



UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS E BIOLÓGICAS



DEPARTAMENTO DE BIODIVERSIDADE, EVOLUÇÃO E MEIO AMBIENTE

PABLO EMILIANO DOS SANTOS

A LETALIDADE DAS FORMULAÇÕES DE GLIFOSATO EM ANFÍBIOS
ANUROS

OURO PRETO

2023

Pablo Emiliano Dos Santos

**A LETALIDADE DAS FORMULAÇÕES DE GLIFOSATO EM ANFÍBIOS
ANUROS**

Monografia apresentada ao Departamento de Biodiversidade, Evolução e Meio Ambiente do Instituto de Ciências Exatas e Biológicas da Universidade Federal de Ouro Preto como parte dos requisitos para obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas.

Orientadora: Prof^ª Dr^ª Maria Rita Silvério Pires

OURO PRETO

2023



FOLHA DE APROVAÇÃO

Pablo Emiliano dos Santos

A letalidade das formulações de glifosato em anfíbios anuros

Monografia apresentada ao Curso de Bacharelado em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Ouro Preto como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas

Aprovada em 31 de agosto de 2023

Membros da banca

Dra. Maria Rita Silvério Pires – Presidente da banca - Universidade Federal de Ouro Preto

Dra. Sandra Aparecida Lima de Moura - Universidade Federal de Ouro Preto

Dr. Eduardo Bearzoti - Universidade Federal de Ouro Preto

Maria Rita Silvério Pires, orientadora do trabalho, aprovou a versão final e autorizou seu depósito na Biblioteca Digital de Trabalhos de Conclusão de Curso da UFOP em 29/09/2023



Documento assinado eletronicamente por **Maria Rita Silverio Pires, PROFESSOR DE MAGISTERIO SUPERIOR**, em 30/09/2023, às 20:09, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site http://sei.ufop.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **0598360** e o código CRC **ECAD7703**.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, por nunca terem medido esforços para me proporcionar um ensino de qualidade. Aos meus irmãos, pelo companheirismo, pela cumplicidade e pelo apoio. A minha orientadora, Dr^a. Maria Rita Silvério Pires, que conduziu o trabalho com paciência, sempre disponível a compartilhar todo o seu vasto conhecimento. Agradeço também a todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização desse trabalho. Sou grato a minha amiga Marcela Amorim Gonçalves Pereira, por todo apoio e ajuda, tem um valor imensurável para mim. Também agradeço a minha amiga Aline Michele da Silva pela parceria e cooperação neste trabalho.

Por fim, agradeço a Universidade Federal de Ouro Preto (UFOP), ao Laboratório de Zoologia dos Vertebrados e ao Programa Institucional de Voluntários de Iniciação Científica (PIVIC), através da Pró-Reitoria de Pesquisa, Pós-Graduação e Inovação (PROPPI) da UFOP, por proporcionar a realização desse trabalho via iniciação científica.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	7
2. OBJETIVO GERAL	11
3. HIPÓTESES.....	12
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	13
5. RESULTADOS.....	14
6. DISCUSSÃO.....	22
7. CONCLUSÃO.....	26
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	27
9. APÊNDICE.....	31

RESUMO

Com o aumento global da produção agrícola, cresce também o uso de pesticidas utilizados nas plantações. Dentre as diversas classes dos agrotóxicos, destaca-se o uso de herbicidas com o princípio ativo glifosato em culturas transgênicas. Considerado como não-seletivo, de ação sistêmica e pós-emergente, o glifosato é o herbicida mais comercializado no mundo, perfazendo cerca de 60% do comércio global. Apesar de ser considerado um pesticida de toxicidade aguda baixa, ao glifosato é adicionado o Polioxietileno amina (POEA), um surfactante que concede um elevado potencial tóxico às formulações comercializadas. Os anfíbios anuros são o grupo de vertebrados terrestres mais ameaçado de extinção em todo o mundo e potencialmente também os animais mais afetados pelo uso dos pesticidas, devido à alta permeabilidade cutânea. Contudo, não são exigidos testes em anfíbios para liberação de agrotóxicos pelas agências reguladoras a nível internacional. Considerando o crescente uso das formulações de glifosato, desde seu primeiro registro em 1971, há diversas publicações que associam o herbicida a uma das possíveis causas do declínio populacional de anfíbios em todo o globo. Diversos estudos apontam que a exposição dos anuros a agentes tóxicos ocasiona alterações genotóxicas, anormalidades fisiológicas e morfológicas, mudanças comportamentais e também mortalidade, tanto em indivíduos adultos, quanto em estágios larvais. No presente trabalho é apresentada uma revisão de literatura abrangendo os últimos 30 anos, sobre os efeitos de diferentes formulações do glifosato em anfíbios anuros. Como resultado, foi constatado que a grande maioria dos estudos foram realizados em laboratórios utilizando estágios larvais dos anuros. Os países que possuem maiores números de estudos encontrados são Brasil, Estados Unidos da América e Argentina, porém no Brasil 11 dos 28 estudos são teses e dissertações. Como esperado, as publicações se concentram nos países com maior atividade agrícola. Hylidae reúne as espécies de Anura com menor média de LC50 (2,52 mg.L⁻¹) e *Rhinella arenarum* a espécie mais utilizada nos estudos, seguida de *Xenopus laevis*, com 10 e 9 estudos, respectivamente. Dentre as formulações utilizadas nos experimentos, *Roundup* e suas variações geracionais são as mais presentes. O surfactante POEA é o mais utilizado nas formulações e grande parte dos estudos atribui a ele o aumento da toxicidade do glifosato.

