	23,50	1,25	1,00	1,67	6,67	–	0,25	8,56 \pm 10,86
<i>Phyllomedusa tetraploidea</i> Pombal & Haddad, 1992	–	–	5,75	5,25	8,00	–	–	–	–	–	1,9 \pm 3,14
<i>Sinax</i> sp.	0,25	–	1,00	–	–	–	0,33	0,67	–	4,50	0,68 \pm 1,39
Leptodactylidae											
<i>Leptodactylus latrans</i> (Steffen, 1815)	0,8	–	–	–	1,50	–	–	–	–	–	0,23 \pm 0,51
<i>Leptodactylus plaumanni</i> Ahl, 1936	1,00	0,50	0,50	3,0	2,50	0,3	7,7	2,3	0,3	0,25	1,84 \pm 2,29
<i>Physalaemus cuvieri</i> Fitzinger, 1826	1,00	31,25	27,75	–	1,25	–	9,0	8,3	6,3	8,25	9,32 \pm 11,25
<i>Physalaemus gracilis</i> (Boulenger, 1883)	–	0,25	0,75	–	2,25	–	–	–	0,3	–	0,36 \pm 0,71
Odontophrynidae											
<i>Odontophrynus</i> sp.	0,50	–	–	–	–	–	–	–	–	–	0,06 \pm 0,17
Ranidae											
<i>Lithobates catesbeianus</i> (Shaw, 1802)	–	5,00	5,50	1,75	0,75	14,33	6,33	5,00	7,67	4,50	5,08 \pm 4,08

Figura Suplementar 2. Imagens aéreas de Drone (A) e ortomosaico georreferenciado (B) das lagoas artificiais.

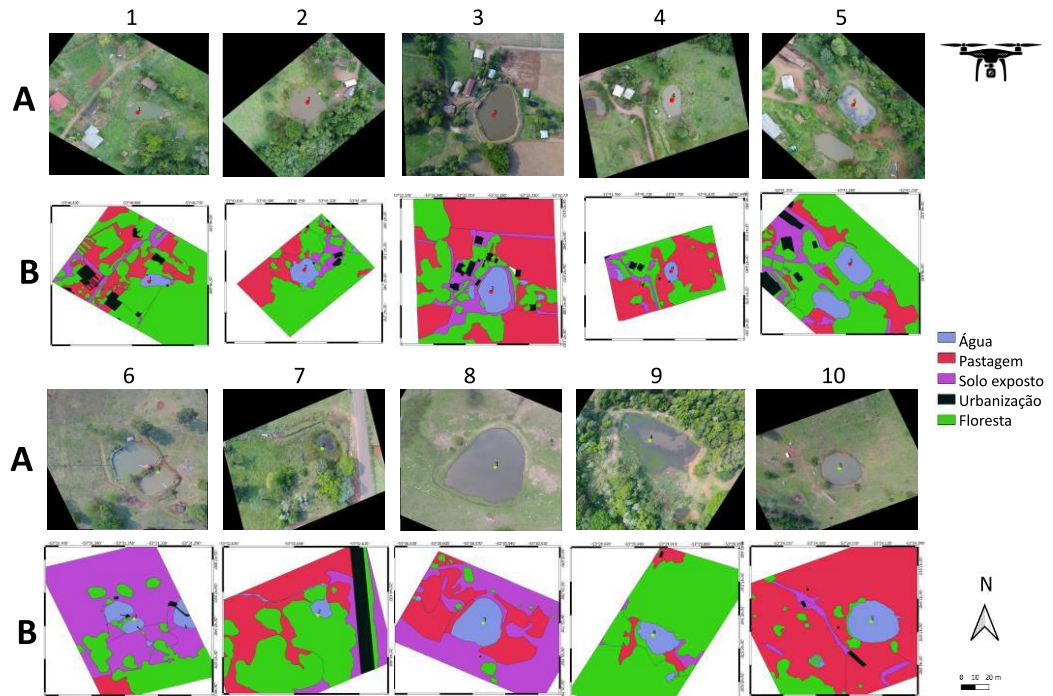


Tabela Suplementar 6. Valores médios e desvio padrão dos parâmetros aquáticos e terrestres de cada lagoa artificial.

Variáveis aquáticas	1a	2a	3a	4a	5a	1b	2b	3b	4b	5b	média ± dp
DQO mg/L	114	203	103	203	63	66	92	62	61	58	102,50 ± 56,45
Fosfato mg/L	2	4,3	3,5	4,3	1,1	0,08	1,2	0,07	0,1	0,06	1,67 ± 1,76
N Amoniacal mg/L	2,5	8,9	1,7	8,9	6,4	2,5	2	1,4	5	5,1	4,44 ± 2,88
N Total mg/L	10	18	8	18	32	21	6	21	10	7	15,10 ± 8,32
Coliformes	1500	24000	24000	24000	24000	90	30	40	40	60	9776 ± 12250,01
pH	6,85	6,63	6,63	6,57	6,38	6,78	8,03	6,56	6,25	10,03	7,53 ± 1,55
Variáveis terrestres											
Corpos d'água m ²	539,8	413,38	210,5	845,95	850,69	2271,6	536,11	1142,63	134,1	2305,4	225,02 ± 779,98
Floresta nativa m ²	497,08	516,13	257,5	842,38	909,28	375,54	658,23	5841,45	685,9	77,81	1066,13 ± 1697,16
Pastagem m ²	325,54	5247,2	71,63	2380,7	629,29	32155	1792,98	574,73	1579	1834,8	4659,13 ± 9775,23
Solo exposto m ²	129,93	380,03	63,05	279,63	243,62	424,38	2779,3	192,58	243,7	4046	878,22 ± 1372,80
Urbanização m ²	88,18	46,48	22,52	95,47	50,61	71,2	25,33	40,4	562,5	5,99	100,87 ± 164,72

Referências

ALMEIDA-GOMES, M.; VIEIRA, M. V.; ROCHA, C. F. D.; MELO, A. S. Habitat amount drives the functional diversity and nestedness of anuran communities in an Atlantic Forest fragmented landscape. **Biotropica**, v. 51, p. 874-884, 2019.

ALDRICH, P. R.; HAMRICK, J. L. Reproductive Dominance of Pasture Trees in a Fragmented Tropical Forest Mosaic. **Science**, n. 281, p. 103-105, 1998.

ALVARES, C. A.; STAPE, J. L.; SENTELHAS, P. C.; DE MORAES GONCALVES, J. L.; SPAROVEK G. Köppen's climate classification map for Brazil. **Meteorologische Zeitschrift**, v. 22, n. 6, p. 711-728, 2013

ARNTZEN, J. W.; ABRAHAMS, C.; MEILINK, W. R. M.; IOSIF, R.; ZUIDERWIJK, A. Amphibian decline, pond loss and reduced population connectivity under agricultural intensification over a 38-year period. **Biodiversity and Conservation**, v. 26, p. 1411-1430, 2017.

ARROYO-RODRÍGUEZ, V.; ROJAS, C.; SALDANA-VÁSQUEZ, R.; STONER, K. E. Landscape composition is more important than landscape configuration for phyllostomid bat assemblages in a fragmented biodiversity hotspot. **Biological Conservation**, v. 198, p. 84-92, 2016.

