

UNIVERSIDADE DE PASSO FUNDO
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AMBIENTAIS

**Bioacumulação de agrotóxicos e genotoxicidade em anuros no sul do
Brasil**

Thaís Ascoli Morrete

Passo Fundo

2020

Thaís Ascoli Morrete

Bioacumulação de agrotóxicos e genotoxicidade em anuros no sul do Brasil

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Passo Fundo, como requisito parcial para obtenção de título de Mestre em Ciências Ambientais.

Orientadora:

Dra. Noeli Zanella

Coorientadora:

Dra. Luciana Grazziotin Rossato Grando

Passo Fundo

2020

CIP – Catalogação na Publicação

- M873b Morrete, Thaís Ascoli
Bioacumulação de agrotóxicos e genotoxicidade em anuros do sul do Brasil [recurso eletrônico] / Thaís Ascoli Morrete. – 2020.
960 KB ; PDF.
- Orientação: Profª. Dra. Noeli Zanela.
Coorientação: Profª. Dra. Luciana Grazziotin Rossato Grando.
Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais) – Universidade de Passo Fundo, 2020.
1. Anuros – Rio Grande do Sul. 2. Anfíbios – Contaminação.
3. Produtos químicos agrícolas. 4. Toxicologia genética. I. Zanela, Noeli, orientadora. II. Rossato, Luciana Grazziotin, coorientadora.
III. Título.

CDU: 597.6

Catalogação: Bibliotecária Juliana Langaro Silveira - CRB 10/2427

ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO



ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO

A Banca Examinadora, abaixo assinada, aprova a Dissertação:

**“Bioacumulação de agrotóxicos e genotoxicidade em anuros no sul do
Brasil”**

Elaborada por

THÁIS ASCOLI MORRETE

Como requisito parcial para a obtenção do grau de
“Mestre em Ciências Ambientais”

Aprovado em: 25/09/2020
Pela Banca Examinadora



Profa. Dra. Noeli Zanella
Presidente da Comissão Examinadora – UPF/PPGCiAmb

Profa. Dra. Marília Teresinha Hartmann
Universidade Federal Fronteira Sul - UFFS

Profa. Dra. Eliane Dallegrove
Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre - UFCSPA

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, aos meus pais Ivani e José por serem os maiores apoiadores dos meus sonhos. Obrigada por acreditarem em mim, serem amor, carinho e abrigo em todos os momentos de minha vida. Também ao meu irmão Luiz Otávio que sempre espera ansioso minhas visitas, você alegra meus dias. Amo muito vocês.

Ao meu namorado e colega de profissão Elias, pelo apoio, carinho e compreensão. Além de todo apoio emocional, agradeço o auxílio nos campos, nas amostragens em laboratório e na revisão da escrita da dissertação e de vários outros trabalhos e artigos durante o mestrado. Amo você.

À minha família, tias (os), primas (os) e minha avó Olga, que sempre mandaram mensagens de carinho e estiveram dispostas a ajudar no que for preciso.

Agradeço, em especial, a equipe dos laboratórios de Herpetologia e Ecologia (William, Isis, Humberto, Rhaíssa, Carlos, Julia, Amanda, Jordana, Laura, Miguel) que deram um grande suporte nas amostragens de campo e laboratório.

Ao Dr. Nelson Miguel Grubel Bandeira, técnico do laboratório de cromatografia do CEPA/UPF, que colaborou com o artigo de bioacumulação elaborando e realizando a técnica de extração de agrotóxicos. Agradeço a colaboração, ensinamentos e paciência durante as análises.

Ao laboratório de Citogenética Animal, especialmente ao professor Dr. José Eduardo Vargas e às bolsistas Ana Vitória, Júlia e Tauane, que sempre estiveram dispostos a auxiliar nas análises laboratoriais.

Ao Muzar, em especial ao funcionário e colega de profissão Élinton, por ser nosso motorista em incontáveis idas a campo, sempre disponível a nos auxiliar e com bom humor em qualquer situação.

