



UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL – UFFS
CAMPUS ERECHIM
CURSO DE ENGENHARIA AMBIENTAL

LUANA VARGAS

AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DE GLIFOSATO PARA DUAS ESPÉCIES DE ANFÍBIOS ANUROS BRASILEIRAS: *Physalaemus cuvieri* E *Physalaemus gracilis*

ERECHIM-RS
2017

LUANA VARGAS

AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DE GLIFOSATO PARA DUAS ESPÉCIES DE ANFÍBIOS ANUROS BRASILEIRAS: *Physalaemus cuvieri* E *Physalaemus gracilis*

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado na Universidade Federal da Fronteira Sul - UFFS como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Engenharia Ambiental sob a orientação da Prof.^a Dr.^a Marília T. Hartmann.

ERECHIM - RS

2017

LUANA VARGAS

AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE DE GLIFOSATO PARA DUAS ESPÉCIES DE ANFÍBIOS ANUROS BRASILEIRAS: *Physalaemus cuvieri* E *Physalaemus gracilis*

Trabalho de Conclusão de Curso de graduação apresentado como requisito para obtenção de grau de Bacharel em Engenharia Ambiental e Sanitária pela Universidade da Fronteira Sul.

Orientadora: Prof^a Dra. Marília Teresinha Hartmann

Este trabalho de conclusão de curso foi defendido e aprovado pela banca em: 07/07/2017.

BANCA EXAMINADORA:

Prof^a. Dra. Marília Teresinha Hartmann – UFFS
Orientadora

Prof^o. Dr. Paulo Afonso Hartmann – UFFS
Professor

Prof^o. Me. Guilherme Victor Vanzetto - IDEAU
Engenheiro Ambiental

Dedico à minha família, amigos e colegas, que sempre desejaram minha vitória, me apoiando e incentivando o meu crescimento profissional.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a minha família pelo incentivo e apoio.

Agradeço a minha orientadora Professora Dr^a. Marília T. Hartmann por todo empenho, disponibilidade e ensinamentos ao longo do desenvolvimento desse estudo que contribuíram para meu crescimento pessoal e profissional.

Agradeço a Deus por todas as oportunidades.

Agradeço aos amigos que fiz ao longo do curso e que me acompanharam até aqui.

Agradeço aos professores do curso por todo ensinamento e possibilidade de crescimento.

Agradeço a equipe do Laboratório de Ecologia e Conservação: Jéssica Herek, Suélen Trindade e Jéssica Slaviero por toda ajuda ao longo do desenvolvimento dos testes.

Agradeço ao professor Dr. Paulo Afonso Hartmann pelos ensinamentos durante as disciplinas de Trabalho de conclusão de curso.

Agradeço à Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS) pela concessão da bolsa (*Edital: N^o315/UFFS/2016*).

RESUMO

O glifosato é um dos principais agrotóxicos usados mundialmente, sendo considerado moderadamente a altamente tóxico para anfíbios. Este grupo de vertebrados é tido como o mais vulnerável à contaminação ambiental por algumas de suas características fisiológicas e morfológicas, no entanto há poucos estudos no Brasil sobre a presença de agrotóxicos nas águas doces, habitat em parte da vida dos anfíbios. Nesse sentido, o objetivo desse estudo foi analisar a toxicidade da formulação comercial de glifosato em duas espécies de anfíbios comuns no Brasil, *Physalaemus cuvieri* e *Physalaemus gracilis*. Foram coletadas desovas totais na natureza com menos de 24 horas de oviposição e colocados em aquários e condições de laboratório. Foram realizados testes de toxicidade aguda de 96 horas, na fase 24-25 de desenvolvimento para determinação da CL₅₀, que foi de 1360 µg/L para *Physalaemus cuvieri* e 1530 µg/L para *Physalaemus gracilis*. O teste crônico seguiu o mesmo design experimental do teste agudo, com duração de quatorze dias. As concentrações crônicas avaliadas foram: 65 µg/L, 144 µg/L e 280 µg/L para *P. cuvieri* e 500 µg/L, 700 µg/L e 1000 µg/L para *P. gracilis*. Foram analisadas alteração da atividade natatória e malformação. Todas as concentrações crônicas analisadas causaram alteração na atividade natatória dos girinos expostos, sendo essa alteração influenciada pelo tempo de exposição. Ocorreram malformações na morfologia da boca e do intestino, para *Physalaemus cuvieri* e *Physalaemus gracilis* expostos ao glifosato e no controle. Não foi possível relacionar as malformações analisadas com a exposição a formulação comercial de glifosato, mas sim com alterações na atividade natatória

Palavras-chave: Anfíbios. Toxicologia. Glifosato.

ABSTRACT

Glyphosate is one of the main pesticides used worldwide, being considered moderately highly toxic to amphibians. This group of vertebrates is considered to be the most vulnerable to environmental contamination due to some of its physiological and morphological characteristics, however there are few studies in Brazil about the presence of pesticides in fresh waters, habitat in part of the life of amphibians. In this sense, the objective of this study was to analyze the toxicity of the commercial formulation of glyphosate in two species of amphibians common in Brazil, *Physalaemus cuvieri* and *Physalaemus gracilis*. Total spawnings were collected in the wild with less than 24 hours of oviposition and placed in aquaria and laboratory conditions. Acute toxicity tests of 96 hours in the development phase 24-25 for the determination of LC50 were carried out, which was 1360 µg / L for *Physalaemus cuvieri* and 1530 µg / L for *Physalaemus gracilis*. The chronic test followed the same experimental design as the acute test, lasting fourteen days. The chronic concentrations were: 65 µg / L, 144 µg / L and 280 µg / L for *P. cuvieri* and 500 µg / L, 700 µg / L and 1000 µg / L for *P. gracilis*. Changes in swimming activity and malformation were analyzed. All the chronic concentrations analyzed caused changes in the swimming activity of the exposed tadpoles, being this change influenced by the time of exposure. There were malformations in the morphology of the mouth and intestine for *Physalaemus cuvieri* and *Physalaemus gracilis* exposed to glyphosate and in control. It was not possible to relate the analyzed malformations to the exposure to commercial glyphosate formulation, but to changes in swimming activity.

Keywords: Amphibians. Toxicology. Glyphosate.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Indivíduo adulto de <i>Physalaemus cuvieri</i> (A) e <i>Physalaemus gracilis</i> (B). Fonte: Colombo et al., 2008.	18
Figura 2 - Malformações na boca de girinos de <i>Physalaemus cuvieri</i> . (A) boca de um girino do controle, (B) após a exposição a formulação comercial de Glifosato. Fonte: a autora.	27
Figura 3 - Intestino normal em formato espiral (A) e intestino malformado de larva de <i>Physalaemus cuvieri</i> após a exposição a formulação comercial de Glifosato(B). Fonte: a autora.	28
Figura 4 - Malformações na boca de girinos de <i>Physalaemus gracilis</i> . (A) boca de um girino do controle, (B) após a exposição a formulação comercial de Glifosato. Fonte: a autora.	29

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Mortalidade de girinos de <i>Physalaemus cuvieri</i> expostos a formulação comercial de glifosato, no teste de toxicidade aguda.	21
Tabela 2 - Mortalidade de girinos de <i>Physalaemus gracilis</i> expostos a formulação comercial de glifosato, no teste de toxicidade aguda.	22
Tabela 3 - Mortalidade de girinos de <i>Physalaemus cuvieri</i> expostos a concentrações crônicas da formulação comercial de glifosato.	22
Tabela 4 - Mortalidade de girinos de <i>Physalaemus gracilis</i> expostos a concentrações crônicas da formulação comercial de glifosato.	23
Tabela 5 - Tipo de alteração na atividade natatória observada em girinos de <i>Physalaemus cuvieri</i> expostos a concentrações crônicas da formulação comercial de glifosato tendo como padrão de atividade natatória estabelecida: (0) atividade natatória igual ao controle; (1) atividade natatória reduzida (menor que o controle); (2) atividade natatória aumentada (mais agitados que o controle).	24
Tabela 6 - Atividade natatória observada ao final do teste em girinos de <i>Physalaemus cuvieri</i> expostos a concentrações crônicas da formulação comercial de glifosato.	24
Tabela 7 - Tipo de alteração na atividade natatória observada em girinos de <i>Physalaemus gracilis</i> expostos a concentrações crônicas da formulação comercial de glifosato tendo como padrão de atividade natatória estabelecida: (0) atividade natatória igual ao controle; (1) atividade natatória reduzida (menor que o controle); (2) atividade natatória aumentada (mais agitados que o controle).	25
Tabela 8 - Tabela 8: Atividade natatória observada ao final do teste em girinos <i>Physalaemus gracilis</i> expostos a concentrações crônicas da formulação comercial de glifosato.	25
Tabela 9 - Malformações apresentadas pelos girinos de <i>Physalaemus cuvieri</i> no controle e expostos as concentrações crônicas da formulação comercial de glifosato.	26
Tabela 10 - Tabela 10: Malformações na boca e intestino observadas em <i>Physalaemus cuvieri</i> no controle e expostos a formulação comercial de glifosato, teste crônico.	27
Tabela 11 - Malformações apresentadas pelos girinos de <i>Physalaemus gracilis</i> expostos a concentrações crônicas da formulação comercial de glifosato.	29

Tabela 12 - Malformações na boca e no intestino observadas em *Physalaemus gracilis* no controle e expostos a formulação comercial de glifosato, teste crônico...29

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 OBJETIVOS	17
2.1 OBJETIVO GERAL	17
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	17
3 METODOLOGIA	18
3.1.AGROTÓXICO	18
3.2 ESPÉCIES TESTE	18
3.3 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL.....	18
4 RESULTADOS	21
4.1 TESTE AGUDO.....	21
4.2 TESTE CRÔNICO	22
4.3 ATIVIDADE NATATÓRIA E MALFORMAÇÕES.....	23
4.3.1 Atividade Natatória	23
4.3.2 Malformações	26
5 DISCUSSÃO	30
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	33
REFERÊNCIAS	34
ANEXO(I)	40
ANEXO(II)	42

1 INTRODUÇÃO

O comércio mundial de agrotóxicos vem aumentando anualmente e teve um crescimento em torno de 220% entre os anos 2000 e 2013 nas exportações e importações, e esse aumento pode estar atrelado em grande parte pelo crescimento da produção agrícola, um dos setores que faz uso desses insumos (PELAEZ *et al.*, 2016). Entre os principais países importadores, o Brasil ganhou destaque ao se tornar o líder de importações em agrotóxicos a partir de 2012 (EDGE, 2014; IBAMA, 2014; PELAEZ *et al.*, 2016).