BABINI, M. S.; DE LOURDES, B. C.; SALINAS, Z. A. SALAS, N. E.; MARTINO, A. L. Reproductive end- points of *Rhinella arenarum* (Anura, Bufonidae): populations that persist in agroecosystems and their use for the environmental health assessment. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 154, p. 294-301, 2018.

BASELGA, A.; ORME, C. D. L. Betapart: An R package for the study of beta diversity. **Methods in Ecology and Evolution**, v. 3, p. 808-812, 2012.

BECKER, C. G.; FONSECA, C. R.; HADDAD, C. F. B.; PRADO, P. I. Habitat Split as a Cause of Local Population Declines of Amphibians with Aquatic Larvae. **Conservation Biology**, v. 24, p. 287-294, 2010.

BENGTSSON, J. Applied (meta) community ecology: diversity and ecosystem services at the intersection of local and regional processes. In. VERHOEF, H. A. and MORIN, P. J. editors. **Community Ecology: Processes, Models and Applications**. Oxford University Press, Oxford. 2010. pp. 115-130.

BENTON, T. G.; VICKERY, J. A.; WILSON, J. D. Farmland biodiversity, is habitat heterogeneity the key? **Trends in Ecology and Evolution**, v. 18, p. 182-188, 2003.

BERTOLUCI, J.; BRASSALOTI, R. A.; RIBEIRO JÚNIOR, J. W.; VILELA, V. M. F. N.; SAWAKUCHI, H. O. Species composition and similarities among anuran assemblages of forest sites in southeastern Brazil. **Scientia Agricola**, v. 64, n. 4, p. 364-374. 2007.

BITAR, Y. O. C.; JUAN L., PINHEIRO L. P. C.; SANTOS-COSTA M. C. Anuran Beta Diversity in a Mosaic Anthropogenic Landscape in Transitional Amazon. **Journal of Herpetology**, v. 48, p. 75-82, 2015.

BLANCHET, F. G.; LEGENDRE, P.; BORCARD, D. Modelling directional spatial processes in ecological data. **Ecological Modelling**, v. 215, p. 325-336, 2008.

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.

BOTH, C.; MADALOZZO, B.; LINGNAU, R; GRANT, T. Amphibian richness patterns in Atlantic Forest areas invaded by American bullfrogs. **Austral Ecology**, v. 39, p. 864-874, 2014.

BRIDGES A. S.; DORCAS M. E. Temporal variation in anuran calling behavior: Implications for surveys and monitoring programs. **Copeia**, v. 2, p. 587-592, 2000.

BROWDER, J. O.; PEDLOWSKI, M. A.; WALKER, R. Revisiting theories of frontier expansion in the Brazilian Amazon: A survey of the colonist farming population in

Rondônia's post-frontier, 1992-2002. **World Development**, v. 36, n. 8, p. 1469-1492, 2008.

CABALLERO-DÍAZ, C.; SÁNCHEZ-MONTES, G.; BUTLER, H. M.; VREDENBURG, V. T.; MARTÍNEZ-SOLANO, Í. The role of artificial breeding sites in amphibian conservation: A case study in rural areas in central Spain. **Herpetological Conservation and Biology**, v. 15, p. 87-104, 2020.

CARVALHO, T. R.; MARTINS, L. B.; GIARETTA, A. A. The complex vocalization of *Scinax cardosoi* (Anura: Hylidae), with comments on advertisement calls in the *S. ruber* clade. **Phyllomedusa**, v. 14, n. 2, p. 127-137, 2015.

CASSIANO-LIMA, D.; LIMA, A. V. P.; FORTUNATO, M. E. M.; SOUSA, T. A.; CASTRO, D. P.; BORGES-NOJOSA, D. M.; CECHIN, S. Z. Reproductive biology of direct developing and threatened frog *Adelophryne maranguapensis* (Anura, Eleutherodactylidae) reveals a cryptic reproductive mode for anurans and the first record of parental care for the genus. **Journal of Natural History**, v. 54, p. 1721-1733, 2020.

CORDELL, D.; DRANGERT, J. O.; WHITE, S. The story of phosphorus: Global food security and food for thought. **Global Environmental Change**, v. 19, p. 292-305, 2009.

COLWELL, R. K. **EstimateS: statistical estimation of species richness and shared species from samples**. In: Version 5. User's Guide and applicaiton published at <<http://viceroy.eeb.uconn.edn>>. 1997.

CUNHA, G. C.; DALZUCHIO, M. S.; TOZETTI, A. M. Anuran diversity in ponds associated with soybean plantations. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 93, p. e202019262021, 2021.

CUSHMAN, S. A. Effects of habitat loss and fragmentation on amphibians: a review and prospectus. **Biological Conservation**, v. 128, p. 231-240, 2006.

DALMOLIN, D. A.; MATHIES FILHO, V.; TOZETTI, A. M. Anuran assemblage changes along small-scale phytophysiognomies in natural Brazilian grasslands. **Iheringia. Série Zoologia**, v. 111, p. e2021017, 2021.

DAYTON, G. H.; FITZGERALD, L. A. Priority effects and desert anuran communities. **Canadian Journal of Zoologie**, V. 83, P. 1112- 1116, 2005.

DE SOLLA, S. R.; BISHOP, C. A.; PETTIT, K. E.; ELLIOTT, J. E. Organochlorine pesticides and polychlorinated biphenyls (PCBs) in eggs of red- legged frogs (*Rana aurora*) and northwestern salamanders (*Ambystoma gracile*) in an agricultural landscape. **Chemosphere**, v. 46, p.1027-1032, 2002 a.

DE SOLLA, S. R.; PETTIT, K. E.; BISHOP, C. A.; CHENG, K. M.; ELLIOTT, J. E. Effects of agricultural runoff on native amphibians in the lower Fraser River Valley, British Columbia, Canada. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 21, p. 353-360, 2002 b.

DIAS, K. S.; DOSSO, E. S.; HALL, A. S.; SCHUCH, A. P.; TOZETTI, A. M. Ecological light pollution affects anuran calling season, daily calling period, and sensitivity to light in natural Brazilian wetlands. **Science of Nature**, v. 106, p. 7-8, 2019.

DÍAZ, J. A.; PEREZ-TRIS, J.; TELLERÍA, J. L.; CARBONELL, R.; SANTOS, T. Reproductive investment of a lacertid lizard in fragmented habitat. **Conservation Biology**, v. 19, p. 1578-1585, 2005.

DOBROVOLSKI, R.; MELO, A. S.; CASSEMIRO, F. A. S.; DINIZ-FILHO, J. A. F. Climatic history and dispersal ability explain the relative importance of turnover and nestedness components of beta diversity. **Global Ecology and Biogeography**, v. 21, n. 2, p. 1-7, 2011.

DOS SANTOS, R. C.; DALMOLIN, D. A.; RUM, D.; VERONEZ, M. R.; LUCAS, E. M., TOZETTI, A. M. Association between land use and composition of amphibian

species in temperate Brazilian forest remnants. **Herpetological Conservation and Biology**, v. 16, n. 3, p. 612-623, 2021.

DRAY, S.; PÉLISSIER, R.; COUTERON, P.; FORTIN, M.; LEGENDRE, P. PERES-NETO, E.; BELLIER, R.; BIVAND, F. G.; BLANCHET, M.; DE CÁCERES, A.-B.; *et al.* Community ecology in the age of multivariate multiscale spatial analysis. **Ecological Monographs**, v. 82, n. 3, p. 257-275, 2012.