Aos colegas de mestrado, que compartilharam comigo momentos de alegrias, conquistas, angústias e dúvidas. Em especial, aos colegas Douglas Huning e Fernando Wons pelo auxílio em campo. Também as colegas veteranas Ana Paula Potrich (PPGCiAmb) e Gabriela Dal Pizzol (PPGBioExp), que me ajudaram em diversas dúvidas que tive durante o mestrado. Cultivei amizades que, com certeza, levarei para a vida inteira.

Aos meus verdadeiros amigos, que estão sempre ao meu lado torcendo e incentivando minhas conquistas. Em especial, Mariana, Bárbara, Ana Luísa, Monalise, Sabrina, Jaqueline e Brenda pela compreensão em momentos de ausências e por ouvirem e darem apoio em momentos de angústias e tristezas.

Aos gestores da Floresta Nacional de Passo Fundo (FLONA-PF) e aos proprietários das terras agrícolas, pela confiança em nossa equipe e pela autorização das amostragens de campo.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais (PPGCiAmb) pelos ensinamentos nesses dois anos. Em especial, ao coordenador do PPGCiAmb, professor Dr. Cristiano Buzzato, por me auxiliar e sanar todas as dúvidas que surgiram durante este período.

À secretaria do Instituto de Ciências Biológicas, sempre dispostos a ajudar com prontidão.

À Fundação Universidade de Passo Fundo (FUPF) pela concessão da bolsa 100% do Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais.

À minha coorientadora, Dra Luciana Grazziotin Rossato Grandó, que se dispôs a me auxiliar durante essa pesquisa. Agradeço por todos ensinamentos, pelas sugestões e por sanar todas as dúvidas que surgiram.

Agradeço, em especial, minha orientadora Dra Noeli Zanella por todo apoio, paciência, ensinamentos e por ter se doado tanto para esse estudo. Pela ajuda em inúmeros campos, inclusive naqueles mais duros como a instalação de *pitfalls*. Além da área acadêmica, agradeço pelo apoio na área profissional, já que sempre esteve disposta a ajudar em qualquer dúvida que surgiu nesse início de carreira na consultoria ambiental. Você é inspiração de mulher cientista e herpetóloga para mim. Espero que essa parceria perdure por muito tempo. Obrigada!

EPÍGRAFE

*“O Homem é parte da natureza e a sua guerra contra a natureza é,
inevitavelmente, uma guerra contra si mesmo.”*

Rachel Carson

*“Enquanto as nações estiverem divididas, haverá guerra, quando se unirem,
virá o reino da paz. Enquanto a mulher estiver só, será sempre o ser frágil que flutua à
mercê das circunstâncias. Quando se unirem, elas tornar-se-ão uma grande força.”*

Bertha Lutz

RESUMO

MORRETE, Thaís Ascoli. Bioacumulação de agrotóxicos e genotoxicidade em anuros do sul do Brasil. [51] f. Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais) – Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, 2020.

A expansão agrícola causa fragmentação, perda e poluição dos ecossistemas e é um dos principais fatores ligados ao declínio das populações de anfíbios que vêm ocorrendo em todo o mundo desde a década de 80. Desta forma, nosso estudo objetivou avaliar populações nativas de anfíbios anuros quanto a contaminação de seus habitats no norte do Rio Grande do Sul, sul do Brasil. Avaliamos a bioacumulação de agrotóxicos em populações de *Leptodactylus latrans* associada a áreas agrícolas e a genotoxicidade de populações que habitam diferentes áreas (agrícola e florestal). Amostramos 18 indivíduos de *L. latrans* em áreas agrícolas no município de Passo Fundo e retiramos os fígados para a extração e análise de agrotóxicos. Foram testados 32 agrotóxicos através de análises cromatográficas pelo sistema LC-MS/MS. Também, aplicamos o teste de micronúcleo e anormalidades nucleares para avaliar danos genotóxicos em 34 indivíduos, 19 provenientes de área agrícola e 14 de área florestal. Consideramos nas análises as seguintes anormalidades nucleares: *micronuclei*, *binucleated*, *notched*, *bebbled* e *lobed*. Todos os indivíduos de *L. latrans* apresentaram bioacumulação de agrotóxicos. Detectamos nove agrotóxicos nos fígados dos anuros de áreas agrícolas, incluindo quatro inseticidas, três herbicidas e um fungicida. Deltametrina foi o agrotóxico mais frequente e Carbosulfan foi encontrado em maior concentração. Registramos micronúcleo e outras anormalidades nucleares em ambas as áreas, porém, a frequência de ANs foi significativamente maior na área agrícola quando comparada com a florestal. Nossos resultados evidenciam contaminação por agrotóxicos dos anuros que habitam áreas agrícolas. Além disso, evidenciamos maior genotoxicidade em anuros de áreas agrícola sugerindo que as populações que habitam agroecossistemas podem estar ameaçados. O intenso uso de agrotóxicos nas culturas agrícolas são uma ameaça para os anuros e pode agravar o declínio populacional e a extinção de espécies. A avaliação da saúde das populações de anuros que utilizam áreas agrícolas é de extrema importância para elaborar planos de conservação do grupo.