Os agrotóxicos são utilizados para controle ou eliminação de plantas (aquáticas ou terrestres), animais ou micro-organismos, por meio da quebra de determinadas reações químicas, e sua ação no meio ambiente pode ocasionar perturbações ao ecossistema (ANDRÉA *et al.*, 2004; CRUZ *et al.*, 2015).

Para utilização e registro de agrotóxicos no Brasil é exigido que possuam uma classificação toxicológica, quanto ao potencial de periculosidade ambiental, que se baseia na Dose letal média aguda-DL₅₀-que é a dose aguda que uma vez ingerida irá causar mortalidade de 50% dos girinos testados. Essa classificação é estabelecida pela Portaria IBAMA nº84/96, com quatro classes: I-produto com alta periculosidade, II-produto muito perigoso, III-produto de baixa periculosidade e IV-produto pouco perigoso (ARREGUI *et al.*, 2010; IBAMA,1996; GARCIA, 2001). Em relação à saúde, a Organização Mundial da Saúde através da Portaria nº4/80 recomenda a classificação toxicológica para os agrotóxicos embasada essencialmente na toxicidade a partir do ingrediente ativo seja ela aguda via oral ou dermal, com as classes, Ia-extremamente perigoso, Ib-altamente perigoso, II-moderadamente perigoso, III-levemente perigoso e IV- improvável de apresentar perigo sob uso normal (ARREGUI *et al.*, 2010; GARCIA, 2001; BRASIL,1987).

No Brasil após a regulamentação da Lei dos agrotóxicos, realizada pelo Ministério da Saúde, pela Lei 7808/89, por meio da Portaria SNVS nº3/92 ficou estabelecida a classificação dos agrotóxicos como classe I - extremamente tóxico, classe II - altamente tóxico, classe III - medianamente tóxico e classe IV - pouco tóxico, aproximando essa classificação à determinada pela Organização Mundial da Saúde (GARCIA, 2001; BRASIL, 1998).

A maior procura e utilização de agrotóxicos são daquele que contém o glifosato como princípio ativo, seja no mercado nacional ou mundial (ALBINATI *et al.*, 2007; EDGE, 2014; IBAMA, 2014; PELAEZ, 2016). O glifosato é descrito como não- seletivo, sistêmico, pós- emergente (ALBINATI *et al.*, 2007). Sua ação é direcionada à inibição na produção de aminoácidos fundamentais fazendo a biossíntese do EPSPS (enolpiruvil- shikimato-3-fosfato sintetase) que apenas as plantas e alguns micro- organismos possuem (EDGE, 2014; LAJMANOVICH *et al.*, 2011; MIKÓ, 2017). A toxicidade aguda do glifosato é classificada como medianamente tóxica ou pouco tóxica, no entanto a formulação comercial possui um surfactante, como amina de sebo polietilado (POEA) que potencializa o efeito do glifosato e possui potencial tóxico elevado (ANVISA, 2011; HEDBERG, 2010; MIKÓ, 2017). Esse surfactante tem como metabólito mais importante o Ácido Metil Fosfônico (AMPA), que é mais persistente no meio ambiente (AMARAL, 2009).

No solo o glifosato é rapidamente adsorvido ou degradado quase que totalmente por ação de micro-organismos reduzindo as possibilidades de lixiviar e sua mobilidade, e a fração residual remanescente permanece no solo até que o processo de mineralização ocorra (MORAES; ROSSI, 2010). Entretanto, sua mobilidade vai depender do tipo de solo, se o mesmo possui uma elevada capacidade em adsorver e se há matéria orgânica disponível, permanecendo no solo em torno de 20 até 60 dias (ARREGUI *et al.*, 2010; FERREIRA, 2013). Na água a via principal de dissipação do glifosato é por degradação microbiológica ou sua união à sedimentos, podendo persistir de 7 até 70 dias (MORAES; ROSSI, 2010; RELYEA *et al.*, 2005). Por suas características hidrossolúveis, quando transportado para as águas superficiais o glifosato é visto como um contaminante potencial, podendo ser nocivo a biota, incluindo anfíbios (DINEHART *et al.*, 2010; QUEIROZ *et al.*, 2011; SIMIONI, 2013; SOUZA, 2014).

No âmbito internacional, para os Estados Unidos, os limites de glifosato na água são estabelecidos pela Agência de Proteção Ambiental (USEPA), que estipula que o máximo permitido seja 700 µg/L para água potável (QUEIROZ *et al.*, 2011). No Brasil os limites são determinados pela CONAMA 357/05 que estabelece 65 µg/L para águas classe II e 280 µg/L para águas classe III, e pela Portaria Brasileira do Ministério da Saúde nº518/04 que determina um limite de 500 µg/L para água potável (CONAMA, 2005; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2004).

Segundo Albuquerque *et al.* (2016) embora a CONAMA 357/05 tenha seu norte baseado na proteção dos recursos hídricos para diversos usos, incluindo a proteção à biota, são poucos os estudos referentes a presença de agrotóxicos nas águas doces identificando a necessidade de um monitoramento dessas áreas para que os riscos possam ser averiguados, que foi reforçada por seu estudo onde foram observados que sobre a vida aquática há um risco potencial de 59% dos agrotóxicos com registro de ocorrência sendo que apenas 43 compostos foram analisados.

Para maior compreensão sobre os efeitos desses contaminantes sobre organismos vivos são feitos testes ecotoxicológicos (ZAGATTO ;BERTOLETTI, 2008). A expressão ecotoxicologia, foi apresentada a primeira vez em 1969, por René Truhaut, é descrita como o estudo dos efeitos de substâncias naturais ou sintéticas sobre seres vivos que constituem a biosfera (MAGALHÃES; FERRÃO FILHO, 2008). A análise eco- toxicológica se apresentou como uma ferramenta significativa para avaliação das consequências do uso de agrotóxicos para espécies não- alvo, isto é, aquelas que não são o alvo direto do produto (SILVA *et al.*, 2013).

Na toxicologia a avaliação é feita sobre a toxicidade de um composto, e em geral são realizadas duas etapas:identificar a periculosidade e avaliar a dose-resposta (ALMEIDA,2014). A periculosidade de um composto químico é determinada avaliando se a exposição à ele pode elevar a ocorrência de efeitos prejudiciais à saúde. Já para a avaliação da dose-resposta, o processo quantifica a toxicidade do composto e caracteriza a correlação entre a dosagem do contaminante e a ocorrência de efeitos adversos sobre os girinos expostos (ALMEIDA,2014). Os testes toxicológicos podem ser classificados em crônicos e agudos, sendo que a diferença entre eles está no tempo de duração e na resposta final que se deseja obter (COSTA *et al.*, 2008).

Testes de toxicidade aguda determinam as consequências de agentes tóxicos sobre girinos aquáticos em um curto espaço de tempo em relação ao seu tempo de vida, que em média é de 24 a 96 horas. O efeito determinado no teste de toxicidade aguda, é geralmente a letalidade. A toxicidade aguda permite definir valor para a CL₅₀ (concentração letal; MAGALHÃES; FERRÃO FILHO, 2008).

Testes de toxicidade crônica determinam os efeitos que substâncias químicas podem ter sobre organismos aquáticos num período que compreende parte ou o ciclo de vida toda do organismo (COSTA, 2001). Esses efeitos podem ser avaliados a partir de doses sub- letais, que são as concentrações em que os organismos

conseguem sobreviver, entretanto podem prejudicar funções como reprodução, crescimento e maturação (COSTA, 2001; MAGALHÃES; FERRÃO FILHO, 2008).

Os bioindicadores vertebrados mais usados em testes ecotoxicológicos, que visam avaliar possíveis consequências para organismos não- alvo expostos à agrotóxicos, são peixes, em função de sua capacidade de acumular poluentes e metabolizar xenobióticos (ARANHA, 2013; MIKÓ, 2017). No entanto outro grupo vem sendo utilizado para indicação de poluição ambiental, os anfíbios (BLAUSTEIN; KIESECKER, 2002).

Anfíbios tem sido um dos grupos de vertebrados mais afetados por contaminantes ambientais, podendo ser um dos fatores para redução de suas populações no mundo todo, e com isso ocasionando um desequilíbrio em vários níveis tróficos uma vez que sua contribuição na dinâmica da cadeia trófica é de fundamental importância (ALMEIDA, 2014; BLAUSTEIN; KIESECKER, 2002; DINEHART *et al.*, 2010; SIMIONI *et al.*, 2013).

Os anfíbios controlam a temperatura do corpo através da energia externa pois são animais ectotérmicos, possuindo uma fase na água (girinos) e outra na terra (adulta). A respiração dos girinos é branquial, já na vida adulta acontece através de pulmões, e em ambas as fases utilizam a pele como auxílio na respiração (WOEHL Jr.; WOEHL, 2008). São bons indicadores ambientais pelo fato de possuírem ovo sem casca e pele permeável os tornando sensíveis as variações ambientais presentes na água e no solo (BLAUSTEIN; KIESECKER, 2002). Também são utilizados em laboratório, por serem de fácil observação em circunstâncias experimentais e acondicionamento (MIKÓ, 2017).

Também possuem outras características atrativas que os tornam bons modelos bioindicadores, como fisiologia conhecida, diversidade de espécies, multiplicidade de habitats onde podem ser encontrados, adaptação e tolerância à oxigênio em baixas concentrações e variações de temperatura, manutenção simples que engloba relativa facilidade de serem conduzidos e de resistir a condições abióticas (BURGGREN; WARBURTON, 2007).

Physalaemus cuvieri (Anura, Leptodactylidae), popularmente chamada de rã-cachorro, é encontrada em boa parte do território brasileiro, e abundante em sua área de ocorrência (BARRETO ;ANDRADE, 1995). De acordo com Frost (2017) pode ser encontrado também na Argentina, leste do Paraguai, Bolívia e sul da Venezuela. É uma espécie que pode ser encontrada em habitats variados, como

áreas de pastagens, poças temporárias, savanas inundadas e na lista vermelha está classificada na categoria pouco preocupante, ou seja, sem risco potencial de extinção, vulneráveis ou ameaçados (MIJARES *et al.*, 2017). Possui pequeno porte (24 a 39 mm) e se reproduz em áreas abertas depositando seus ovos em poças temporárias, e suas desovas ficam flutuando presas a vegetação em uma espécie de espumas (ALMEIDA, 2014). A coloração dorsal varia desde um marrom quase uniforme à marrons de uma simetria complexa. Os girinos tem corpo em forma oval e o focinho redondo, a cauda e a região dorsal possuem coloração marrom com algumas manchas pretas (HEYER *et al.*, 1990).