Palavras-chave: Anuros, anfíbios, glifosato, herbicida, POEA, agrotóxico.

ABSTRACT

With the global increase in agricultural production, the use of pesticides used in plantations also grows. Among the various classes of pesticides, the use of herbicides with the active ingredient glyphosate in transgenic crops stands out. Considered as non-selective, with systemic and post-emergent action, glyphosate is the most commercialized herbicide in the world, accounting for around 60% of global trade. Despite being considered a pesticide of low acute toxicity, polyoxyethylene amine (POEA) is added to glyphosate, a surfactant that gives commercial formulations a high toxic potential. Anuran amphibians are the group of terrestrial animals potentially most affected by the use of pesticides, due to the high skin permeability, in addition to being the most endangered terrestrial vertebrates in the world. However, tests on amphibians are not required for the release of pesticides by regulatory agencies at an international level. Considering the growing use of glyphosate formulations, since its first registration in 1971, there are several publications that associate the herbicide as one of the possible causes of amphibian population decline across the globe. Several studies indicate that exposure of anurans to toxic agents causes genotoxic changes, physiological and morphological abnormalities, behavioral changes and also mortality, both in adults and in larval stages. This paper presents a literature review covering the last 30 years on the effects of different glyphosate formulations on anuran amphibians. As a result, it was found that the vast majority of studies are carried out in laboratories using anuran larval stages. The countries with the highest number of studies found are Brazil, the United States of America and Argentina, but in Brazil 11 of the 28 studies are theses and dissertations. As expected, publications focus on countries with greater agricultural activity. Hylidae brings together the species of Anura with the lowest mean LC50 (2.52 mg.L⁻¹) and *Rhinella arenarum* the most used species in the studies, followed by *Xenopus laevis*, with 10 and 9 studies, respectively. Among the formulations used in the experiments, Roundup and its generational variations are the most present. The POEA surfactant is the most used in formulations and most studies attribute to it the increased toxicity of glyphosate.

Keywords: Anurans, amphibians, glyphosate, herbicide, POEA, pesticide.

1. INTRODUÇÃO

O consumo global agrícola de pesticidas cresce a cada ano (STATISTA, 2022). Dentre as diversas classes de pesticidas, destacam-se o uso de herbicidas à base de glifosato em culturas transgênicas, devido à grande eficiência na eliminação de ervas daninhas. Considerado como herbicida não-seletivo, de ação sistêmica e pós-emergente, o glifosato representa 60% do comércio mundial de herbicidas (AMARANTE JUNIOR *et al.*, 2002). Herbicidas estão presentes em todos os continentes, destacando-se a Ásia, onde a China continental lidera como país que mais os utiliza no mundo, com aproximadamente 682 mil toneladas, seguido das Américas, onde os EUA lideram com uso de 217 mil toneladas e o Brasil, em segundo lugar, com 132 mil toneladas (FAO, 2022).

O Glifosato possui toxicidade aguda considerada pouco tóxica, porém, na maioria das formulações comerciais, o princípio ativo possui a adição de um surfactante, sendo o mais comum o *polyethoxylated tallowamine* (POEA), que tem um elevado potencial tóxico a peixes e anfíbios (RELYEA, 2012). Introduzido no mercado pela Monsanto, o glifosato-isopropilamônio e glifosato-sesquisódio são comercializados em todo o mundo com o nome comercial de *Roundup*. Também há o glifosato-trimesium, patenteado pela ICI, atualmente Syngenta (AMARANTE JUNIOR *et al.*, 2002).