Palavras-chave: 1. Anfíbios. 2. Pesticidas. 3. Agroecossistemas. 4. Áreas Florestais. 5. Contaminação.

ABSTRACT

MORRETE, Thaís Ascoli. **Bioaccumulation of pesticides and genotoxicity in anurans in southern Brazil.** [51] f. Dissertation (Masters in Environmental Sciences) – University of Passo Fundo, Passo Fundo, 2020.

Agricultural expansion causes fragmentation, loss and pollution of ecosystems and it is one of the main factors linked to the decline in amphibian populations that have been occurring worldwide since the 1980s. Thus, our study aimed to evaluate native populations of anuran amphibians as contamination of their habitats in northern Rio Grande do Sul, southern Brazil. We evaluated the bioaccumulation of pesticides in populations of *Leptodactylus latrans* associated with agricultural areas and the genotoxicity of populations that inhabit different areas (agricultural and forest). We sampled 18 individuals of *L. latrans* in agricultural areas in the municipality of Passo Fundo and we removed the livers for the extraction of pesticides. We were tested 32 pesticides through chromatographic analysis using the LC-MS/MS system. We also applied the micronucleus test and nuclear abnormalities to assess genotoxic damage in 34 individuals, 19 from the agricultural area and 14 from the forest area. In the analysis we considered the following nuclear abnormalities: micronuclei, binucleated, notched nuclei, bebbled nuclei and lobed nuclei. All individuals of *L. latrans* presented bioaccumulation of pesticides. We detected nine pesticides in the livers of anurans in agricultural areas, including four insecticides, three herbicides and one fungicide. Deltamethrin was the most frequent pesticide and Carbosulfan was found in the highest concentration. We registered micronucleus and other nuclear abnormalities in both areas, however, the frequency of ANs was significantly higher in the agricultural area when compared to the forest area. Our results show contamination by pesticides of anurans that inhabit agricultural areas. In addition, we found greater genotoxicity in anurans in agricultural areas, suggesting that populations that live in agroecosystems may be threatened. The intense use of pesticides in agricultural crops is a threat to anurans and can aggravate population decline and species extinction. Assessing the health of anuran populations using agricultural areas is extremely important to develop group conservation plans.

Key words: 1. Amphibians. 2. Pesticides. 3. Agroecosystems. 4. Forest areas.
5. Contamination.

LISTA DE FIGURAS

PRODUÇÃO CIENTÍFICA I

Figura 1 - Áreas de coleta de <i>Leptodactylus latrans</i> no município de Passo Fundo, Rio Grande do Sul, Brasil	25
---	----

PRODUÇÃO CIENTÍFICA II

Figura 1 - Áreas de amostragens de <i>Leptodactylus latrans</i> no norte do Rio Grande do Sul, no período de setembro de 2019 a janeiro de 2020	40
Figura 2 - Anormalidades nucleares de eritrócitos de <i>Leptodactylus latrans</i> capturados em áreas agrícola e florestal. Os resultados apresentam-se como média (total de MN ou ANs/número de indivíduos amostrados em cada área) \pm desvio padrão (* $p < 0,05$; Mann-Whitney).	42
Figura 3 - Anormalidades nucleares em eritrócitos de <i>Leptodactylus latrans</i> . (A) célula normal, (B) <i>Micronuclei</i> , (C) <i>Binucleated</i> , (D) <i>Notched</i> , (E) <i>Bebbled</i> , (F) <i>Lobed</i> . Fotos: T. Ascoli-Morrete	42