Physalaemus gracilis (Anura, Leptodactylidae), conhecida popularmente como rã-chorona, pode ser encontrada no Uruguai, Argentina e Sul do Brasil (FROST, 2017; HERPETOLOGIA UFRGS, 2010). Sua categoria na lista vermelha é pouco preocupante, sem risco potencial de extinção, vulnerável ou ameaçados, seu habitat se localiza em pastagens no cerrado e nas fronteiras de florestas, conseguindo se adaptar em habitats com poluição ou elevada perturbação (LAVILLA *et al.*, 2017). Seu tamanho é considerado pequeno (2,7 a 3,2 cm). A coloração pode variar de um castanho mais avermelhado até tons de cinza mais claro, podendo ter uma faixa preta que se alonga desde o focinho até próximo as coxas. A reprodução acontece entre os meses de Setembro e Março, e as desovas são encontradas geralmente sobre as lâminas de água (HERPETOLOGIA UFRGS, 2010).

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar os impactos de exposição aguda e crônica da formulação comercial de glifosato sobre girinos de *Physalaemus cuvieri* e *Physalaemus gracilis*.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar, sob condições laboratoriais, a toxicidade aguda da formulação comercial de glifosato par girinos de *Physalaemus cuvieri* e *Physalaemus gracilis*.
- Analisar a atividade natatória na exposição crônica a formulação comercial de glifosato.
- Verificar a ocorrência de malformações congênicas após a exposição a doses crônicas da formulação comercial de glifosato.

3 METODOLOGIA

3.1. AGROTÓXICO

O agrotóxico utilizado foi o herbicida Glifosato na formulação comercial Glifosato Roundup Original Di 370 g/L. É composto por Equivalente ácido de N-fosfometil – glicina (GLIFOSATO) na quantidade de 370 g/L (37% m/v), Sal de Diamônio de N- (fosfometil) glicina na quantidade 445 g/L (44% m/v) e Ingredientes Inertes na quantidade de 751 g/L (75,1% m/v). Pertencente ao grupo químico glicina substituída e sua formulação é do tipo Concentrado Solúvel (MONSANTO, 2017).

3.2 ESPÉCIES TESTE

Os testes foram realizados com girinos de duas espécies de anfíbios: *Physalaemus cuvieri* (Anura: Leptodactylidae) e *Physalaemus gracilis* (Anura: Leptodactylidae) (Figura 1).



Figura 1 - Indivíduo adulto de *Physalaemus cuvieri* (A) e *Physalaemus gracilis* (B). Fonte: Colombo et al., 2008.

3.3 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

Foram coletadas desovas totais na natureza com menos de 24 horas de oviposição em uma lagoa dentro do Campus Erechim, da Universidade Federal da Fronteira Sul (latitude:-27.728681°; longitude:-52.285852°) e em lago localizado no

interior do município de Paulo Bento -RS (latitude:-27.7016; longitude:-52.426). Os dois locais não tem aplicação de agrotóxicos nas proximidade, por isso foram considerados áreas de referência. As desovas coletadas foram transportadas até o laboratório de Ecologia e Conservação da Universidade Federal da Fronteira Sul, e colocadas em aquários com cerca de 8 litros de água. Os parâmetros de controle da qualidade da água foram medidos diariamente, com a temperatura da água mantida em torno de $20^{\circ}\text{C} \pm 2$ e o Oxigênio Dissolvido na faixa de $6,0 \text{ mg/L} \pm 1,5$. Os girinos foram alimentados *ad libitum*- sem uma porcentagem massa/volume-a cada 24 horas a partir do estágio 23(tabela de desenvolvimento de Gosner,1960, ver anexo I) com alimento completo para peixes em flocos, com pelo menos 40% de proteína bruta.

Os testes ecotoxicológicos iniciaram quando os girinos chegaram nos estágios 24-25 (de acordo com Gosner(1960)). Neste estágio de vida, o girino respira por brânquias, protegidas por opérculos, tem atividade natatória e se alimenta externamente, com as parte da boca completas (DUELLMAN; TRUEB, 1994). Para determinação da CL_{50} (concentração letal) que determina as consequências de agentes tóxicos sobre indivíduos aquáticos em um curto espaço de tempo em relação ao seu tempo de vida, sendo seu objetivo prever, em um período curto de tempo que em média é de 24 a 96 horas, a dose ou concentração que possa mensurar e quantificar a ação de um agente tóxico sobre um indivíduo teste (COSTA *et al.*,2008), foi realizado teste agudo de 96 horas. Foram utilizados recipientes de vidro estéreis com 500 mL de água (água da chuva) mais a concentração a ser testada, contendo em cada um 5 girinos. Os recipientes tiveram aeração constante, a temperatura e o oxigênio dissolvido foram controlados diariamente e os animais não receberam alimento nesse período. Os testes foram realizados em sextuplicata, totalizando a exposição de 30 girinos para cada exposição. No controle foi utilizado apenas água da chuva e foi seguido o mesmo padrão de teste com 30 girinos. As concentrações utilizadas para determinação da CL_{50} foram $100 \mu\text{g/L}$, $300 \mu\text{g/L}$, $500 \mu\text{g/L}$, $1500 \mu\text{g/L}$, $2500 \mu\text{g/L}$, $3500 \mu\text{g/L}$, $4500 \mu\text{g/L}$.

O teste crônico seguiu o mesmo design experimental do teste agudo, mas com maior tempo de exposição. No teste, os girinos foram mantidos a concentrações sub- letais por 14 dias, com alimentação e troca de água a cada 7 dias. Durante o teste foram averiguadas a mortalidade e atividade natatória. As concentrações utilizadas foram $65 \mu\text{g/L}$, $280 \mu\text{g/L}$ baseadas na CONAMA 357(2005),

e 500 µg/L baseada na Portaria do Ministério da Saúde nº 518 (2004), e 144 µg/L, 700 µg/L e 1000 µg/L baseadas na literatura (DORNELLES,2013; PERUZZO *et al.*,2008; RISSOLI *et al.*,2016).

A atividade natatória foi observada a partir das 48 horas de teste, e para isso foram realizados movimentos na água do aquário, com o auxílio de um bastão de vidro, três vezes em círculo. Essa movimentação foi curta para estimular a movimentação dos girinos no aquário, sem causar stress. Como forma de comparação, o padrão de atividade natatória estabelecida foi:(0) atividade natatória igual ao controle; (1) atividade natatória reduzida (menor que o controle); (2) atividade natatória aumentada (mais agitados que o controle); (3) movimento só com estímulos; (4) espasmos (contrações espasmódicas). A metodologia foi observar a atividade natatória em 3 aquários (dos 6 em exposição) até o penúltimo dia de teste, nesse caso 14º dia, para averiguar se os aquários que não foram avaliados apresentariam alguma diferença em relação aos demais. Os aquários avaliados foram os mesmos até o final do teste, mantendo um padrão de avaliação, tanto nas concentrações quanto no controle. Os girinos foram alimentados ad libitum em dias alternados.

Ao final da exposição crônica os girinos foram colocados em placas de pétri para análises com esteriomicroscópio a fim de detectar a ocorrência ou não de malformações. Neste estudo foram analisadas somente as condições do intestino e da cavidade bucal. Para que essas malformações pudessem ser identificadas, a base utilizada foi o estudo realizado por Hu *et al.*(2015).

A CL50 foi analisada pelo método Trimmed Sperm Karber, no programa G-Basic. Os demais parâmetros foram analisados com ANOVA one way, seguido do teste post-hoc tukey, no programa Statistica.

Este trabalho de conclusão de curso(projeto) possui certificação do CEUA,protocolo nº23205.003254/2016-54 e autorização do ICMBIO para atividades com finalidade científica nº56004-1(anexo II).

4 RESULTADOS

4.1 TESTE AGUDO

Para *Physalaemus cuvieri* a $CL_{50\ 96h}$ para a formulação comercial de glifosato testada foi de 1360 $\mu\text{g/L}$ (e -95% = 930;+95% = 1980 $\mu\text{g/L}$). Não houve mortalidade no controle negativo. Com 24 horas de teste foram observadas mortalidade dos girinos mas apenas na maior concentração (Tabela 1). O tempo de teste teve influência sobre a mortalidade ($F_{(3,20)}=7,94, p\leq 0,01$) sendo significativo o último dia (96 horas; Tukey, $p < 0,05$). A concentração também teve influência sobre a mortalidade ($F_{(4,25)}=5,97, p < 0,01$), sendo significativo nas concentrações 2500 $\mu\text{g/L}$ e 3500 $\mu\text{g/L}$ (Tukey, $p < 0,05$).

Tabela 1 - Mortalidade de girinos de *Physalaemus cuvieri* expostos a formulação comercial de glifosato, no teste de toxicidade aguda.

Mortalidade(horas)	Concentração($\mu\text{g/L}$)					
	0	100	300	1500	2500	3500
24	0	0	0	0	0	10
48	0	0	0	1	0	7
72	0	1	0	1	4	8
96	0	8	4	10	20	1
Mortalidade total	0	9	4	12	24	26

Para *Physalaemus gracilis* a $CL_{50\ 96h}$ para a formulação comercial de glifosato foi de 1530 $\mu\text{g/L}$ (e - 95% = 1220;+95% = 1910 $\mu\text{g/L}$). Também não houve mortalidade no controle. A mortalidade começou a ocorrer com 24 horas de teste em todas as concentrações acima de 300 $\mu\text{g/L}$ (Tabela 2). O tempo de teste teve influência na mortalidade dos girinos ($F_{(3,20)}=17,95, p < 0,01$) sendo significativo o segundo, terceiro e último dia de teste (tukey, $p < 0,05$). A concentração também influenciou na mortalidade ($F_{(5,30)} = 10,90, p < 0,01$) sendo significativa as concentrações 3500 $\mu\text{g/L}$ e 4500 $\mu\text{g/L}$ (Tukey, $p < 0,05$).

Tabela 2 - Mortalidade de girinos de *Physalaemus gracilis* expostos a formulação comercial de glifosato, no teste de toxicidade aguda.

Mortalidade(horas)	Concentração(µg/L)						
	0	300	500	1500	2500	3500	4500
24	0	0	2	6	6	13	23
48	0	0	5	11	12	6	6
72	0	0	10	5	4	4	1
96	0	1	6	3	2	4	0
Mortalidade total	0	1	13	25	24	27	30

4.2 TESTE CRÔNICO

No teste crônico para *Physalaemus cuvieri* (Tabela 3), ao final de quatorze dias de teste (336horas) apenas a concentração de 0280 µg/L apresentou mortalidade de mais de 50% dos girinos. O tempo de exposição influenciou na mortalidade dos girinos ($F_{(13,69)} = 2,37, p=0,01$), sendo significativo o quinto dia de exposição (120horas, Tukey, $p<0,05$). As concentrações não influenciaram na mortalidade ($F_{(2,15)} = 1,40, p=0,27$).

Tabela 3 - Mortalidade de girinos de *Physalaemus cuvieri* expostos a concentrações crônicas da formulação comercial de glifosato.