EARL, J. E.; WHITEMAN, H. H. Evaluation of Phosphate Toxicity in Cope's Gray Treefrog (*Hyla chrysoscelis*) Tadpoles. **Journal of Herpetology**, 44, p. 201-208, 2010.

FAHRIG, L.; BAUDRY, J.; BROTONS, L.; BUREL, F. G.; CRIST, T. O.; *et al.* Functional landscape heterogeneity and animal biodiversity in agricultural landscapes. **Ecology Letters**, v. 14, p. 101-112, 2011.

FARINA, R. K.; PARABONI, C.; FIGUIERÓ, D.; RAGUSE-QUADROS, M.; SANTOS, C. F.; FERREIRA, P. M. A.; TOZETTI, A. M. Selection and use of calling site by *Boana leptolineata* and *Phyllomedusa distincta* during the reproductive season. **Iheringia, Série Zoologia**, v. 111, p. e2021013, 2021.

FERREIRA-SILVA, C.; OLIVEIRA, D. B.; OLIVEIRA, H. F. ÁVILA, R. W. Spatial and temporal distribution in two anuran communities in the Chapada do Araripe, Northeastern Brazil. **Biota Neotropica**, v. 16, p. 1-10, 2016.

FIGUEIREDO, G. T.; STORTI, L. F.; LOURENÇO-DE-MORAES, R.; SHIBATTA, O. A.; ANJOS, L. Influence of microhabitat on the richness of anuran species: a case study of different landscapes in the Atlantic Forest of southern Brazil. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 91, p. 2, p. e20171023, 2019.

FRACETTO, G. G. M.; AZEVEDO, L. C. B.; FRACETTO, F. J. C.; ANDREOTE, F. D.; LAMBAIS, M. R.; PFENNING, L. H. Impact of Amazon land use on the community of soil fungi. **Scientia Agricola**, v. 70, n. 2, 2013.

GANCI, C. C.; PROVETE, D. B.; PUTKER, T.; LINDERMAYER, D.; ALMEIDA-GOMES, M. High species turnover shapes anuran community composition in ponds along an urban-rural gradient. **Urban Ecosystems**, 2021.

GIBBONS, J. W. Terrestrial habitat: a vital component for herpetofauna of isolated wetlands. **Wetlands**, v. 23, p. 630-635, 2003.

GOTELLI, N. J.; COLWELL, R. K. Quantifying biodiversity: procedures and pitfalls in the measurement and comparison of species richness. **Ecology Letters**, v. 4, p. 379-391, 2001.

HADDAD, C. F. B.; GIOVANELLI, J. G. R.; GIASSON, L. O. M.; TOLEDO, L. F. **Guia sonoro dos anfíbios anuros da Mata Atlântica** – Sound guide of the Atlantic Rainforest anurans. CD-ROM. 2005.

HADDAD, C. F. B.; PRADO, C. P. A. Reproductive modes in frogs and their unexpected diversity in the Atlantic Forest of Brazil. **Bioscience**, v.55, p.207-217, 2005.

HADDAD, C. F. B.; TOLEDO, L. F.; PRADO, C. P. A.; LOEBMANN, D.; GASPARINI, J. L.; SAZIMA, I. **Guia dos Anfíbios da Mata Atlântica: Diversidade e Biologia**. São Paulo, Editora Anolis Books. 2013. 544 p.

HAMER, A. J.; MAKINGS, J. A.; LANE, S. J.; MAHONY, M. J. Amphibian decline and fertilizers used on agricultural land in south-eastern Australia. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 102, p. 299-305, 2004.

HAZELL, D.; CUNNINGHAM, D. L.; MACKEY, B.; OSBORNE, W. Use of farm dams as frog habitat in an Australian agricultural landscape: factors affecting species richness and distribution. **Biological Conservation**, v. 102, p. 155-169, 2001.

HUBBEL, S. P. **The unified neutral theory of biodiversity and biogeography**, Princeton University Press. Princeton, New Jersey, 2001. 448 p.

KLEIN, R. M. **Contribuição ao conhecimento da flora e da vegetação do Vale do Itajaí, Santa Catarina**. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, São Paulo; 1978a.

KLEIN, R. M. **Mapa fitogeográfico de Santa Catarina**. In: REITZ, R. (ed.). *Herbário Barbosa Rodrigues, Itajaí*. 1978b.

KNUTSON, M. G.; SAUER, J. R.; OLSEN, D. A.; MOSSMAN, M. J.; HEMESATH, L. M.; LANNOO, M. J. Effects of landscape composition and wetland fragmentation on frog and toad abundance and species richness in Iowa and Wisconsin, U.S.A. **Conservation Biology**, 13, 1437-1446, 1999.

KNUTSON, M. G.; RICHARDSON, W. B.; REINEKE, D. M.; GRAY, B. R.; PARMELEE, J. R.; WEICK, S. E. Agricultural ponds support amphibian populations. **Ecological Applications**, v. 14, p. 669-684, 2004.

KWET, A.; MÁRQUEZ, R. **Sound guide of the calls of frogs and toads from southern Brazil and Uruguay**. [S.l.]: Alosa. 2 CD-ROM. 2010.

LAAN, R.; VERBOOM, B. Effects of pool size and isolation on amphibian communities. **Biological Conservation**, v. 54, p. 251-262, 1990.

LAURANCE, W. F. Conserving the hottest of the hotspots. **Biological Conservation**, v. 142, p. 1137, 2009.

LEAL, I. R.; FILGUEIRAS, B. K. C.; GOMES, J. P., IANNUZZI, L.; ANDERSEN, A. N. Effects of habitat fragmentation on ant richness and functional composition in Brazilian Atlantic Forest. **Biodiversity and Conservation**, v. 21, p. 1687-1701, 2012.

LEGENDRE, P.; ANDERSON, M. J. Distance-based redundancy analysis: Testing multispecies responses in multifactorial ecological experiments. **Ecological Monographs**, v. 69, p. 1-24, 1999.

LEGENDRE, P.; LEGENDRE, L. F. **Numerical ecology**. Oxford: Elsevier; 2012.

LIMA, M. S. C. S.; PEIXOTO, O. L. Comportamento de girinos de *Chaunus itericus* Spix, 1824 (Anura, Bufonidae) em diferentes concentrações de oxigênio dissolvido. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 9, 1, p. 103-109, 2007.

LAPOSATA, M. M.; DUNSON, W. A. Effects of spray-irrigated wastewater effluent on temporary pond-breeding amphibians. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 46, p. 192-201, 2000.

MARSH, D. M.; RAND, A. S.; RYAN, M. J. Effects of inter-pond distance on the breeding ecology of tungara frogs. **Oecologia**, v. 122, p. 505-513, 2000.

MARSH, D. M.; TRENHAM, P. C. Metapopulation dynamics and amphibian conservation. **Conservation Biology**, v. 15, 40-49, 2001.

MARTINS, L. A. P.; MILLAN, R. N.; MARTINS, E. S.; SANTIAGO, A. F. Water quality of small fish ponds associated with swine culture. **Pan-America Journal of Aquatic Sciences**, v. 13, p. 93-101, 2018.

MAZEROLLE, M. J.; DESROCHERS, A. Landscape resistance to frog movements. **Canadian Journal of Zoology**, v. 83, n. 3, p. 455 - 464, 2005.