LISTA DE TABELAS

PRODUÇÃO CIENTÍFICA I

Tabela 1 - Vendas de ingredientes ativos de agrotóxicos no Rio Grande do Sul durante o ano de 2019 (IBAMA, 2019).....	25
Tabela 2 - Agrotóxicos testados nos fígados de <i>Leptodactylus latrans</i> e íons utilizados no detector de massas MS/MS	28
Tabela 3 - Concentração de agrotóxicos encontradas no fígado de <i>Leptodactylus latrans</i> nas áreas agrícolas amostradas, no sul do Brasil.....	29

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ANs – Anormalidades nucleares

BL – *Blebbled*

BN – *Binucleated*

CAUPF – Coleção de Anfíbios da Universidade de Passo Fundo

CEUA – Comitê de Ética no Uso de Animais

F – Fungicida

H – Herbicida

I – Inseticida

LB – *Lobed*

MN – *Micronuclei*

NT – *Notched*

UPF – Universidade de Passo Fundo

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	CONSIDERAÇÕES FINAIS	23

1 INTRODUÇÃO

No mundo são registradas 8207 espécies de anfíbios, sendo 7234 pertencentes a Ordem Anura, 757 Ordem Caudata e 214 Ordem Gymnophiona (FROST, 2020). O Brasil abriga 1093 espécies de anfíbios anuros, possuindo a maior riqueza de anuros do mundo (SEGALLA et al., 2019). A Mata Atlântica é um dos biomas mais importantes do nosso país, sendo considerada um *hotspot* de biodiversidade por abrigar uma grande diversidade biológica (MYERS et al., 2000; MITTERMEIER et al., 2011). O Bioma possui alta taxa de riqueza e endemismo de espécies, 77,6% das 625 espécies de anuros que habitam a Mata Atlântica são endêmicas do local (ROSSA-FERES et al., 2017). Contudo, o desmatamento e a fragmentação crescente colocam em risco a conservação do bioma e das espécies que ele abriga (FONSECA, 1985; RIBEIRO et al., 2009).

A expansão agrícola e pecuária são os fatores que mais degradam os habitats através da fragmentação, desmatamento e poluição ambiental (DECAENS et al., 2018). O Brasil é o país que mais consome agrotóxicos. Em 2018 foram consumidas 549.280,44 toneladas de ingredientes ativos no país (IBAMA, 2018). Os agrotóxicos são utilizados em grande escala nas culturas agrícolas para conter pragas que podem causar prejuízos às monoculturas (por exemplo, ervas daninhas, fungos e insetos) (PERES; MOREIRA, 2003). Porém, essas substâncias podem atingir outros ecossistemas através da pulverização, escoamento e lixiviação do solo colocando em risco organismos não-alvo (GIESY et al., 2000; SOLOMON; THOMPSON, 2003).

Os organismos podem sofrer processos de bioacumulação e/ou biomagnificação dessas substâncias (JOFRÉ et al., 2008). A bioacumulação ocorre quando o indivíduo acumula mais do que seu corpo é capaz de eliminar, enquanto a biomagnificação é quando a concentração do contaminante aumenta através dos níveis tróficos se tornando um problema para os predadores do topo da cadeia (KEHRIG et al., 2011). Os anfíbios possuem um papel importante no fluxo de energia entre os ambientes aquáticos e

terrestres, com uma alimentação baseada principalmente em invertebrados (SANTANA et al., 2019; MENDONÇA et al., 2020), e podem servir de alimento para diversas espécies de répteis (CARILLO, 2017; OLIVEIRA et al., 2017; PREUSS; TOZETTI, 2018), aves (AOKI; LANDGREF, 2013) e mamíferos (SCHALK; MORALES, 2012).

Os ecossistemas aquáticos são os mais afetados pelos contaminantes químicos, principalmente pelos agrotóxicos provenientes da matriz agrícola (PELUSO et al., 2020). A qualidade desses ecossistemas influencia diretamente nos anfíbios anuros (BOYER; GRUE, 1995), já que a sobrevivência e reprodução desse grupo está intimamente ligada à água (DUELLMAN; TRUEB, 1986; HADDAD; PRADO, 2005). A maioria das espécies de anuros possuem vida bifásica com uma fase larval aquática e adulto terrestre, possuem ovos com membrana gelatinosa e pele altamente permeável (DUELLMAN; TRUEB, 1986; HADDAD; PRADO, 2005). Sendo assim, essas características os tornam organismos mais vulneráveis e suscetíveis a poluição ambiental e absorção de contaminantes químicos (CRUZ-ESQUIVEL et al., 2017; SANSIÑENA et al., 2018; BORGES et al., 2019).