Mortalidade (horas)	Concentrações (µg/L)			Controle
	65	144	280	
24	0	1	0	0
48	0	0	0	0
72	0	0	2	0
96	2	0	2	0
120	1	0	3	0
144	1	0	2	0
168	0	1	0	0
192	0	0	0	0
216	1	0	0	0
240	0	1	2	0
264	0	2	1	1
288	2	0	2	2
312	1	2	2	0
336	1	1	1	0
Mortalidade total	9	8	17	3

O teste crônico para *P. gracilis* (Tabela 4) apresentou mortalidade dos girinos a partir das 48 horas. Ao final do teste (336 horas) todas as concentrações apresentaram mortalidade.

Tabela 4 - Mortalidade de girinos de *Physalaemus gracilis* expostos a concentrações crônicas da formulação comercial de glifosato.

Mortalidade (horas)	Concentrações (µg/L)			Controle
	500	700	1000	
24	0	0	0	0
48	2	2	3	0
72	2	3	3	0
96	1	0	0	0
120	1	0	1	1
144	0	0	1	0
168	0	0	0	0
192	0	0	0	0
216	3	0	1	0
240	0	0	0	0
264	0	0	0	0
288	0	0	0	1
312	0	0	0	1
336	0	0	0	0
Mortalidade total	9	5	9	3

A mortalidade dos girinos foi influenciada pelo tempo de exposição ($F_{(13,70)}=3,97, p<0,01$), sendo significativo o terceiro e quarto dia de exposição (Tukey, $p<0,05$). A concentração não influenciou a mortalidade de girinos de *P. gracilis* ($F_{(2,15)}=,017, p=0,98$).

4.3 ATIVIDADE NATATÓRIA E MALFORMAÇÕES

4.3.1 Atividade Natatória

Foram observadas alterações na atividade natatória dos girinos de *P. cuvieri* (Tabela 5 e 6) a partir das 120 horas nas concentrações 144 µg/L e 280 µg/L. Com 168 horas todas as concentrações apresentaram girinos com atividade natatória alterada, no entanto, com 192 horas houve uma recuperação dos movimentos nas

concentrações 65 µg/L e 144 µg/L, apresentando atividade natatória igual ao controle novamente. A concentração com maior número de girinos com alteração na atividade natatória foi 280 µg/L.

O tempo de exposição teve influência significativa na alteração da atividade natatória dos girinos ($F_{(12,26)}=3,44, p=0,004$) significativo no último dia de teste (336 horas; Tukey, $p<0,05$). A concentração não foi significativa para alteração da atividade natatória ($F_{(2,6)}=0,97, p=0,43$).

Tabela 5 - Tipo de alteração na atividade natatória observada em girinos de *Physalaemus cuvieri* expostos a concentrações crônicas da formulação comercial de glifosato tendo como padrão de atividade natatória estabelecida: (0) atividade natatória igual ao controle; (1) atividade natatória reduzida (menor que o controle); (2) atividade natatória aumentada (mais agitados que o controle).

Tempo de teste (horas)	Tipo de Alteração no Movimento								
	65			144			280		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
48	0	0	0	0	0	0	0	0	0
72	0	0	0	0	0	0	0	0	0
96	0	0	0	0	0	0	0	0	0
120	0	0	0	1	1	0	0	1	1
144	0	0	0	1	0	1	0	0	0
168	0	0	0	1	0	1	0	0	0
192	0	0	0	0	0	0	0	2	0
216	0	0	0	0	0	0	0	2	0
240	0	0	0	0	0	0	0	2	0
264	0	0	0	0	0	0	0	2	1
288	0	1	0	1	0	0	0	2	1
312	0	1	0	1	1	0	0	2	1
336	0	1	1	1	1	0	0	2	1

Tabela 6 - Atividade natatória observada ao final do teste em girinos de *Physalaemus cuvieri* expostos a concentrações crônicas da formulação comercial de glifosato.

Concentração(µg/L)	Expostos	Analizados	Sem alteração	Com alteração	Movimento alterado(%)
65	30	15	5	10	67
144	30	15	5	10	67
280	30	15	5	10	67

As alterações na atividade natatória dos girinos de *Physalaemus gracilis* (Tabela 7 e 8) foram observadas a partir das 48 horas de teste. Com 120 horas todas as concentrações apresentaram mobilidade alterada, no entanto, o tempo de exposição foi significativo na alteração da atividade natatória ($F_{(12,26)}=11,39, p=0,00$) sendo significativo a partir do quinto dia de teste (144 horas até 336 horas; Tukey, $p<0,05$). A concentração não foi significativa para a alteração da atividade natatória ($F_{(2,6)}=4,15, p=0,07$).

Tabela 7 - Tipo de alteração na atividade natatória observada em girinos de *Physalaemus gracilis* expostos a concentrações crônicas da formulação comercial de glifosato tendo como padrão de atividade natatória estabelecida: (0) atividade natatória igual ao controle; (1) atividade natatória reduzida (menor que o controle); (2) atividade natatória aumentada (mais agitados que o controle).

Tempo de teste (horas)	Tipo de Alteração no Movimento								
	500			700			1000		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
48	0	0	0	0	0	0	0	1	0
72	0	0	0	0	0	0	0	1	0
96	0	0	0	0	0	0	0	1	1
120	1	0	0	0	0	0	2	1	1
144	1	0	0	2	0	1	2	1	1
168	1	0	0	2	0	1	2	1	1
192	1	0	0	2	2	1	2	1	1
216	1	1	0	2	2	1	2	1	1
240	1	1	1	2	2	1	2	1	1
264	1	1	1	2	2	1	2	1	1
288	1	1	1	2	2	1	2	1	1
312	1	1	1	2	2	1	2	1	1
336	1	1	1	2	1	1	2	1	1

Tabela 8 - Tabela 8: Atividade natatória observada ao final do teste em girinos *Physalaemus gracilis* expostos a concentrações crônicas da formulação comercial de glifosato.

Concentração($\mu\text{g/L}$)	Expostos	Analisados	Sem alteração	Com alteração	Movimento alterado (%)
500	30	15	0	15	100
700	30	15	0	15	100
1000	30	15	0	15	100

4.3.2 Malformações

Foram observadas malformações em *P.cuvieri* em todas as concentrações (Tabela 9),mas não foram significativas em relação ao controle ($F_{(3,18)}=0,47,p=0,70$) e entre as concentrações($F_{(2,13)}=0,06,p=0,93$).A maior parte das malformações observadas,81,13% dos girinos expostos, foram na boca(Tabela 10),com falta de keratodonts e parte do lábio superior e inferior(Figura 2 A e B). Entre girinos expostos(concentrações) e não expostos(controle) a malformação na boca foi significativa ($F_{(1,20)}=4,12,p=0,05$). Em relação as alterações no intestino, 11,32% dos girinos expostos(concentrações) apresentaram edema no intestino,com formato diferente do espiral normal (Figura 3A e B). A malformação no intestino entre as concentrações foi significativa ($F_{(2,13)}=4,22, p=0,03$) sendo mais significativa nas concentrações 65 μ g/L e 280 μ g/L (Tukey, $p<0,05$). Entre girinos expostos e não expostos (controle) a malformação no intestino não foi significativa ($F_{(1,20)}=2,13, p = 0,15$).

Tabela 9 - Malformações apresentadas pelos girinos de *Physalaemus cuvieri* no controle e expostos as concentrações crônicas da formulação comercial de glifosato.

Concentração (μ g/L)	Nºde expostos	Nºde girinos analisados	Nºde girinos sem malformação	Nºde girinos com malformação	%de girinos com malformação(em relação aos analisados)
0	30	27	16	11	40
65	30	20	5	15	75
144	30	21	4	17	81
280	30	12	1	11	91

Tabela 10 - Tabela 10: Malformações na boca e intestino observadas em *Physalaemus cuvieri* no controle e expostos a formulação comercial de glifosato, teste crônico.

Concentração($\mu\text{g/L}$)	Malformação	
	Boca	Intestino
0	8	5
65	15	3
144	17	0
280	11	3

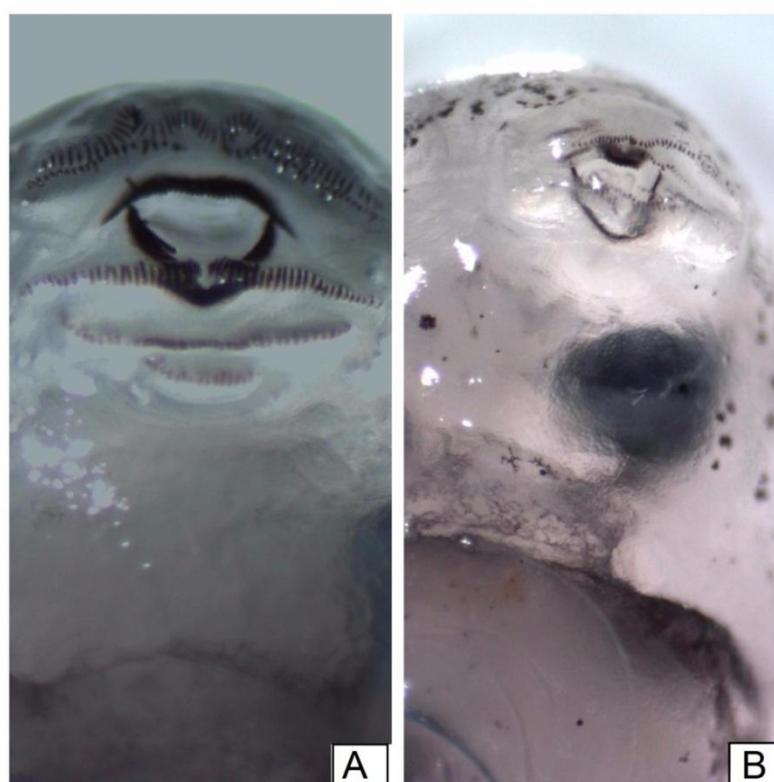


Figura 2 - Malformações na boca de girinos de *Physalaemus cuvieri*. (A) boca de um girino do controle, (B) após a exposição a formulação comercial de Glifosato. Fonte: a autora.