MCKINNEY, M. L.; LOCKWOOD, J. L. Biotic homogenization: a few winners replacing many losers in the next mass extinction. **Trends in Ecology & Evolution**, v. 14, n. 11, p.450-453, 1999.

MORAES, R. A.; SAWAYA, R. J.; BARRELA, W. Composição e diversidade de anfíbios anuros em dois ambientes de Mata Atlântica no Parque Estadual Carlos Botelho, São Paulo, sudeste do Brasil. **Biota Neotropica**, v. 7, n. 2, p.1-10, 2007.

MOSER, C. F.; OLMEDO, G. M.; OLIVEIRA, M.; TOZETTI, A. M. Movement ecology and habitat use in males of two species of Boana (Anura: Hylidae) during the breeding season. **Herpetology Notes**, v. 12, p. 885-893, 2019.

NEVES, K. A. L.; XIMENES, T.; MARTINEZ, B. G.; MORINI, A. C.; MINERVINO, A. H. H.; VALE, W. G. A pecuária na Amazônia: a busca por um modelo sustentável. **Papers do NAEA (UFPA)**, v. 330, p. 1-19-19, 2014.

NOWAKOWSKI, A. J.; THOMPSON, M. E.; DONNELLY, M. A.; TODD, B. D. Amphibian sensitivity to habitat modification is associated with population trends and species traits. **Global Ecology and Biogeography**, 26, 700-712. 2017.

ODA, F. H.; BATISTA, V. G.; GAMBALE, P. G.; MISE, F. T.; SOUZA, F.; BELLAY, S.; ORTEGA, J. C. G. TAKEMOTO R. M. Anuran Species Richness, Composition, and Breeding Habitat Preferences: A Comparison between Forest Remnants and Agricultural Landscapes in Southern Brazil. **Zoological Studies**, v. 55, p. 55-34, 2016.

ODA, F. H.; GONÇALVES, S.; ODA, T. M.; TSCHOPE, L. C. R. BRISO, A. L. F.; OLIVEIRA, M. R. F.; TAKEMOTO, M. R.; VASCONCELOS, T. S. Influence of vegetation heterogeneity and landscape characteristics on anuran species composition in aquatic habitats along an urban-rural gradient in southeastern Brazil. **Zoology and Ecology**, v. 21, n. 3-4, p. 235-244, 2017.

OKSANEN, J.; BLANCHET, F. G.; FRIENDLY, M.; KINDT, R.; LEGENDRE, P.; MCGLINN, D.; WAGNER, H. **Vegan: Community Ecology Package**. R package version 2.5-5. 2019.

OLDEN, J. D. Biotic homogenization: A new research agenda for conservation biogeography. **Journal of Biogeography**, v. 33, p. 2027-2039, 2006.

OLDEN, J. D.; POFF, N. L.; DOUGLAS, M. R.; DOUGLAS, M. E.; FAUSCH, K. D. Ecological and evolutionary consequences of biotic homogenization. **Trends in Ecology & Evolution**, v. 19, p. 18-24, 2004.

OLIVEIRA, E. F.; FEIO, R. N.; MATTA, S. L. P. Aspectos reprodutivos de *Dendropsophus minutus* (Peters, 1872) no município de Viçosa, Minas Gerais. **Ceres**, v. 54 n. 313, p. 230-238, 2007.

PEEL, M. C.; FINLAYSON, B. L.; MCMAHON, T. A. Updated world map of the Köppen-Geiger climate classification. **Hydrology and Earth System Sciences Discussions**, v. 4, p. 439-473, 2007.

PETZET, S.; CORNEL, P. Phosphorus Recovery from Wastewater. In. HESTER, R. E.; HARRISON, R. M. (eds.), **Waste as a Resource**. Royal Society of Chemistry, 2013. 444p.

PIANO, E.; SOUFFREAU, C.; MERCKX, T.; *et al.* Urbanization drives cross-taxon declines in abundance and diversity at multiple spatial scales. **Global Change Biology**, v. 26, n. 3, p. 1196-1211, 2019.

PIRANI, R. M.; NASCIMENTO, L. B. FEIO, R. N. Anurans in a forest remnant in the transition zone between cerrado and atlantic rain forest domains in southeastern Brazil. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 85, p. 1093-1104, 2013.

PORTER, W. P.; BUDARAJU, S.; STEWART, W. E.; RAMANKUTTY, N. Calculating climate effects on birds and mammals: impacts on biodiversity, conservation, population parameters, and global community structure. **American Zoologist**, v. 40, p. 597-630, 2000.

PRADO, V. H. M.; ROSSA-FERES, D. C. Multiple Determinants of Anuran Richness and Occurrence in an Agricultural Region in South-Eastern Brazil. **Environmental Management**, v. 53, p. 823-837, 2014.

PREUSS, J. F. Distribuição espaço-temporal da rã invasora, *Lithobates catesbeianus* (Anura, Ranidae) (Shaw, 1802) em dois remanescentes florestais da Mata Atlântica no sul do Brasil. **Biota Amazônia**, v. 7, p. 26-30, 2017.

PREUSS, J. F.; GREENSPAN, S.; ROSSI, E. M.; LUCAS, E. M.; NEELY, W. J.; VALIATI, HUGO, V.; WOODHAMS, D.C.; BECKER, C. G.; TOZETTI, A. M. Widespread Pig Farming Practice Linked to Shifts in Skin Microbiomes and Disease in Pond-Breeding Amphibians. **Environmental Science & technology**, v. 54, p. 11301-11312, 2020.

RELYEA, R. A. A cocktail of contaminants: how mixtures of pesticides at low concentrations affect aquatic communities. **Oecologia**, v. 159, p. 363-376, 2009.

RICK, A. R. The lethal impacts of roundup on aquatic and terrestrial amphibians. **Ecological Applications**, v. 15, n. 4, p. 1118-1124, 2005.

ROBERTSON, B. A.; HUTTO, R. L. A framework for understanding ecological traps and an evaluation of existing evidence. **Ecology**, v. 87p. 1075-1085, 2006.

RUBBO, M. J.; KIESECKER, J. M. Distribuição de reprodução de anfíbios em uma paisagem urbanizada. **Conservation Biology**, 19, p. 2. 504-511, 2005.

SANTOS, T. G.; VASCONCELOS, T. S.; ROSSA-FERES, D. C.; HADDAD, C. F. B. Anurans of seasonally dry tropical forest: Morro do Diabo State Park, São Paulo State, Brazil. **Journal of Natural History**, v. 43, n. 15-16, p. 973-993, 2009.

SANTOS, N. L. P. DA S. dos; COLOMBO, P.; AVILA, F. R. D. E.; OLIVEIRA, M. D. E.; TOZETTI, A. M. Calling Site Selection by the South American Tree-Frog *Hypsiboas pulchellus* (Anura, Hylidae) in Subtropical Wetlands. **South American Journal of Herpetology**, v. 11, n. 3, p. 149-156, 2016.

SIEVERS, M.; HALE, R.; PARRIS, K. M.; SWEARER, S. E. Impacts of human-induced environmental change in wetlands on aquatic animals. **Biological Reviews**, v. 93, p. 529-554, 2018a.

SIEVERS, M.; PARRIS, K.M.; SWEARER, S.E.; HALE, R. Stormwater wetlands can function as ecological traps for urban frogs. **Ecological Applications**, v. 28, p. 1106-1115, 2018b.