A interação das substâncias com o ambiente e organismos são complexas e ainda precisam ser melhor exploradas. As espécies podem responder de forma diferente a cada tipo de agrotóxico, como também a interação dessas substâncias pode desencadear diferentes efeitos deletérios aos organismos (BRODEUR et al., 2014; THUNNISSEN et al., 2020). A exposição de agrotóxicos aos anuros pode causar efeitos letais (mortalidade) ou sub-letais como alterações comportamentais, anormalidades morfológicas, imunossupressão, danos genotóxicos, entre outros (ALBERT et al., 2007; WRUBLESWSKI et al., 2018; NATARAJ; KRISHNAMURTHY, 2020; PÉREZ-IGLESIAS et al., 2020), contribuindo com o dramático declínio das populações e extinção de espécies de anuros.

Testes ecotoxicológicos em modelos animais são amplamente difundidos para avaliar a qualidade dos ecossistemas aquáticos (NIKINMAA, 2014). As fases

embrionária e larval dos anfíbios anuros são as mais utilizadas em análises laboratoriais, onde são realizados testes de exposição aguda e crônica com diferentes agrotóxicos nos organismos (WRUBLESWSKI et al., 2018; RIAÑO et al., 2020). Entretanto, estudos que investigam populações nativas permanentemente expostas a diferentes contaminantes ambientais e fatores antrópicos em seus habitats ainda são escassos (JOSENDE et al., 2015; SMALLING et al., 2015; GONÇALVES et al., 2019).

Corpos d'água localizados dentro da matriz agrícola servem de habitat para diversas espécies de anuros (BOISSINOT et al., 2019; HANSEN et al., 2019). Entretanto, apesar das espécies se adaptarem e persistirem em agroecossistemas, não significa que essas populações não sofram com os efeitos deletérios que os agrotóxicos podem causar (HEREK et al., 2020; MOUTINHO et al., 2020). Desta forma, avaliar como as populações nativas estão respondendo a contaminação de seus habitats é essencial para traçar planos de conservação das espécies de anuros e seus respectivos habitats.

O objetivo deste estudo foi avaliar diferentes populações nativas de anuros quanto a contaminação de seus habitats. Para isso, avaliamos a bioacumulação de agrotóxicos em populações de *Leptodactylus latrans* em áreas agrícolas com intenso uso de agrotóxicos. Também, analisamos a genotoxicidade de populações de *L. latrans* comparando áreas agrícola e florestal no norte do Rio Grande do Sul, sul do Brasil.

O presente estudo está dividido em duas produções científicas, formatadas conforme as normas de revistas científicas que serão submetidas após a defesa desta dissertação. O primeiro artigo está intitulado como “Bioacumulação de agrotóxicos em anuros no sul da Mata Atlântica” e o segundo artigo intitulado “Genotoxicidade em populações nativas de *Leptodactylus latrans* (Steffen, 1815) no sul do Brasil”. Devido a pandemia causada pelo COVID-19, as atividades da Universidade de Passo Fundo estão paralisadas desde o início de março de 2020. Com isso, fomos impedidos de finalizar as amostragens e estamos apresentando os resultados preliminares desta pesquisa para a produção científica I.