Nos últimos anos houve um aumento significativo nos registros de agrotóxicos utilizados no Brasil, sendo o glifosato um dos mais utilizados no país (MAPA, 2022). Na contramão de países como os da União Européia, que decidiram por suspender o uso do princípio ativo, até então o Brasil não possui restrições quanto ao uso do herbicida. Aliado ao fato de a produção agrícola nacional ser uma das maiores do mundo (FAO, 2022), o uso de pesticidas desperta uma grande preocupação com a conservação da biodiversidade, principalmente nos estados com maior atividade agrícola, como Mato Grosso, Goiás e São Paulo (IBGE, 2022).

De acordo com a Agência de Vigilância Sanitária (ANVISA), o glifosato é regulado pela Lei nº 7.802/89, que dita as diretrizes para a fiscalização, produção, armazenamento, transporte e utilização de agrotóxicos (ANVISA, 2023). O órgão responsável pela avaliação de riscos à saúde humana, já o Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA), avalia os riscos ambientais, bem como a utilização de agrotóxicos em ambientes não agrícolas. As licenças de uso

de agrotóxicos, incluindo o glifosato, são regulamentadas pela lei supracitada e pela Instrução Normativa nº 02/2008 da ANVISA, que determina os critérios para o registro, controle e reavaliação dos pesticidas no Brasil (ANVISA, 2023). O IBAMA desenvolveu um sistema de classificação quanto ao Potencial de Periculosidade Ambiental (PPA) (IBAMA, 2023), visando classificar todos agrotóxicos e seus componentes comercializados em território nacional.

A forma mais utilizada de aplicação do agrotóxico no país é por meio da pulverização (MAPA, 2022), que por sua vez pode ser por via terrestre, com o uso de tratores e equipamentos especializados, ou por via aérea, com a utilização de aviões ou helicópteros. A pulverização é a aplicação do agrotóxico na forma líquida, dispersa em gotas que são direcionadas para a área cultivada a fim de atingir o alvo desejado, porém devido à grande dispersão e ventos, pode ser carregada com facilidade, atingindo áreas e organismos não alvo (RELYEA, 2011). Após a aplicação, parte do glifosato é absorvida pela vegetação e o remanescente é absorvido pelo solo, onde é degradado por microrganismos heterotróficos (ANDRÉA *et al.*, 2003). A meia vida desse herbicida no solo pode variar de dias a meses. Agrotóxicos, em geral, são compostos biologicamente ativos e sua presença no solo pode afetar a microbiota local de forma a aumentar ou diminuir determinada população (ANDRÉA *et al.*, 2003). Além de atingir a vegetação e o solo, a pulverização pode atingir cursos d'água e, conseqüentemente, a fauna ali presente. Dentre os animais afetados, seja por pulverização direta ou contaminação de solo e água, estão os anfíbios anuros.

Os anfíbios são os vertebrados terrestres mais ameaçados de extinção em todo o mundo (STUART *et al.*, 2004). A riqueza em espécies desse grupo animal vem sofrendo grande declínio, documentado desde a década de 1980 (ALMEIDA *et al.*, 2019). No primeiro Congresso Mundial de Herpetologia em 1989, foram discutidos relatos anedóticos que estabeleceram uma preocupação com a possibilidade do declínio global dos anfíbios, em seguida um primeiro exame sistemático confirmou o declínio na população em 1990 (BARINAGA, 1990; WAKE, 1991). Devido à permeabilidade da pele, os anfíbios estão em contato e expostos a contaminações aquáticas, tanto na fase larval quanto adulta, e estão sujeitos à contaminação atmosférica e do solo, quando adultos. Assim, os agrotóxicos são potencialmente danosos em todas as fases da vida de um anfíbio. A contaminação por agrotóxicos constitui uma das hipóteses que, juntamente com a fragmentação e destruição de habitats (BLAUSTEIN *et al.*, 2013; STUART *et al.*,

2004), doenças (ALAN POUNDS *et al.*, 2006), predadores invasores, estão promovendo o declínio populacional global (COLLINS & STORFER, 2003).