SILVA, F. R.; ROSSA-FERES, D. C. Uso de fragmentos florestais por anuros (Amphibia) de área aberta na região noroeste do Estado de São Paulo. **Biota Neotropica**, v. 7, n. 2, 2007.

SILVA, F. R.; ROSSA-FERES, D. C. Influence of terrestrial habitat isolation on the diversity and temporal distribution of anurans in an agricultural landscape. **Journal of Tropical Ecology (Print)**, v. 27, p. 327-331, 2011.

SILVA, F. R.; PRADO, V. H. M.; ROSSA-FERES, D. C. Value of small forest fragments to amphibians. **Science**, v. 332, p. 1033, 2011.

SILVA, F. R.; CANDEIRA, C. P.; ROSSA-FERES, D. C. Dependence of anuran diversity on environmental descriptors in farmland ponds. **Biodiversity and Conservation**, v. 1, p. 1-14, 2012 a.

SILVA, F. R.; OLIVEIRA, T. A. L.; GIBBS, J. P.; ROSSA-FERES, D. C. An experimental assessment of landscape configuration effects on frog and toad abundance and diversity in tropical agro-savannah landscapes of southeastern Brazil. **Landscape Ecology**, v. 27, p. 87-96, 2012 b.

SILVA, V. X. da; SACRAMENTO, M.; HASUI, É.; CUNHA, R. G. T. da; RAMOS, F. N. Taxonomic groups with lower movement capacity may present higher beta diversity. *Iheringia. Série Zoologia*, v. 107, p. e2017005, 2017.

SMALLING, K. L.; REEVES, R.A.; MUTHS, E.; VANDEVER, M.; BATTAGLIN, W. A. HLADIK, M. L.; PIERCE, C. L. Pesticide concentrations in frog tissue and wetland habitats in a landscape dominated by agriculture. **Science of the Total Environment**, v. 502, p.80-90, 2015.

SMITH, S.V.; SWANEY, D. P.; TALAUE-MCMANUS, L.; BARTLEY, J. D.; SANDHEI, P. T.; MCLAUGHLIN, C. J.; DUPRA, V. C.; CROSSLAND, C. J.; BUDDEMEIER, R. W.; MAXWELL, B. A.; WULFF, F. Humans, hydrology, and the distribution of inorganic nutrient loading to the ocean. **Bioscience**, v. 53, p. 235-245, 2003.

SMITH, G. R. Lack of effect of nitrate, nitrite, and phosphate on Wood Frog (*Rana sylvatica*) tadpoles. **Applied Herpetology**, v. 4, p. 287-291, 2007.

SOININEN, J.; LENNON, J. J.; HILLEBRAND, H. A. A Multivariate Analysis of Beta Diversity across Organisms and Environments. **Ecology**, v. 88, n. 11, p. 2830-2838, 2007.

SOLAR, R. R.; BARLOW, J.; FERREIRA, J.; BERENQUER, E.; LEES, A. C.; THOMSON, J. R.; GARDNER, T. A. How pervasive is biotic homogenization in human-modified tropical forest landscapes? **Ecology Letters**, v. 18, p. 1108-1118, 2015.

SOWERS, A. D.; MILLS, M. A.; KLAINÉ, S. J.; The developmental effects of a municipal wastewater effluent on the northern leopard frog, *Rana pipiens*. **Aquatic Toxicology**, v. 94, p.145-152, 2009.

STOATE, C.; BÁLDI, A.; BEJA, P.; BOATMAN, N. D.; HERZON, I.; VAN DOORN, A.; DE SNOO, G. R.; RAKOSY, L.; RAMWELL, C. Ecological impacts of early 21st century agricultural change in Europe a review. **Journal of Environmental Management**, v. 91, p. 22-46, 2009.

STORFER, A. Amphibian declines: future directions. **Diversity and Distribution**, v. 9, p. 151-163, 2003.

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

TILMAN, D. Global environmental impacts of agricultural expansion: The need for sustainable and efficient practices. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 96, p. 5995-6000, 1999.

TREECE, G. D. Zooplankton Culture. In: **Stickney, Ed. Encyclopedia of Aquaculture**, Wiley J.; Sons, New York; pp 1037-1044, 2000.

VALDEZ, J. W.; GOULD, J.; GARNHAM, J. I. Global assessment of artificial habitat use by amphibian species. **Biological Conservation**, v. 257, p. 109129, 2021.

VASCONCELOS, T. S.; ROSSA-FERES, D. C. Diversidade, distribuição espacial e temporal de anfíbios anuros (Amphibia, Anura) na região noroeste do estado São Paulo, Brasil. **Biota Neotropica**, v.5, p.1-14, 2005.

VASCONCELOS, T. S.; SANTOS, T. G.; ROSSA-FERES, D. C.; HADDAD, C. F. B. Influence of the environmental heterogeneity of breeding ponds on anuran assemblages from southeastern Brazil. **Canadian Journal Zoology**, v. 87, p. 699-707. 2009.

VIBRANS, A. C.; SEVGNANI, L.; LINGNER, D. V.; GASPER, A. L.; SABBAGH, S. Inventário florístico florestal de Santa Catarina (IFFSC): aspectos metodológicos e operacionais. **Pesquisa Florestal Brasileira**, v. 30, n. 64, p. 291-302, 2010.

VIBRANS, A. C.; SEVEGNANI, L.; GASPER, A. L.; LINGNER, D. V. **Inventário Florístico Florestal de Santa Catarina. Volume I: diversidade e conservação dos remanescentes florestais**. Blumenau: Editora da FURB, 344 p., 2012.

VELLEND, M.; VERRHNE, K.; FLINN, K.; JACQUEMYN, H.; KOLB, A.; VAN CALSTER, H.; HERMY, M. Homogenization of forest plant communities and weakening of species environment relationships via agricultural land use. **Journal of Ecology**, v. 95, n. 3, p. 565-573, 2007.

VON MAY, R.; JACOBS, J. M.; SANTA CRUZ R. VALDIVIA, J.; HUAMÁN, J.; DONNELLY, M. A. Amphibian community structure as a function of forest type in Amazonian Peru. **Journal of Tropical Ecology**, v. 26, p. 509-519, 2010.

WANG, Y.; THORNTON, D. H.; GE, D.; WANG, S.; DING, P. Ecological correlates of vulnerability to fragmentation in forest birds on inundated subtropical land-bridge islands. **Biological Conservation**, v. 191, p. 251-257, 2015.

WOOLBRIGHT, L. L. Patterns of nocturnal movement and calling by the tropical frog, *Eleutherodactylus coqui*. **Herpetologica**, v. 41, p. 1-9, 1985

XIMENEZ, S. D. A. S.; TOZETTI, A. M. Seasonality in anuran activity and calling season in a Brazilian subtemperate wetland. **Zoological Studies**, v. 54, 2015.

ZACHOS, F. E.; HABEL, J. C. **Biodiversity Hotspots: Distribution and Protection of Conservation Priority Areas**. Springer, Heidelberg [Germany]; New York. 2011.

ZEE, P. C.; FUKAMI, T. Complex organism – environment feedbacks buffer species diversity against habitat fragmentation. **Ecography**, v. 38, p. 370-379, 2015.