REFERÊNCIAS

- ALBERT, A.; DROUILLARD, K.; HAFFNER, D.; DIXON, B. Dietary exposure to low pesticide doses cause long-term immunosuppression in the Leopard frog (*Rana pipiens*). **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 26, n. 6, p. 1179-1185, 2007.
- AOKI, C.; LANDGREF, P. Predation on *Leptodactylus chaquensis* (Anura: Leptodactylidae) by the whistling heron *Syrigma sibilatrix* (Ciconiiformes: Ardeidae) in Central Brazil. **Herpetology Notes**, v. 6, p. 261-262, 2013.
- BOISSINOT, A.; BESNARD, A.; LOURDAIS, O. Amphibian diversity in farmlands: Combined influences of breeding-site and landscape attributes in western France. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 269, p. 51-61, 2019.
- BORGES, R. E.; SANTOS, L. R. S.; BENVINDO-SOUZA, M.; MODESTO, R. S.; ASSIS, R. A.; OLIVEIRA, C. Genotoxic Evaluation in Tadpoles Associated with Agriculture in the Central Cerrado, Brazil. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 77, p. 22-28, 2019.
- BOYER, R.; GRUE, C. E. The need for water quality criteria for frogs. **Environmental Health Perspectives**, v. 103, p. 352-357, 1995.
- BRODEUR, J. C.; POLISERPI, M. B.; D'ANDREA, M. F.; SÁNCHEZ, M. Synergy between glyphosate- and cypermethrin-based pesticides during acute exposures tadpoles of the common South American Toad *Rhinella arenarum*. **Chemosphere**, v. 112, p. 70-76, 2014.
- CARRILLO, J. F. C. Predation of *Thamnodynastes chaquensis* (Serpentes, Colubridae) upon *Elachistocleis matogrosso* (Anura, Microhylidae) in the Brazilian Pantanal. **Herpetology Notes**, v. 10, p. 355-357, 2017.
- CRUZ-ESQUIVEL, A.; VILORIA-RIVAS, J.; MARRUGO-NEGRETE, J. Genetic damage in *Rhinella marina* populations in habitats affect by agriculture in the middle region of the Sinú River, Colombia. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 24, p. 27392-27401, 2017.
- DECAENS, T. et al. Biodiversity loss along a gradient of deforestation in Amazonian agricultural landscapes. **Conservation Biology**, v. 32, n. 6, p. 1380-1391, 2018.

FONSECA, G. A.B. The vanishing Brazilian Atlantic forest. **Biological Conservation**, v. 34, n. 1, p. 17-34, 1985.

FROST, D. **Amphibia Species of the World 6.0, na Oline Reference**. New York: American Museum of Natural History, 2020. Disponível em: < <https://amphibiansoftheworld.amnh.org/>>. Acesso em: 27 de julho de 2020.

GIESY, J. P.; DOBSON, S.; SOLOMON, K. R. Ecotoxicological Risk Assessment for Roundup Herbicide. **Reviews of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 167, p. 35-120, 2000.

GONÇALVES, M. W.; CAMPOS C. B. M.; GODOY, F. R.; GAMBALE, P. G.; NUNES, H. F.; NOMURA, F.; BASTOS, R. P.; CRUZ, A. D.; SILVA, D. M. Assessing Genotoxicity and Mutagenicity of Three Common Amphibian Species Inhabiting Agroecosystem Environment. **Archives Environmental Contamination and Toxicology**, v. 77, p. 409–420, 2019.

HADDAD, C. F. B.; PRADO, C. P. A. Reproductive Modes in Frogs and Their Unexpected Diversity in the Atlantic Forest of Brazil. **BioScience**, v. 55, n. 3, p. 207, 2005.

HANSEN, N. A.; CHEELE, B. C.; DRISCOLL, D. A.; LINDENMAYER, D. B. Amphibians in agricultural landscapes: the habitat value of crop áreas, linear plantings and remnant woodland patches. **Animal Conservation**, v. 22, p. 72-82, 2019.

HEREK, J. S.; VARGAS, L.; TRINDADE, S. A. R.; RUTKOSKI, C. F.; MACAGNAN, N.; HARTMANN, P. A.; HARTMANN, M. T. Can environmental concentrations of glyphosate affect survival and cause malformation in amphibians? Effects from glyphosate-based herbicide on *Physalaemus cuvieri* and *P. gracilis* (Anura: Leptodactylidae). **Environmental Science and Pollution Research**, v. 27, p. 22619-22630, 2020.

IBAMA – Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. **Boletins anuais de produção, importação, exportação e vendas de agrotóxicos no Brasil**. 2018. Disponível em: < <http://ibama.gov.br/agrotoxicos/relatorios-de-comercializacao-de-agrotoxicos>>. Acesso em: 12 ago 2020.