Foram relatadas perturbações em comunidades de anfíbios associadas às áreas agrícolas, devido ao uso de pesticidas à base do princípio ativo glifosato (RELYEA, 2005). Diversos estudos dão suporte a esses relatos, porém estão dispersos em vários veículos de divulgação em todo o mundo. Visto que os principais órgãos reguladores do mundo, incluindo no Brasil, não solicitam testes obrigatórios em anfíbios (RELYEA, 2011), e estes são, potencialmente, um dos grupos animais mais suscetíveis à contaminação por agrotóxicos, faz-se necessário elucidar as questões envolvendo o herbicida mais vendido no mundo e sua relação com o declínio populacional dos anfíbios.

1.1. A origem e difusão do Glifosato

Fundada em 1901 pelo farmacêutico John Francis Queeny, em St. Louis, MO, EUA, a Monsanto Corporation começou a produzir e comercializar o glifosato químico, após descobrirem sua eficácia na eliminação de plantas, em 1974. A empresa, hoje pertencente à Bayer, popularizou o uso do glifosato em herbicidas ao lançar a linha de sementes geneticamente modificadas, ou transgênicas, *Roundup*, que são resistentes ao glifosato (RELYEA, 2011). Atualmente, esse princípio ativo de herbicidas está entre os mais comercializados no mundo (STATISTA, 2022). Devido à sua alta eficácia na eliminação de ervas daninhas, o princípio ativo se tornou o mais utilizado em culturas de milho, soja, cana-de-açúcar, café, coca, pastagens, monocotiledôneas ou dicotiledôneas, dentre outros (FIT, 2018). Podendo ser aplicado até mesmo na água para eliminar ervas aquáticas (AMARANTE JÚNIOR *et al.*, 2002). O glifosato é comercializado em diversas formulações, tais como, Roundup Original, Rodeo, Roundup UltraMax, Roundup Transorb, e diversas outras difundidas em todo o mundo.

Testes obrigatórios para regulamentação do uso de pesticidas requeridos pela *US Environmental Protection Agency* (EPA) e, no Brasil, pelo IBAMA, são realizados em peixes, mamíferos, aves e pequenos crustáceos (RELYEA, 2011). O principal teste utilizado para mensurar a toxicidade aguda de um produto químico, de acordo com o guia da OECD (*organization of economic cooperation and development*), é o LC50 “*Lethal concentration*”. O valor de LC50 de um produto consiste no valor relativo à concentração ou série de concentrações de um determinado produto químico, que

elimina 50% dos animais testados em um experimento com período de tempo determinado.

1.2. Quanto à ação do Glifosato

O glifosato é um herbicida de amplo espectro, pós emergente, sistêmico e não seletivo. Ele atua inibindo a enzima 5-enolpiruvilshikimate-3-fosfato sintase (EPSPs). Essa inibição ocorre na rota de síntese de aminoácidos aromáticos essenciais precursores de produtos como lignina, alcalóides, flavonóides e ácidos benzóicos (AMARANTE JÚNIOR *et al.*, 2002). O princípio ativo é um organofosfato, porém ele não afeta o sistema nervoso da mesma maneira como relatado geralmente em inseticidas organofosforados. A eficiência do herbicida é atestada em diversos tipos de cultivo, onde, geralmente, é pulverizado e absorvido pelas plantas através de folhas e de novos caulículos. Dessa forma, o glifosato é transportado pelo organismo e atinge sistemas enzimáticos, inibindo a sínteses de aminoácidos, levando assim a morte do vegetal (AMARANTE JÚNIOR *et al.*, 2002). Apesar de ser considerado pouco tóxico para organismos não alvo, há relatos de efeitos deletérios do herbicida em populações de anfíbios em todo o mundo (RELYEA, 2011).

A maior parte dos herbicidas não possui capacidade de penetração nos tecidos das plantas, devido a uma cutícula, que reveste os vegetais. Para vencer essa camada protetora, os fabricantes utilizam formulações contendo um surfactante. Esse produto químico tem fácil dissolução em água, sendo capaz de cortar cera e graxa, que compõem as cutículas das plantas (RELYEA, 2011). Nas formulações de *Roundup*, o surfactante mais utilizado é a Polioxietileno aminas etoxiladas, do inglês *polyethoxylated tallowamine* (POEA). Derivado de gordura animal, a POEA é muito eficaz, tornando o herbicida ainda mais letal. Estudos recentes relacionam o surfactante à elevada toxicidade em organismos não alvo, principalmente os anfíbios.