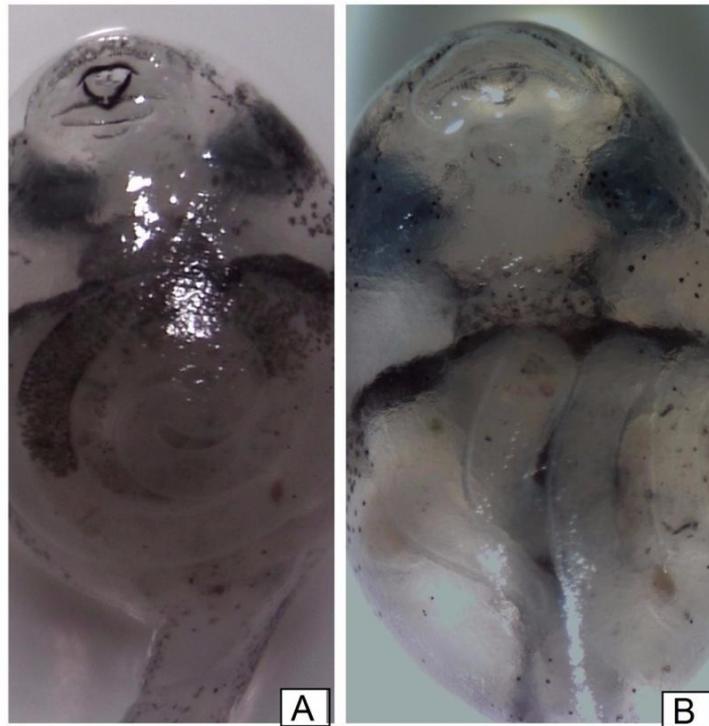


Figura 3 - Intestino normal em formato espiral (A) e intestino malformado de larva de *Physalaemus cuvieri* após a exposição a formulação comercial de Glifosato(B). Fonte: a autora.

Foram observadas malformações em *P.gracilis* em todas as concentrações (Tabela 11), sendo essas equivalente à 95,52% dos girinos expostos. Em relação ao controle as malformações foram significativas ($F_{(1,21)}=4,22, p=0,05$). A malformação na boca foi observada em 95,5% dos girinos expostos(Tabela 12). A malformação observada na boca foi a falta de dentículos e parte do lábio superior e inferior(Figura 4 A e B). Entre as concentrações a malformação na boca não foi significativa ($F_{(2,13)}=0,06, p=0,93$). Mas entre os girinos expostos e não expostos(controle) a malformação na boca foi significativa($F_{(1,20)}=4,63, p=0,04$).Em relação à malformação do intestino apenas 3,11% dos girinos apresentaram alteração.

Tabela 11 - Malformações apresentadas pelos girinos de *Physalaemus gracilis* expostos a concentrações crônicas da formulação comercial de glifosato.

Concentração (µg/L)	Expostos	Analisados	Sem malformação	Com malformação	Girinos com malformação(%)
0	60	57	25	32	56
500	30	21	2	19	90
700	30	25	0	25	100
1000	30	21	1	20	95

Tabela 12 - Malformações na boca e no intestino observadas em *Physalaemus gracilis* no controle e expostos a formulação comercial de glifosato, teste crônico.

Concentração(µg/L)	Malformação	
	Boca	Intestino
0	32	0
500	19	1
700	25	1
1000	20	0

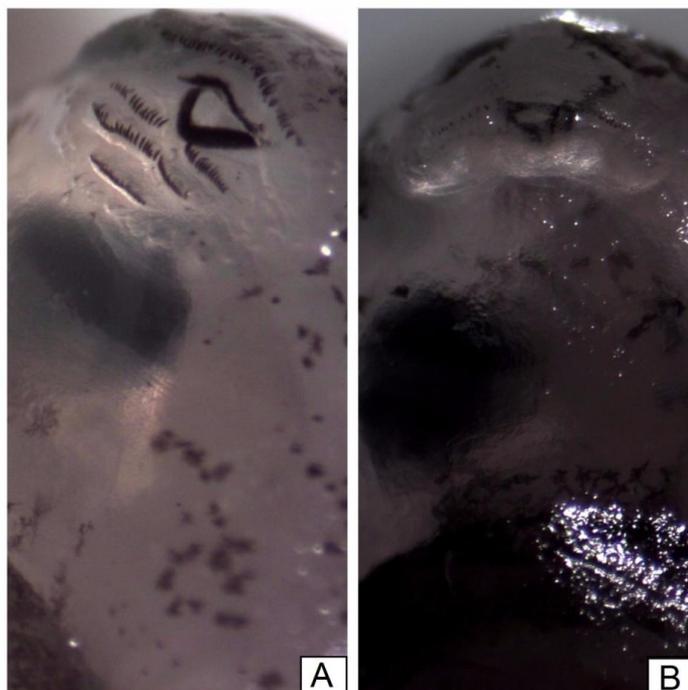


Figura 4 - Malformações na boca de girinos de *Physalaemus gracilis*. (A) boca de um girino do controle, (B) após a exposição a formulação comercial de Glifosato. Fonte: a autora.

5 DISCUSSÃO

Neste estudo *Physalaemus cuvieri* demonstrou maior sensibilidade à formulação comercial de Glisofato do que *Physalaemus gracilis* na avaliação da toxicidade aguda. De acordo com a classificação Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals (GHS Criteria, GHS,2011) tanto *Physalaemus cuvieri* quanto *Physalaemus gracilis* apresentam categoria aguda 2 ($>1000 < 10\ 000\ \mu\text{g/L}$, usando a mesma categoria que para peixes, total de 3 categorias agudas). Essas duas espécies foram mais sensíveis do que outras estudadas, como *Xenopus laevis* (PERKINS *et al.*,2000), *Rana pipiens*, *Rana sylvatica*, *Bufo americanus*, *Rana clamitans* (HOWE *et al.*,2004) e *Physalaemus albonotatus* (SIMIONI *et al.*,2013), e tiveram a CL_{50} próxima a *Rhinella marina* e *Hypsiboas crepitans* (MOÑOZ,2015) e *Hyla versicolor* (RELYEA,2005a).

De acordo com Govindarajuli (2008), os anfíbios são os que apresentam maior sensibilidade aos efeitos dos glifosato entre os vertebrados, possuindo uma concentração letal média (CL_{50}) que varia entre 1000 e 10000 $\mu\text{g/L}$. Todas as espécies citadas acima tem a CL_{50} de glifosato dentro destas concentrações.

O tempo de exposição e a concentração sobre os girinos tiveram influência na toxicidade aguda sobre as duas espécies testadas, no entanto de maneiras diferentes. De acordo com Magalhães e Ferrão Filho(2008) para que uma substância atinja uma concentração limite a partir da qual os efeitos sobre os girinos serão identificados exige um tempo, sendo as 24 horas iniciais as de maior relevância pois com o aumento do tempo os organismos podem desenvolver certa resistência ao composto químico. Para *Physalaemus gracilis* a mortalidade mais acentuada foi em 24 horas, ao contrário de *Physalaemus cuvieri* onde a mortalidade mais significativa ocorreu com 96 horas de teste. Isso pode mostrar maior resistência de *P. cuvieri* ao glifosato em relação ao tempo de exposição, mas não fez diferença para a toxicidade aguda, já que as concentrações mais altas de exposição afetou as duas espécies.

A mortalidade no teste crônico ocorreu em ambas as espécies nesse estudo, sendo que o tempo de exposição teve influência significativa. Isso pode estar relacionado com a fase larval, a partir da qual girinos respiram por brânquias, tornando órgãos-alvo mais sensíveis a químicos(EDGINTON,2004;MAGALHÃES; FERRÃO FILHO,2008;WOEHL Jr.;WOEHL,2008).

Contaminantes em ambientes aquáticos podem causar efeitos comportamentais nos organismos, entre eles alteração de movimentos(MIKÓ,2017). A atividade natatória de *Physalaemus cuvieri* e *Physalaemus gracilis* , apresentaram alteração em relação ao controle, no entanto *P.cuvieri* demonstrou ligeira recuperação com relação aos movimentos ,característica não observada no *P .gracilis* onde a alteração foi crescente até o final do teste. Movimentos anormais podem ser consequências de forma do corpo de girinos poder ser afetada com glifosato, podendo assim alterar a cauda que por sua vez interfere na atividade natatória e ainda na resposta dos girinos a predadores (HOWE *et al.*, 2004; LAJMANOVICH *et al.*, 2003; MIKÓ, 2015). Essa recuperação observada no *P.cuvieri* pode ser vista como uma leve resistência adquirida ao agrotóxico que pode ter ligação com a filogenética ou tolerância, entretanto, estudos sobre anuros brasileiros se fazem necessário para averiguar essa influência(SIMIONI,2013).

Efeitos comportamentais e morfológicos de glifosato em anuros, similar a este estudo foram observados por Almeida (2014), que avaliou a toxicidade aguda da formulação Roundup para *Physalameus cuvieri* e *Rhinella icterica* , observando que a exposição ocasionou malformações na cavidade oral e no intestino dessas espécies entanto, no presente estudo, realizado com *P. cuvieri* e *P. gracilis*, a malformação da boca também foi observada no controle das duas espécies e com isso não é possível relacionar a exposição ao glifosato. Anomalias e malformações na boca podem ser causadas pelo fungo patogênico *Batrachochytrium dendrobatidis* (Bd) (KNAPP; MORGAN, 2006)., considerado o principal causador da extinção dos anfíbios no Brasil e no mundo (CARVALHO *et al.*, 2017). Como não foi feito o teste para Bd, não podemos confirmar a infecção por este fungo. De qualquer maneira, falta de dentículos e lábios pode trazer consequências que comprometam desde a alimentação até sua posição de predação na cadeia trófica o que acarretaria na mortalidade dos girinos (PÉREZ-IGLESIAS *et al.*,2015), e é uma anomalia que deve ser investigada com mais calma em estudos futuros.

Anomalias no intestino foram mais identificadas em *Physalaemus cuvieri* do que em *Physalameus gracilis* ,e também apareceram no controle. Com esses resultados, os dois tipos de malformação analisados neste estudo não podem ser relacionados com a exposição a formulação comercial de glifosato.

Todas as concentrações crônicas testadas causaram alterações na atividade natatória tanto de *P. cuvieri* quanto de *P.gracilis*. Das três concentrações permitidas

pela legislação e que foram testadas, todas causaram alteração na atividade natatória, sendo 280 µg/L e 500 µg/L mais acentuada que 65 µg/L.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Na avaliação da toxicidade aguda *Physalaemus cuvieri* demonstrou maior sensibilidade a formulação comercial de glifosato do que *Physalaemus gracilis*. O tempo de exposição e a concentração influenciaram na mortalidade da toxicidade aguda. Para *P.cuvieri* o último dia de teste (96 horas) foi mais relevante para a mortalidade e entre as concentrações foram 2500 µg/L e 3500 µg/L, já para *P.gracilis* do segundo ao último dia de teste influenciaram na mortalidade e entre as concentrações 3500 µg/L e 4500 µg/L.