JOFRÉ, M. B.; ANTÓN, R. I.; CAVIEDES-VIDAL, E. Organochlorine Contamination in Anuran Amphibians of an Artificial Lake in the Semiarid Midwes of Argentina. **Archives Environmental Contamination and Toxicology**, v. 55, p. 471-480, 2008.

JOSENDE, M. E.; TOZETTI, A. M.; ALALAN, M. T.; MATHIES, V.; XIMENEZ, S. S.; DA SILVA, M. R., MARTINS, S. E. Genotoxic evaluation in two amphibian species from Brazilian subtropical wetlands. **Ecological Indicators**, v. 49, p. 83-87, 2015.

KEHRIG, H. A.; MALM, O.; PALERMO, E. F. A.; SEIXAS, T. G.; BAÊTA, A. P.; MOREIRA, I. Bioconcentração e biomagnificação de metilmercúrio na Baía de Guanabara, Rio de Janeiro. **Química Nova**, v. 34, n. 3, p. 377-384, 2011.

MENDONÇA, N. A.; MOSER, C. F.; OLIVEIRA, M.; TOZETTI, A. M. Diet of *Oloolygon catherinae* (Anura, Hylidae) during the breeding season. **Herpetology Notes**, v. 13, p. 89-91, 2020.

MITTERMEIER, R. A.; TURNER, W. R.; LARSEN, F. W.; BROOKS, T. M.; GASCON, C. Global biodiversity conservation: the critical role of hotspots. *In*: ZACHOS, F. E.; HABEL, J. C. (org.). **Biodiversity hotspots**: distribution and protection of conservation priority áreas. Heidelberg: Springer, 2011. p. 3-22.

MOUTINHO, M. F.; ALMEIDA, E. A.; ESPÍNDOLA, E. L. G.; DAAM, M. A.; SCHIESARI, L. Herbicides employed in sugarcane plantations have lethal and sublethal effects to larval *Boana pardalis* (Amphibia, Hylidae). **Ecotoxicology**, 2020
<https://doi.org/10.1007/s10646-020-02226-z>

MYERS, N.; MITTERMEIER, R. A.; MITTERMEIER, C. G.; DA FONECA, G. A. B.; KENT, J. Biodiversity hotspots for conservation priorities. **Nature**, v. 403, n. 6772, p. 853-858, 2000.

NATARAJ, M. B. R.; KRISHNAMURTHY, S. V. B. Individual and combined effects of organophosphate and carbamate pesticides on the cricket frog *Fejervarya limnocharis*. **Environmental Geochemical Health**, v. 42, p. 1767-1774, 2020.

NIKINMAA, M. The Most Important Experimental Designs and Organisms in Aquatic Toxicology. *In*: **An Introduction to Aquatic Toxicology**. Elsevier, Turku, Finland, p. 53-63, 2014.

OLIVEIRA, S. R.; FACHI, M. B.; SILVA, D. A.; MORAIS, A. R. Predation on *Rhinella mirandaribeiroi* (Gallardo, 1965) (Anura; Bufonidae) by a Neotropical snake, including a list with predation events for species of the genus *Rhinella*. **Herpetology Notes**, v. 10, p. 151-155, 2017.

PELUSO, J.; ARONZON, C. M.; MOLINA, M. C. R.; ROJAS, D. E.; CRISTOS, D.; COLL, C. S. P. Integrated analysis of the quality of water bodies from the lower Paraná

River basin with diferente productive uses by physicochemical and biological indicators. **Environmental Pollution**, v. 263, p. 1-10, 2020.

PERES, F.; MOREIRA, J. C. **É veneno ou é remédio? Agrotóxicos saúde e meio ambiente**. Rio de Janeiro: Fiocruz, 2003.

PÉREZ-IGLESIAS, J. M.; BRODEUR, J. C.; LARRAMENDY, M. L. An imazethapyr-based herbicide formulation induces genotoxic, biochemical, and individual organizational effects in *Leptodactylus latinasus* tadpoles (Anura: Leptodactylidae). **Environmental Science and Pollution Research**, v. 27, p. 2131-2143, 2020.