ZINA, J.; HADDAD, C. F. Reproductive activity and vocalizations of *Leptodactylus labyrinthicus* (Anura: Leptodactylidae) in southeastern Brazil. **Biota Neotropica**, v. 5, n. 2. P. 119-129, 2005.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A intensificação das atividades humanas tem sido uma das maiores ameaças à biodiversidade. A perda de habitat, o isolamento de remanescentes, a poluição ambiental e as doenças emergentes, são exemplos de fatores que estão diretamente relacionados à alteração antrópica. A falta de conhecimento a respeito da diversidade biológica e dos fatores que a governam em diferentes escalas pode ser também um eminente problema, uma vez que reduz nosso poder preditivo. Esses impactos negativos dificilmente são reversíveis, então é necessário buscar alternativas para conservar a diversidade de espécies mesmo com o aumento das atividades humanas. Este trabalho é o primeiro estudo em microescala realizado em lagoas artificiais utilizadas para a criação integrada de suínos e piscicultura, a fim de verificar os padrões de composição, diversidade e a susceptibilidade a doenças associadas a anuros neotropicais.

No primeiro capítulo foi evidenciado que o descarte de dejetos do tipo esterco na água, através da criação integrada de peixes e suínos altera a comunidade microbiana da pele de anfíbios e aumenta o risco de quitridiomiose; uma doença causada pelo fungo patogênico *Batrachochytrium dendrobatidis* (*Bd*). Este capítulo também destaca a capacidade do *Bd* sobreviver em habitats naturais, onde a qualidade da água é alterada por fontes antrópicas, como o confinamento de animais. Nossas descobertas indicam que entradas maciças de dejetos no ambiente aquático modifica o *pool* bacteriano aquático e altera o microbioma cutâneo dos anfíbios, recrutando proporções mais altas de bactérias com propriedades facilitadoras do *Bd*. Isso indica uma possível interrupção dos processos naturais de organização e função dos microbiomas (disbiose), e consequentemente aumenta a pressão da infecção em hospedeiros que dependem dessas lagoas para persistência da população. Nós nos concentramos em poluentes orgânicos de origem animal, pois eles são amplamente distribuídos globalmente, mas sabemos que

muitos outros tipos de poluentes afetam os anfíbios. Por isso, este estudo lança uma nova luz para futuras pesquisas, a fim de compreender os impactos das variadas formas de poluição sobre a saúde dos anfíbios.

No segundo capítulo, os nossos resultados mostraram que estas lagoas artificiais podem atuar como importantes sítios reprodutivos para os anuros, especialmente em habitats antropizados com baixa disponibilidade de locais para a reprodução. Mas a possibilidade em oferecer oportunidades reprodutivas, e consequentemente, ajudar a manter populações de anuros, depende da configuração do habitat em que essas lagoas estão inseridas. Ressaltamos que os parâmetros químicos da água e a configuração do habitat de entorno das lagoas são os elementos que mais explicaram a variação da diversidade de anuros. Todavia, a caracterização do ambiente do entorno teve papel predominante sobre as diferenças entre as comunidades. O nível de exposição do solo na área de entorno foi o componente que mais atuou sobre o componente de *turnover* da diversidade beta. Expomos neste capítulo que as complexas assembléias florestais foram substituídas por novos ecossistemas que têm assembléias simples de anuros, compostas principalmente por espécies colonizadoras generalistas, que o processo de *turnover* de espécies seja uma consequência da simplificação da paisagem causada pela remoção da cobertura vegetal original, culminando na homogeneização biótica. Dentre os parâmetros aquáticos, a concentração de fosfato foi o único que se mostrou relevante para a configuração das comunidades, o que é factível supor como o nível de contaminação dessas lagoas é uma potencial ameaça e atue na seleção de espécies em uma comunidade de anuros.

E, para finalizar, os resultados apresentados nesta tese demonstram a importância de incorporar a microescala em estudos ecológicos, tendo em vista a importância relativa dessa escala nos fatores que determinam os padrões estruturais de

biodiversidade. Assim, mais estudos que consideram a perspectiva de composição e diversidade espécies, da qualidade ambiental e da saúde dos anfíbios em menor escala são de interesse, e devem ser considerados tanto para o manejo de doenças, quanto para se criar políticas públicas que busquem a conservação da biodiversidade em cenários atuais e futuros.

ANEXOS

Anexo 1. Licença de coleta de anfíbios.



Ministério do Meio Ambiente - MMA
 Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
 Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 65049-1	Data da Emissão: 05/09/2018 14:33:19	Data da Revalidação*: 05/09/2019
De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: Jackson Fabio Preuss	CPF: 059.492.489-88
----------------------------	---------------------

Cronograma de atividades

#	Descrição da atividade	Início (mês/ano)	Fim (mês/ano)
1	Coleta da água	09/2018	12/2018
2	Coletas das amostras fúngicas (Batrachochytrium dendrobatidis)	09/2018	12/2018

Equipe

#	Nome	Função	CPF	Nacionalidade
1	camila fernanda moser	Auxiliar de campo	033.971.130-24	Brasileira
2	WILLIAM BOAVISTA MACHADO	Auxiliar de campo	031.699.620-35	Brasileira
3	Ariel Meirelles Danzmann	Auxiliar de campo	043.596.090-35	Brasileira
4	NATÁLIA APARECIDA MENDONÇA	Auxiliar de campo	872.663.180-68	Brasileira

Observações e ressalvas

1	O titular de autorização ou de licença permanente, assim como os membros de sua equipe, quando da violação da legislação vigente, ou quando da inadequação, omissão ou falsa descrição de informações relevantes que subsidiaram a expedição do ato, poderá, mediante decisão motivada, ter a autorização ou licença suspensa ou revogada pelo ICMBio, nos termos da legislação brasileira em vigor.
2	As atividades de campo exercidas por pessoa natural ou jurídica estrangeira, em todo o território nacional, que impliquem o deslocamento de recursos humanos e materiais, tendo por objeto coletar dados, materiais, espécimes biológicos e minerais, peças integrantes da cultura nativa e cultura popular, presente e passada, obtidos por meio de recursos e técnicas que se destinem ao estudo, à difusão ou à pesquisa, estão sujeitas a autorização do Ministério de Ciência e Tecnologia.
3	O titular de licença ou autorização e os membros da sua equipe deverão optar por métodos de coleta e instrumentos de captura direcionados, sempre que possível, ao grupo taxonômico de interesse, evitando a morte ou dano significativo a outros grupos; e empregar esforço de coleta ou captura que não comprometa a viabilidade de populações do grupo taxonômico de interesse em condição in situ.
4	Esta autorização NÃO exige o pesquisador titular e os membros de sua equipe da necessidade de obter as anuências previstas em outros instrumentos legais, bem como do consentimento do responsável pela área, pública ou privada, onde será realizada a atividade, inclusive do órgão gestor de terra indígena (FUNAI), da unidade de conservação estadual, distrital ou municipal, ou do proprietário, arrendatário, possessor ou morador de área dentro dos limites de unidade de conservação federal cujo processo de regularização fundiária encontra-se em curso.
5	Este documento somente poderá ser utilizado para os fins previstos na Instrução Normativa ICMBio nº 03/2014 ou na Instrução Normativa ICMBio nº 10/2010, no que especifica esta Autorização, não podendo ser utilizado para fins comerciais, industriais ou esportivos. O material biológico coletado deverá ser utilizado para atividades científicas ou didáticas no âmbito do ensino superior.
6	Em caso de pesquisa em UNIDADE DE CONSERVAÇÃO, o pesquisador titular desta autorização deverá contactar a administração da unidade a fim de CONFIRMAR AS DATAS das expedições, as condições para realização das coletas e de uso da infra-estrutura da unidade.
7	Este documento não dispensa o cumprimento da legislação que dispõe sobre acesso a componente do patrimônio genético existente no território nacional, na plataforma continental e na zona econômica exclusiva, ou ao conhecimento tradicional associado ao patrimônio genético, para fins de pesquisa científica, bioprospecção e desenvolvimento tecnológico. Veja maiores informações em www.mma.gov.br/cgen .