No teste crônico apenas o tempo de exposição influenciou na mortalidade tanto de *P. cuvieri* quanto de *P.gracilis*, com o quinto dia de exposição(120horas) o mais significativo para *P.cuvieri* e para *P. gracilis* o terceiro e quarto dia de exposição (72 e 96horas). Todas as concentrações crônicas avaliadas causaram algum tipo de alteração na atividade natatória dos girinos de ambas as espécies. Com relação a malformações, foram analisadas alterações na morfologia da boca e intestino. A malformação da boca, foi observada nos girinos de *P. cuvieri* e *P.gracilis*. A malformação no intestino foi mais observada em *Physalaemus cuvieri*.Entretanto, o controle das duas espécies também apresentou malformação na boca e intestino, com isso não sendo possível associar diretamente a exposição da formulação comercial de glifosato as alterações morfológicas. Sugerimos que estudos futuros sejam realizados a fim de investigar mais a fundo essas anomalias. No entanto é possível relacionar alterações na atividade natatória das duas espécies com a exposição a formulação comercial de glifosato.

REFERÊNCIAS

- ALBINATI,A.C.L.;MOREIRA,E.L.T.;ALBINATI,R.C.B.;CARVALHO,J.V.;SANTOS,G.B.;LIRA,A.D.Toxicidade aguda do herbicida roundup^R para piauçu(*Leporinus macrocephalus*).Rev.Bras.**Saúde Prod.An**,v.8,n.3,p.184-192,jun/set,2007.
- ALMEIDA,P.R.**Toxicidade aguda (LC50) e efeitos comportamentais e morfológicos do formulado comercial Roundup Original^R em girinos de *Physalaemus cuvieri*(Anura, Leptodactylidae) e *Rhinella icterica*(Anura, Bufonidae).**2014.96f. Dissertação(Mestrado em Ciência e Engenharia Ambiental)- Universidade Federal de Alfenas.Poços de Caldas,Minas Gerais,2014.
- AMARAL, EROS IZIDORO. **Avaliação da exposição ambiental ao glifosato na área agrícola da Serrinha do Mendanha.** 2009.f.72. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública e Meio Ambiente) - Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca,Rio de Janeiro,2009.
- ANDRÉA,M.M.;PAPINI,S.;PEREZ,T.;BAZARIN,S;SOVOY,V.L.T.;MATALLO,M.B.Gly phosate:influência na biota do solo e ação de minhocas sobre sua dissipação em terra agrícola.**Planta Daninha**,v.22,n.1,p.95-100,2004.
- ANDRÉA,M.M.;GOMES,M.A.F.;LUCHINI,L.C.;SPADOTTO,C.A. Monitoramento do risco ambiental de agrotóxicos: princípios e recomendações. In: **Embrapa Meio Ambiente**, São Paulo,2004.
- ANVISA. **Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos.** Relatório de atividade 2010. Brasília, 2011.
- ARANHA,R.C.**Potencial de toxicidade dos herbicidas glifosato e imazetapir em *Colossoma macroponum*(Pisces).**2013.f.67.Dissertação(Mestrado em Ciências Ambientais)- Universidade Federal do Oeste do Pará,Santarém,2013.
- ARREGUI,M.C.et al.**Informe acerca del grado de toxicidad del glifosato.**Universidad Nacional del Litoral,Santa Fé,Set.2010.
- BARRETO,L.;ANDRADE,G.V. Aspects of the reproductive biology of *Physalaemus cuvieri*(Anura: Leptodactylidae) in northeastern Brazil. **Amphibia- Reptilia**,v. 16,p.67- 76,1995.
- BURGGREN,W.W.;WARBURTON,S. Amphibians as Animal Models for Laboratory Research in Physiology. **ILAR journal**,v.48,n.3,p.260-269,2007.
- BLAUSTEIN,A.R.;KIESECKER,J.M.Complexity and conservation: lessons for the global decline of amphibian populations.**Ecology Letters**,v.5,p.597-608,2002.
- BRASIL.Ministério da Saúde.Divisão Nacional de Vigilância Sanitária de Produtos Saneantes Domissanitários-DISAD.Portaria nº 4,de 30 de abril de 1980.Estabelece normas para a classificação toxicológica de defensivos agrícolas. In: Gelmini GA,Novo JPS.**Defensivos agrícolas: informações básicas e legislação.**Campinas:Fundação Cargill;.p.453-464,1987.

BRASIL.Ministério da Saúde.Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária-SNVS.Portaria nº03, de 16 de janeiro de 1992.Ratifica os termos das "Diretrizes e orientações referentes à autorização de registros, renovação de registro e extensão de uso de produtos agrotóxicos e afins-⁰¹,de 09/12/97".**Legislação federal de agrotóxicos e afins**,Brasília,Ministério da Agricultura e do Abastecimento.p.153-177,1998.

BRASIL.Ministério da Saúde.Secretária de Vigilância em Saúde.Coordenação- Geral de Vigilância em Saúde Ambiental.**Portaria nº518/04**.1ªed.p.28,Brasília,2005

CARVALHO,T.;BECKER,C.G.;TOLEDO,L.F. Historical amphibian declines and extinctions in Brazil linked to chytridiomycosis.Proceedings-Royal Society.Biological Sciences,v.284,p.2016-2254,2017.

COLOMBO,P.;KINDEL,A.;VINCIPROVA,G.;KRAUSE,L. Composição e ameaças à conservação dos anfíbios anuros do Parque Estadual de Itapeva, município de Torres, Rio Grande do Sul, Brasil. **Biota Neotrop.**,vol.8,no.3,p.230-240,2008.

CONAMA.Conselho Nacional do Meio Ambiente.**Resolução nº357/05**.Estabelece a classificação das águas doces,salobras e salinas do Território Nacional.Brasília, SEMA,2005.

COSTA,J.B.Da.**Avaliação Ecotoxicológica da água e sedimento de tributários do Reservatório de Barra Bonita(Médio Tietê Superior-SP)**. 2001.f.300. Dissertação(Mestrado em Engenharia Ambiental)-Universidade de São Paulo,São Carlos,2001.

COSTA,R.C.;BOTTA,C.M.R.;ESPINDONLA,E.L.G.;OLIVI,P. A toxicidade em ambientes aquáticos: discussão e métodos de avaliação. **Quim.Nova** ,vol. 31 , no.7,1820-1830,2008.

CRUZ,C.;GARLICH,N.;LUNA,L.V.;PITELLI,R.A.;SILVA,A.F.;YAMAUCHI,A.K.F. Glyphosate Effectiveness in the control of Macrophytes under e greenhouse condition.**Planta Daninha**, Viçosa-MG, v.33,n.2,p.241-247, 2015.

DINEHART,S.K.;SMITH,L.M.;McMURRY,L.M.;SMITH,P.N.;ANDERSON,T.A.;HAUK OS,D.A. Acute and chronic toxicity of Roundup Weathermax and Ignite 280 SL to larval *Spea multiplicata* and *S. bombifrons* from the Southern High Plains, USA. **Environmental Pollution**,158,p.2610-2617,2010.

DORNELLES,M.F. **Efeito dos herbicidas atrazina, glifosato e quinclorac sobre a composição bioquímica, a peroxidação lipídica e a sobrevivência de girinos de *Lithobates catesbeianus*(Shaw,1802)**.2013.155f. Dissertação(Mestrado em Zoologia)-Faculdade de Biociências, Pontfícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre,2013.

DUELLMAN,W.E.;TRUEB,L.Biology of Amphibians,Baltimore.The Johns Hopkins University.**Baltimore e London**,n.2,p.670,1994.

EDGE,C.;THOMPSON,D.;HAO,C.;HOULAHAN,J. The response of amphibian larvae to exposure to a glyphosate- based herbicide(Roundup WeatherMax) and nutrient enrichment in an ecosystem experiment.**Ecotoxicology and Environmental Safety**.109,p.124-132,2014.

EDGINTON,A.N.; SHERIDAN,P.M.; STEMPHENSON,G.R.;THOMPSON,D.G.; BOERMANS,H.J. Comparative effects of pH and vision herbicide on two life stages of four anuran amphibian species. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v.23,n.4,p.815-822,2004.

FERREIRA,D.S.**Avaliação do risco da presença de resíduos de Glifosato e ácido aminometilfosfônico(AMPA) em grãos de soja e em amostras de solo**.2013. f.89. Dissertação (Mestrado em Toxicologia)-Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo,São Paulo,2013

FROST,D.**Amphibian Species of the World** :an Online Reference. Version 6.0 American Museum of Natural History,New York,USA,2017.Disponível em: <<http://research.amnh.org/vz/herpetology/amphibia/Amphibia/Anura/Leptodactylidae/Leiuperinae/Physalaemus/Physalaemus-cuvieri>>

<<http://research.amnh.org/vz/herpetology/amphibia/Amphibia/Anura/Leptodactylidae/Leiuperinae/Physalaemus/Physalaemus-gracilis>>

GARCIA,E.G.**Avaliação das consequências da"Lei dos Agrotóxicos" nas intoxicações e nas classificações toxicológicas e de potencial de periculosidade ambiental no período de 1990 a 2000**.2001,f.202.Tese (Doutorado em Saúde Ambiental)-Faculdade de Saúde Pública,Universidade de São Paulo,São Paulo,2001.

GOVINDARAJULU, P. P. Literature review of impacts of glyphosate herbicide on amphibians: What risks can the silvicultural use of this herbicide pose for amphibians in B.C.?. B.C. **Ministry of Environment**,n.R-28,2008.

GHS.Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals.Fouth Edition.United Nations,**New York and Geneva**,2011.

HERPETOLOGIA UFRGS. 2010. **Laboratório de Herpetologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul**. On line. Versão 1.0, Novembro 2010. Disponível em:<<http://www.ufrgs.br/herpetologia/Anf%C3%ADbios/Physalaemus%20gracilis.htm>>

HEDBERG,D.;WALLIN,M. Effects of Roundup and glyphosate formulations on intracellular transport, microtubules and actin filaments in *Xenopus laevis* melanophores.**Toxicology in Vitro**,n.24,p.795-805,2010.

HEYER,W.R.; RAND,A.S.;CRUZ,C.A.G.da;PEIXOTO,O.L.;NELSON,C.E.Frogs of Boracéia.**Arq.Zool.**,v.31,n.4,p.231-410,São Paulo,1990.

HOWE, C.M.; BERRILL, M.; PAULI, B.D.; HELBING, C.C.; WERRY, K.; VELDHOFEN, N. Toxicity of glyphosate-based pesticides to four north American frog species. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v.23, n.8, p.1928-1938, 2004.

HU, L.; ZHU, J.; ROTCHEL, J.M.; GAO, J.; SHI, H. Use of the enhanced frog embryo teratogenesis assay-Xenopus (FETAX) to determine chemically-induced phenotypic effects. **Science of the Total Environment**, v.508, p.258-265, 2015.