PREUSS, J. F.; TOZETTI, A. M. A recordo f predation and ingestion of *Phyllomedusa tetraploidea* (Anura, Hylidae) by *Thamnodynastes strigatus* (Serpentes, Dipsadidae), in the municipality of São Miguel do Oeste, state of Santa Catarina, Brazil. **Herpetology Notes**, v. 11, p. 945-947, 2018.

RIAÑO, C.; ORTIZ-RUIZ, M.; PINTO-SÁNCHEZ, N. R.; GÓMEZ-RAMÍREZ. Effect of glyphosate (Roundup Active®) on liver of tadpoles of the colombian endemic frog *Dendropsophus molitor* (amphibia: Anura). **Chemosphere**, v. 250, 2020.

RIBEIRO, M. C.; METZGER, J. P.; MARTENSEN, A. C.; PONZONI, F. J.; HIROTA, M. M. The Brazilian Atlantic Forest: How much is left, and how is the remaining forest distributed? Implications for conservation. **Biological Conservation**, v. 142, n. 6, p. 1141-1153, 2009.

ROSSA-FERES, D. D. C. et al. Anfíbios da Mata Atlântica: lista de espécies, histórico dos estudos, biologia e conservação. **Revisões em Zoologia: Mata Atlântica**, p. 237-314, 2017.

SANSIÑENA, J. A.; PELUSO, L.; COSTA, C. S.; DEMETRIO, P. M.; LOUGHLIN, T. M. M.; MARINO, D. J. G.; ALCALDE, L.; NATALE, G. S. Evaluation of the toxicity of the sediments from na agroecosystem to two native species, *Hyaella curvispina* (CRUSTACEA: AMPHIPODA) and *Boana pulchella* (AMPHIBIA: ANURA), as potential environmental indicators. **Ecological Indicators**, v. 93, p. 100-110, 2018. SANTANA, D. J.; FERREIRA, V. G.; CRESTANI, G. N.; NEVES, M. O. Diet of the Rufous frog *Leptodactylus fuscus* (Anura, Leptodactylidae) from two contrasting environments. **Herpetozoa**, v. 32, p. 1-6, 2019.

SCHALK, C. M.; MORALES, F. Predation of *Rhinella major* (Anura: Bufonidae) by a Pampas Fox (*Lycalopex gymnocercus*) in the Bolivian Gran Chaco. **Herpetology Notes**, v. 5, p. 369-370, 2012.

SEGALLA, M. V.; CARAMASCHI, U.; CRUZ, C. A. G.; GARCIA, P. C. A.; GRANT, T.; HADDAD, C. F. B.; SANTANA, D. J.; TOLEDO, L. F.; LANGONE, J. A.

Brazilian Amphibians: List of Species. **Herpetologia Brasileira**, v. 8, n. 1, p. 65-96, 2019.

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

SOLOMON, K. R.; THOMPSON, D. G. Ecological risk assessment for aquatic organisms from over-water uses of glyphosate. **Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B**, v. 6, p. 289-324, 2003.

THUNNISSEN, N. W.; LAUTZ, L. S.; VAN SCHAİK, T. W. G.; HENDRIKS, A. J. Ecological risks of imidacloprid to aquatic species in the Netherlands: Measured and estimated concentrations compared to species sensitivity distribution. **Chemosphere**, v. 254, 2020.

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

2 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Através dos nossos resultados podemos afirmar que os anuros que habitam agroecossistemas estão sendo contaminados pelos agrotóxicos e sofrendo efeitos genotóxicos que podem estar associados a esses contaminantes ambientais. Esse cenário juntamente com fatores registrados anteriormente nas populações de anuros da região (anormalidades morfológicas e doenças emergentes) são preocupantes para a conservação de anuros no sul do Brasil.

Levando em consideração que o estado do Rio Grande do Sul é um grande consumidor de agrotóxicos, são necessários mais estudos para entender quais os efeitos deletérios que essas substâncias associadas a outros fatores podem causar nas populações nativas de anuros da região. Além disso, conhecer quais as espécies mais sensíveis, quais agrotóxicos são mais prejudiciais e quais áreas são mais propensas a declínios populacionais de anuros são informações essenciais para traçar planos de conservação deste grupo e seus habitats.



PPGCiAmb

Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais
Instituto de Ciências Biológicas - ICB