Este documento foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 0650490120180905

Página 1/3



Ministério do Meio Ambiente - MMA
 Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
 Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 65049-1	Data da Emissão: 05/09/2018 14:33:19	Data da Revalidação*: 05/09/2019
De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: Jackson Fabio Preuss	CPF: 059.492.489-88
----------------------------	---------------------

Locais onde as atividades de campo serão executadas

#	Descrição do local	Caverna?	Tipo
1	Linha Pindorama	Não	Fora de UC Federal
2	Área rural do município de Tapes	Não	Fora de UC Federal
3	Linha Prata	Não	Fora de UC Federal
4	Linha Ferreira	Não	Fora de UC Federal
5	Linha Barra do Guamirim	Não	Fora de UC Federal

Atividades X Táxons

#	Atividade	Táxon	Qtde.
1	Captura de animais silvestres in situ	Dendropsophus minutus	-
2	Coleta/transporte de amostras biológicas ex situ	Dendropsophus minutus	-
3	Coleta/transporte de espécimes da fauna silvestre in situ	Dendropsophus minutus	30

Materiais e Métodos

#	Tipo de Método (Grupo taxonômico)	Materiais
1	Amostras biológicas (Anfíbios)	Outras amostras biológicas
2	Método de captura/coleta (Anfíbios)	Captura manual

Destino do material biológico coletado

#	Nome local destino	Tipo destino
1	UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS	Laboratório
2	Universidade do Vale do Rio Dos Sinos	Coleção

Este documento foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 0650490120180905

Página 2/3

Anexo 2. Comitê de ética da UNISINOS.

UNIVERSIDADE DO VALE DO RIO DOS SINOS
 Unidade de Administração de Infraestrutura e Serviços
 Comissão de Ética no Uso de Animais - CEUA

PARECER_FINAL_PPECEUA 06.2018

A Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA da Universidade do Vale do Rio dos Sinos - UNISINOS analisou o projeto abaixo descrito:

Código de protocolo: PPECEUA06.2018

Versão: 11.2018 (retorno diligência)

Título: *“Efeito eco toxicológico da exposição simultânea de dejetos de suínos e da quítridiomicose em anuros do sul do Brasil”*

Coordenador: Prof. Dr. Alexandre Marques Tozetti

Departamento: Laboratório de Ecologia de Vertebrados Terrestres – LEVERT - UNISINOS

DECISÃO da CEUA: o projeto após avaliação das alterações encaminhadas e sugeridas em parecer 06.2018 e diligência, na reunião do dia 14 de novembro de 2018, foi **APROVADO** por estar adequado ética e metodologicamente e de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com a Diretriz Brasileira para o Cuidado e a Utilização de Animais para Fins Científicos e Didáticos – DBCA e com a Resolução UNISINOS 04/2013.

O proponente deverá encaminhar relatório anual sobre o andamento do projeto à CEUA – UNISINOS, comunicar à mesma qualquer alteração na equipe ou na metodologia prevista como também a ocorrência de acidentes com os animais utilizados, com vistas ao preenchimento do relatório anual da CEUA junto ao CONCEA.

São Leopoldo, 14 de novembro de 2018.

Tanise Gemelli

Coordenadora CEUA - UNISINOS

Anexo 3. Imagem da primeira página do artigo publicado (Capítulo 1) na Revista Environmental Science & Technology, 2020.

Widespread Pig Farming Practice Linked to Shifts in Skin Microbiomes and Disease in Pond-Breeding Amphibians

Jackson F. Preuss,^{*} Sasha E. Greenspan, Eliandra M. Rossi, Elaine M. Lucas Gonsales, Wesley J. Neely, Victor Hugo Valiati, Douglas C. Woodhams, C. Guilherme Becker,^{*,#} and Alexandro M. Tozetti^{*,#}

Cite This: <https://dx.doi.org/10.1021/acs.est.0c03219>

Read Online

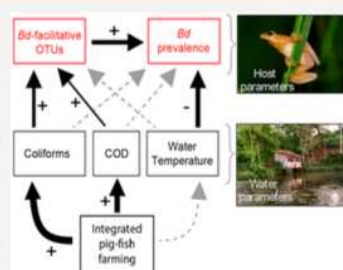
ACCESS |

Metrics & More

Article Recommendations

Supporting Information

ABSTRACT: Farming practices may reshape the structure of watersheds, water quality, and the health of aquatic organisms. Nutrient enrichment from agricultural pollution increases disease pressure in many host–pathogen systems, but the mechanisms underlying this pattern are not always resolved. For example, nutrient enrichment should strongly influence pools of aquatic environmental bacteria, which has the potential to alter microbiome composition of aquatic animals and their vulnerability to disease. However, shifts in the host microbiome have received little attention as a link between nutrient enrichment and diseases of aquatic organisms. We examined nutrient enrichment through the widespread practice of integrated pig–fish farming and its effects on microbiome composition of Brazilian amphibians and prevalence of the globally distributed amphibian skin pathogen *Batrachochytrium dendrobatidis* (Bd). This farming system drove surges in fecal coliform bacteria, disturbing amphibian skin bacterial communities such that hosts recruited higher proportions of Bd-facilitative bacteria and carried higher Bd prevalence. Our results highlight previously overlooked connections between global trends in land use change, microbiome dysbiosis, and wildlife disease. These interactions may be particularly important for disease management in the tropics, a region with both high biodiversity and continually intensifying anthropogenic pressures on aquatic wildlife habitats.



1. INTRODUCTION

Farming practices may lead to destruction, fragmentation, and pollution of wildlife habitats, with consequences for the health and stability of animal populations.^{1–4} For instance, manure and wastewater from livestock farming can leach into water bodies and watersheds, altering the pool of aquatic microorganisms^{5,6} and mediating exposure of wildlife to pathogenic microbes.^{7,8} Runoff from livestock farming may also adversely influence vertebrates through shifts in host innate and adaptive immunity, increasing the likelihood of disease outbreaks.^{9–11}