IBAMA- Instituto Brasileiro do Meio ambiente e dos Recursos Naturais e Renováveis, Relatórios de Comercialização de Agrotóxicos- **Boletim Anual de Produção, Importação, Exportação e Vendas de Agrotóxicos no Brasil**, Boletim, 2014. Disponível em: < <http://ibama.gov.br/agrotoxicos/relatorios-de-comercializacao-de-agrotoxicos> >

IBAMA- Instituto Brasileiro do Meio ambiente e dos Recursos Naturais e Renováveis, **Portaria Normativa nº84** de 1996, p.1-33, 1996.

KNAPP, R.A.; MORGAN, J.A.T. Tadpole mouthpart depigmentation as an accurate indicator of chytridiomycosis, an emerging disease of amphibians. **Copeia**, p.188-197, 2006.

LAJMANOVICH, R.C.; SANDOVAL, M.T.; PELTZER, P.M. Induction of mortality and malformation in *Scinax nasicus* tadpoles exposed to glyphosate formulations. **Bull. Environ. Contam. Toxicol.** 70, p.612-618, 2003.

LAJMANOVICH, R.C.; ATTADEMO, A.M.; PELTZER, P.M.; JUNGES, C.M.; CABAGNA, M. C. Toxicity of four Herbicide Formulations with Glyphosate on *Rinnella arenarum* (Anura: Bufonidae) Tadpoles: B- esterases and Glutathiones S-transferase Inhibitors. **Arch. Environ. Contam. Toxicol.** p.681-689, 2011.

LAVILLA, E.; KWET, A.; SEGALLA, M.V.; LANGONE, J.; BALDO, J. ***Physalaemus gracilis***. A Lista Vermelha da IUCN de Espécies Ameaçadas 2010: e. T57258A11610839. junho, 2017. Disponível em : < <http://www.iucnredlist.org/details/57258/0> >

MAGALHÃES, D.P.; FERRÃO FILHO, A.S. A ecotoxicologia como ferramenta no biomonitoramento de ecossistemas aquáticos. **Oecologia brasiliensis**, v.12, p.355-381, 2008.

MIJARES, A.; RODRIGUES, M.T.; BALDO, D. ***Physalaemus cuvieri***. Lista Vermelha da IUCN de Espécies Ameaçadas 2010: e. T57250A11609155, junho, 2017. Disponível em: < [Http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2010-2.RLTS.T57250A11609155.en](http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2010-2.RLTS.T57250A11609155.en) . >

MIKÓ, Z.; UJSZEEGI, J.; GÁL, Z.; IMREI, Z.; HETTYEY, A. Choice of experimental venue matters in ecotoxicology studies: Comparison of a laboratory-based and an outdoor mesocosm experiment. **Aquatic Toxicology**, v.167, p.20-30, 2015.

MIKÓ, Z.; UJSZEGI, J.; GÁL, Z.; HETTYEY, A. Effects of a glyphosate- based herbicide and predation threat on the behaviour of agile frog tadpoles. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, 140, p.96-102, 2017.

MONSANTO. **Bula Roundup Original**, 2017. Disponível em: <
<http://www.monsantoglobal.com/global/br/produtos/Documents/roundup-original-di-bula.pdf>>

MORAES, P.V.D., ROSSI, P. Comportamento ambiental do glifosato. **Scientia Agraria Paranaensis**, v.9, n.3, p.22-35, 2010.

MUÑOZ, L.M.H.; VELÁSQUEZ, T.M.T. BAUTISTA, M.H.B. Evaluación de la Toxicidad de dos Agroquímicos, Roundup Activo y Cosmo-Flux 411F, en renacuajos de anuros colombianos. **Acta Biológica Colombiana**, 20(2), p.153-161, 2015.

PELAEZ, V.; TEODORICZ, T.; GUIMARÃES, T.A.; SILVA, L.R. Da .; MOREAU, D.; MIZUKAWA, G. A Dinâmica do comercial internacional de agrotóxicos. **Política Agrícola**, ano XXV, n.2, 2016.

PÉREZ-IGLESIAS, J.M.; SOLONESKI, S.; NOKOLOFF, N.; NATALE, G.S.; LARRAMENDY, M.L. Toxic and genotoxic effects of the imazethapyr-based herbicide formulation Pivot H® on montevideo tree frog *Hypsiboas pulchellus* tadpoles (Anura, Hylidae). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.119, p.15-24, 2015.

PERUZZO, P.J.; PORTA, A.A.; RONCO, A.E. Levels of glyphosate in surface waters, sediments and soils associated with direct sowing soybean cultivation in north pampasic region of Argentina. **Environmental Pollution**, v.156, p.61-66, 2008.

PERKINS, P.J.; BOERMANS, H.J.; STEPHENSON, G. Toxicity of Glyphosate and Triclopyr using the frog embryo teratogenesis assay-*Xenopus*. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v.19, n.4, p.940-945, 2000.

QUEIROZ, G.M.P.; da SILVA, M.R.; BIANCO, R.J.; PINHEIRO, A.; KAUFMANN, V. Transporte de Glifosato pelo escoamento superficial e por lixiviação em um solo agrícola. **Química Nova**, v.34, n.2, p.190-195, 2011.

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

RELYEA, R.A. New effects of Roundup on amphibians: predators reduce herbicide mortality; herbicides induce antipredator morphology. **Ecol. Appl.** 22, p.634-647, 2012.

RELYEA, R.A. The lethal Impacts of Roundup and predatory stress on six species of north american tadpoles. **Arch. Environmental Contamination Toxicology**, v.48, p.351-357, 2005a.

RISSOLI, R.Z.; ABDALLA, F.C.; COSTA, M.J.; RANTIN, F.T.; MCKENZIE, D.J.; KALININ, M.J. Effects of glyphosate and the glyphosate based herbicides Roundup Original and Roundup Transorb on respiratory morphophysiology of bullfrog tadpoles. **Chemosphere**, v.156, p.37-44, 2016.

SILVA et al. Toxicidade aguda e genotoxicidade do agrotóxico comercial Folisuper 600BR a girinos de *Physalaemus cuvieri* (anura: Leiuperidae). **Pesticidas: r. ecotoxicol. e meio ambiente**, Curitiba, v.23, p.1-10, jan/dez. 2013.

SIMIONI, F.; SILVA, D.F.N.Da.; MOTT, T. Toxicity of Glyphosate on *Physalaemus albonotatus* (Steindachner, 1864) from Western Brazil. **Ecotoxicol. Environ. Contam.**, v.8, n.1, p.55-58, 2013.

SOUZA, M.A. **Risco de contaminação da água por glifosato: Validação do modelo A.R.C.A. e uma lavoura de soja no entorno do Distrito Federal.** 2014.f.141. Doutorado (Doutorado em Ciências Florestais) - Faculdade de Tecnologia, Universidade De Brasília, Brasília-DF, 2014.

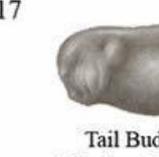
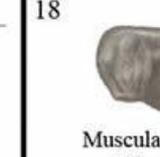
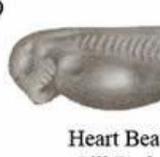
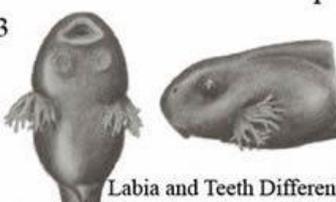
VIRGINIA HERPETOLOGICAL SOCIETY. **The Gosner(1960) staging system for Anurans.** 2016. Disponível em: < [http://www.virginiaherpetologicalsociety.com/amphibians/amphibian development/gosner.pdf](http://www.virginiaherpetologicalsociety.com/amphibians/amphibian%20development/gosner.pdf)>
WOEHL Jr.; G.; WOEHL, E.N. **Cartilha: Anfíbios da Mata Atlântica.** Jaraguá do Sul: Instituto Rã- Bugio para Conservação da Biodiversidade, 2008.

ZAGATO, P.A.; BERTOLETTI, E (Eds). **Ecotoxicologia aquática: princípios e aplicações,** São Carlos: Rima, p. 117-147. 2008.

ANEXO(I)

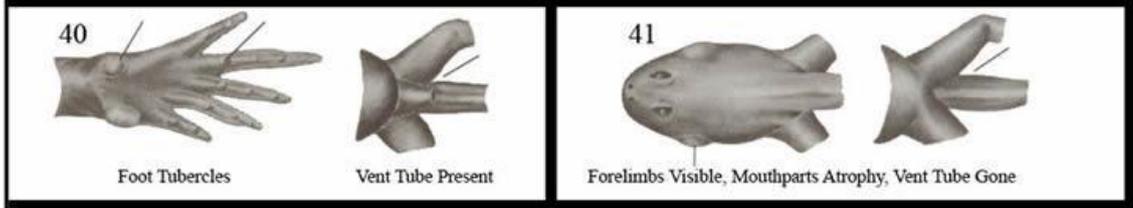
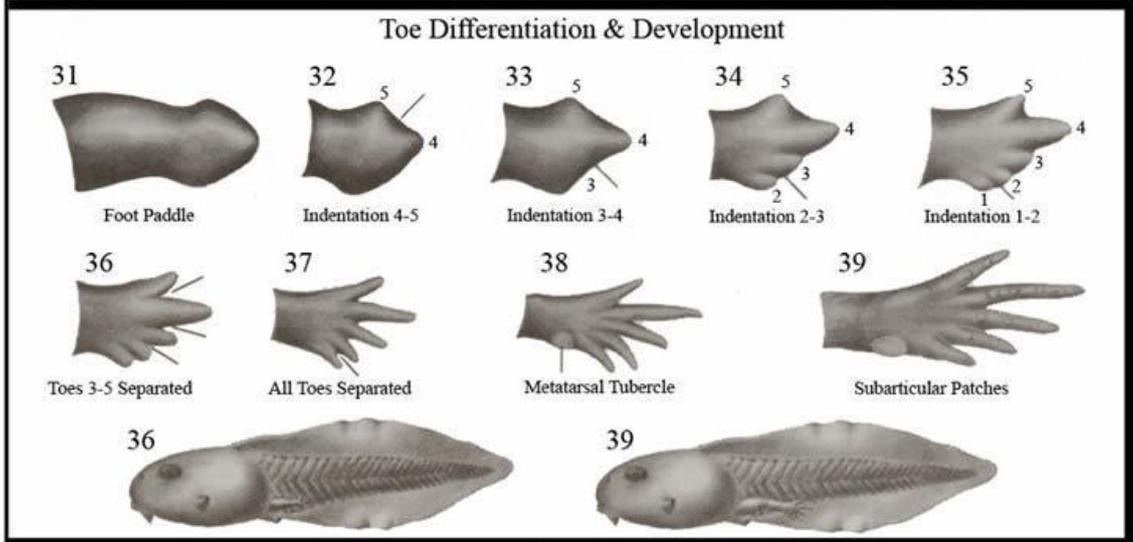
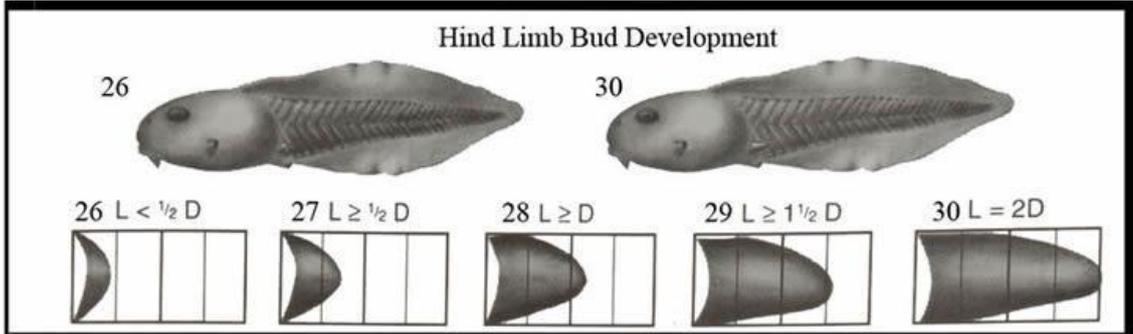
Tabela de Gosner(1960), utilizada para classificar os girinos em estágios de desenvolvimento de 1 a 25.