Amphibians are among the most threatened vertebrates¹² and are particularly vulnerable to pollution due to their highly permeable skin and, in many cases, biphasic life cycles comprising both aquatic and terrestrial phases.^{13,14} The negative effects of environmental pollution on amphibian health are evidenced in many agricultural pond systems.^{15–17} Studies have suggested that agricultural runoff into aquatic habitats may increase both prevalence and virulence of amphibian pathogens,^{18,19} including ranavirus^{20–22} and the amphibian chytrid fungus *Batrachochytrium dendrobatidis* (Bd).^{15,23} Bd is a main driver of amphibian population declines and extinctions worldwide,^{24,25} and the wide range of agricultural practices used in different regions highlights the need to investigate interactive effects between specific types of

environmental pollution and the risk of chytridiomycosis in amphibians.^{26–29}

Accelerated livestock production in tropical regions such as South America and Sub-Saharan Africa³⁰ is expected to have detrimental effects on amphibian biodiversity through pollution as well as habitat destruction and fragmentation.³⁴ In southern Brazil, diverse amphibian communities are exposed to a farming practice that integrates pig farming with fish farming.^{31–33} This practice consists of housing pigs over a pond such that slurry (liquid manure) drains directly into the pond.^{34–37} Swine slurry changes the physicochemical variables and raises the biological productivity of the pond,^{38,39} consequently increasing fish production. Fish also feed directly on the pig excrement, which contains 70% digestible food.⁴⁰ This practice has been acknowledged as an efficient method of both waste utilization and disposal.³⁵ Recent studies have analyzed effects of this practice on dissemination of viruses and other human-associated pathogens.⁴ However, studies linking

Received: May 20, 2020

Revised: July 28, 2020

Accepted: August 10, 2020

Anexo 4. Divulgação da Pesquisa nos meios de comunicação local (Emissora 103FM).

Notícias | História | Programação | Áudios

ARTIGO PUBLICADO - 09/09/2020 11:08

VÍDEO: Atualidades Entrevista recebe o professor e biólogo Jackson Preuss

Comente agora! | Recomendar correção | Tweetar | Recomendar 15



O Atualidades Entrevista da 103FM recebeu nesta quarta-feira (8) o professor e biólogo da Unoesc São Miguel do Oeste, Jackson Fabio Preuss, que teve o seu artigo: "[Ampla prática de criação suína ligada às alterações no microbioma cutâneo e doença em anfíbios associados a açudes](#)" publicado, recentemente, na revista científica internacional, *Environmental Science & Technology*. O artigo é fruto de parte de sua tese de doutorado em Biologia.

Sobre a pesquisa

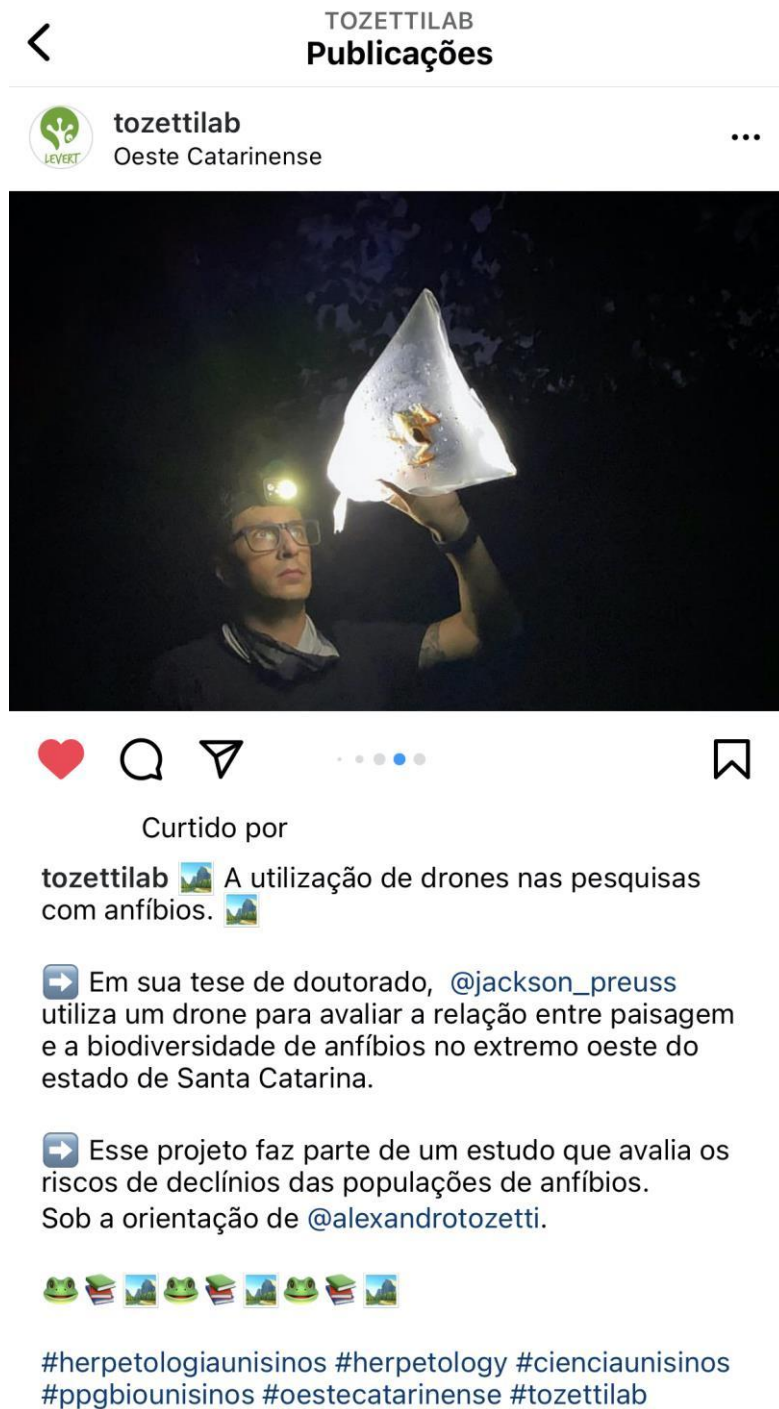
Segundo o professor Jackson Preuss, a Ciência já sabe que a exposição a contaminantes ambientais tem o potencial de alterar a microbiota cutânea de vertebrados, alterando sua imunidade inata e adaptativa e, conseqüentemente, aumentando a probabilidade de surtos de doenças. Ele explica que, durante a pesquisa, os pesquisadores testaram se o descarte de resíduos na água, por meio da criação integrada de suínos e piscicultura, altera as comunidades microbianas da pele de anfíbios tropicais e se, conseqüentemente, aumenta o risco de quitridiomiose, uma doença causada pelo fungo patógeno *Batrachochytrium dendrobatidis* (*Bd*) e que vem sendo associada ao declínio e extinção de muitas espécies.

"Nossos resultados indicam que, ao interromper os processos naturais de organização e função dos microbiomas, as descargas de dejetos oriundos da criação integrada de peixes e suínos podem aumentar a pressão de doenças em hospedeiros. Esse trabalho também destaca os mecanismos complexos subjacentes à dinâmica da montagem do microbioma e doenças da vida selvagem em ambientes poluídos. Além disso, lança uma nova luz sobre os impactos de uma prática agrícola generalizada na saúde das populações da vida selvagem", ressalta o professor Jackson Preuss.

<https://wh3.com.br/103fm/noticia/203526/video-atualidades-entrevista-recebe-o-professor-e-biologo-jackson-preuss.html>

Fonte: <https://wh3.com.br/103fm/noticia/203526/video-atualidades-entrevista-recebe-o-professor-e-biologo-jackson-preuss.html>

Anexo 5. Divulgação da Pesquisa nas redes sociais (Instagram @tozettilab).



Anexo 6. Palestra sobre a quitridiomiose ministrada no dia 05 de outubro de 2018 no IV Simpósio Gaúcho de Herpetologia.