E
M
B
R
Y
O
S

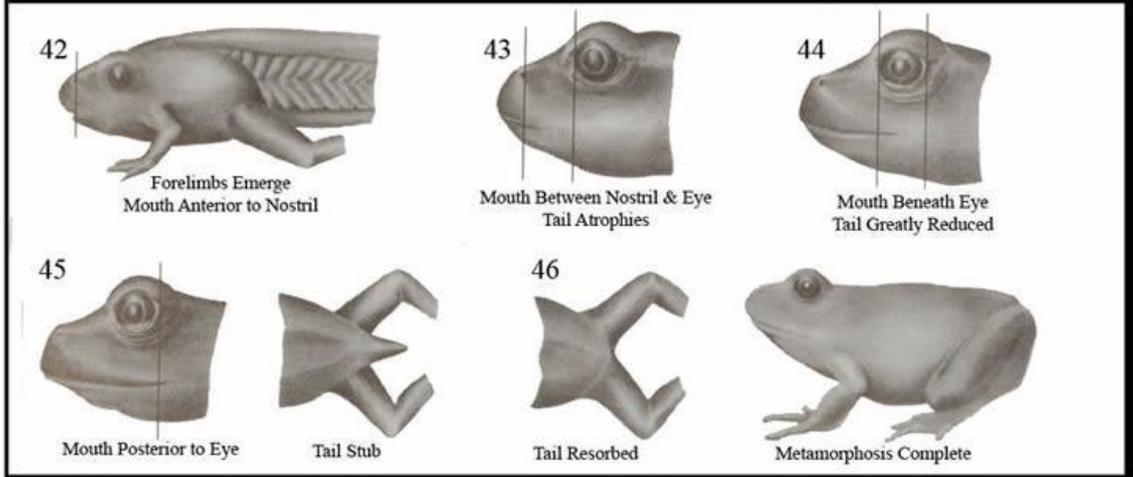
1  Fertilization	2  Gray Crescent	3  2-Cell	4  4-Cell	5  8-Cell
6  16-Cell	7  32-Cell	8  Midcleavage	9  Late Cleavage	10  Dorsal Lip
11  Yolk Plug	12  Late Gastrula	13  Neural Plate	14  Neural Folds	15  Elongation, Rotation
16  Neural Tube, Gill Plates	17  Tail Bud Adhesive Gland	18  Muscular Response Olfactory Pits	19  Heart Beat Gill Buds	
20  Gill Circulation, Tail Elongation	21  Cornea Transparent, Mouth Opens	22  Tail Fins Transparent, Fin Circulation	Operculum, Oral Disc, and Pigmentation	
23  Labia and Teeth Differentiate Operculum Covers Gill Bases	24  External Gills Atrophy Operculum Closes on Right	25  Mouthparts Obvious Spiracle Forms on Left		

H
A
T
C
H
L
I
N
G
S

L
A
R
V
A
E



M
E
T
A
M
O
R
P
H
S



Fonte: Virginia Herpetological Society, 2016

ANEXO(II)



Serviço Público Federal
Ministério da Educação
Universidade Federal da Fronteira Sul
Campus de Roraima

CR 034/CEUA/UFS/2016

Roraima/PR, 16/11/2016.

CERTIFICADO

Certificamos que o projeto intitulado "*Avaliação da toxicidade do glifosato para duas espécies de anfíbios anuros brasileiros: Physalaemus cuvieri e Leptodactylus latrans*", protocolo nº 23205.003254/2016-54, sob a responsabilidade de MARÍLIA TERESINHA HARTMANN – que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino) – encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **APROVADO** *ad referendum* no dia 07/11/2016.

Finalidade	<input type="checkbox"/> Ensino <input checked="" type="checkbox"/> Pesquisa Científica
Vigência de autorização	Início: 11/2016 Término: 31/07/2017.
Espécie/linhagem/raça	<i>Physalaemus cuvieri</i> ; <i>Leptodactylus latrans</i> .
Nº de animais	Cerca de 300 larvas de cada espécie.
Peso/Idade	Não informado. / Larvas.
Sexo	Não informado.
Origem	Coleta das desovas em lagoas temporárias, no Horto florestal de Erechim.

Atenciosamente,

Valfredo Schlemper
Vice-Coordenador da CEUA/UFS

COORDENAÇÃO DA CEUA-COMISSÃO
DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS
Universidade Federal da Fronteira Sul-UFS



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: 58004-1	Data da Emissão: 29/08/2016 11:38	Data para Revalidação*: 28/10/2017
-----------------	-----------------------------------	------------------------------------

* 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: Marília Teresinha Hartmann	CPF: 507.015.880-20
Título do Projeto: Avaliação da toxicidade da formulação comercial dos herbicidas Alazina e Glifosato em <i>Physalaemus cuvieri</i> e <i>Leptodactylus latrans</i> .	
Nome da Instituição: UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL	CNPJ: 11.234.780/0001-50

Cronograma de atividades

#	Descrição da atividade	Início (mês/ano)	Fim (mês/ano)
1	Identificação dos locais de coleta	10/2016	11/2016
2	Coleta de desovas e criação dos girinos em laboratório	10/2016	05/2017
3	Realização de testes ecotoxicológicos	11/2016	05/2017
4	Análise dos dados e escrita de relatórios e trabalhos acadêmicos	05/2017	12/2017
5	Escrita de artigos científicos e envio para revistas. Publicação de resumos em eventos científicos.	07/2017	03/2018

Observações e ressalvas

1	As atividades de campo exercidas por pessoas naturais ou jurídicas estrangeiras, em todo o território nacional, que impliquem o deslocamento de recursos humanos e materiais, sendo por objeto coletar dados, materiais, espécimes biológicos e minerais, peças integrantes de 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.
2	Esta autorização NÃO exclui 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, posseiro ou morador de área dentro dos limites de unidade de conservação federal cujo processo de regularização fundiária encontra-se em curso.
3	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 se refere a 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.
4	A autorização para envio ao exterior de material biológico não consignado deverá ser requerida por meio do endereço eletrônico www.ibama.gov.br (Serviço on-line - Licença para importação ou exportação de flora e fauna - CITES e não CITES).
5	O titular de licença ou autorização e os membros de 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 esboço de coleta ou captura que não comprometa a viabilidade de populações do grupo taxonômico de interesse em condição in situ.
6	O titular de autorização ou de licença permanente, assim como os membros de sua equipe, quando de violação da legislação vigente, ou quando de inadequação, omissão ou falta de 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.
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/gen .
8	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.

Equipe

#	Nome	Função	CPF	Doc. Identidade	Nacionalidade
1	Liana Vargas	Pesquisadora	000.907.920-54	499422456 SSP-RS	Brasileira
2	Suelen Andreass Ribas Trindade	Pesquisadora	020.756.540-46	8108677611 SJD-RS	Brasileira
3	Isabela Garrara Henri	Pesquisadora	052.453.750-36	1119024466 SSP-RS	Brasileira
4	PAULO AFONSO HARTMANN	Pesquisador	873.713.450-53	3047730977 SSP-RS	Brasileira

Locais onde as atividades de campo serão executadas

#	Município	UF	Descrição do local	Tipo
1	ERECIM	RS	Horto Florestal Municipal de Erechim	Fora de UC Federal

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) 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: 98316289



Página 1/4



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: 58004-1	Data da Emissão: 28/08/2016 11:38	Data para Revalidação*: 28/10/2017
* De acordo com o art. 28 da IN 032014, 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: Marliia Teresinha Hartmann	CPF: 507.015.880-20
Título do Projeto: Avaliação da toxicidade da formulação comercial dos herbicidas Alazina e Glifosato em <i>Physalaemus cuvieri</i> e <i>Leptodactylus latrans</i> .	
Nome da Instituição: UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL	CNPJ: 11.234.780/0001-50

Atividades X Taxons

#	Atividade	Taxons
1	Coleta/transporte de amostras biológicas in situ	<i>Physalaemus cuvieri</i> , <i>Leptodactylus latrans</i>
2	Coleta/transporte de espécimes de fauna silvestre in situ	<i>Leptodactylus latrans</i> (Ordem: Z), <i>Physalaemus cuvieri</i> (Ordem: Z)
3	Manutenção temporária (até 24 meses) de vertebrados silvestres em cativeiro	<i>Leptodactylus latrans</i> , <i>Physalaemus cuvieri</i>

* Quantidade de indivíduos por espécie, por localidade ou unidade de conservação, a serem coletados durante um ano.

Material e métodos

1	Amostras biológicas (Anfíbios)	Ovos
2	Método de captura/coleta (Anfíbios)	Captura manual

Destino do material biológico coletado

#	Nome local destino	Tipo Destino
1	UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA	coleção

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº 032014. 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: 98316289



Página 2/4



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: 68004-1	Data da Emissão: 28/08/2016 11:38	Data para Revalidação*: 28/10/2017
* 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: Marília Teresinha Hartmann	CPF: 507.015.660-20
Título do Projeto: Avaliação da toxicidade da formulação comercial dos herbicidas Atrazina e Glifosato em <i>Physalis peruviana</i> e <i>Leptodactylus letrani</i> .	
Nome da Instituição: UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL	CNPJ: 11.234.780/0001-50

* Identificar o espécime no nível taxonômico possível.

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) 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: 98316289



Página 4/4

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Engenharia Ambiental da Universidade Federal da Fronteira Sul - UFFS como requisito para obtenção do título de Bacharel em Engenharia Ambiental e Sanitária.

Acadêmica Luana Vargas

Orientadora Prof^a Dr^a Marília Teresinha Hartmann

Erechim- RS
2017