1.3. A relação do Glifosato com os anfíbios

Embora os efeitos do glifosato em anfíbios não estejam muito bem estabelecidos, diversos estudos apontam que a exposição dos anuros a estes agentes tóxicos ocasiona alterações genotóxicas, anormalidades fisiológicas e morfológicas, mudanças comportamentais e também mortalidade, tanto em indivíduos adultos, quanto em estágios larvais (D'AVILA *et al.*, 2020). Devido à não obrigatoriedade de estudos dos efeitos do glifosato em anfíbios pela EPA, IBAMA e muitas outras entidades, somente

na década de 1990, quase 20 anos depois da comercialização do herbicida, foi realizado o primeiro estudo em anfíbios. Em 1995, na Austrália, foi publicado um estudo denominado de “*Acute toxicity of a herbicide to selected frog species*” dos autores Joseph R. Bidwell e John R. Gorrie, após diversos relatos anedóticos de mortes de sapos no lago *Kununurra*, Austrália Ocidental. Um ano antes, havia sido pulverizada uma formulação de herbicida à base de glifosato para controle de ervas daninhas aquáticas no corpo d’água. Então, os autores realizaram testes com o princípio ativo e também a formulação comercial *Roundup 360*, que continha o surfactante POEA. Foi constatado que o herbicida era tóxico para anfíbios (girinos e adultos) e que a formulação comercial era ainda mais tóxica do que o princípio ativo isolado. Essa maior toxicidade foi atribuída ao surfactante (BIDWELL J.R & GORRIE J.R., 1995). Desde então, diversos estudos foram realizados em todo o mundo, utilizando diferentes espécies de anfíbios e formulações do herbicida glifosato, estabelecendo perguntas pertinentes na relação do uso constante e crescente do glifosato e o quanto isso impacta no declínio global da anurofauna.

2. OBJETIVO GERAL

Sendo o Brasil o terceiro maior consumidor de pesticidas com princípio ativo glifosato e o país com a maior riqueza de espécies de anfíbios anuros, o objetivo geral deste trabalho foi analisar as informações da literatura sobre os efeitos da contaminação ambiental causada por esse pesticida para esses animais e comparar o conhecimento acumulado para a realidade brasileira em relação aos outros países.

3. HIPÓTESES

1. Os países que mais utilizam o glifosato são também os países que mais produzem pesquisas relacionadas aos efeitos desse pesticida sobre os anuros. Devido à amplitude dos efeitos do pesticida sobre espécies não alvo, é esperado que os países que mais consomem esse pesticida desenvolvam mais pesquisas envolvendo os mais diversos grupos zoológicos afetados, entre eles os anuros.
2. No Brasil, as pesquisas se concentram nas regiões com maior produção agrícola.
3. Mesmo afetando a fase larval e adulta dos anfíbios anuros, as pesquisas sobre os efeitos do glifosato são dirigidas à fase larval, devido à maior dependência do ambiente aquático nessa fase.
4. A maior parte dos experimentos são realizados em laboratórios e não no campo, onde o herbicida é aplicado, devido à dificuldade de controle de variáveis.
5. Os efeitos do glifosato sobre os anfíbios anuros variam nas diferentes formulações comerciais do produto.
6. Dentre as espécies testadas, as mais sensíveis ao glifosato correspondem àquelas com maior dependência do ambiente aquático também na fase adulta, devido à solubilidade do produto e a alta permeabilidade da pele dos anuros.
7. Embora o uso de pesticidas seja frequentemente considerado como uma das causas extinções locais ou declínios populacionais de anfíbios anuros, não é possível atribuir causalidade direta entre o declínio e o uso do pesticida, uma vez que há uma enorme carência de dados históricos quanto à riqueza da anurofauna.

4. MATERIAL E MÉTODOS

As buscas por artigos ocorreram por meio das bases de dados multidisciplinares internacionais, Web of Science, Google Scholar, Pubmed e Scielo. Uma combinação de palavras-chave em inglês e em português, “anfíbios, anuros, pesticidas, glifosato, declínio” foi utilizada para pesquisa. Foram utilizadas somente as publicações que analisavam as relações entre o uso do pesticida e seu efeito sobre espécies de anfíbios anuros.

Realizou-se uma revisão sistemática de cada estudo, com base em uma lista de variáveis que eram esperadas encontrar em cada artigo, tais como: os valores de LC50; espécies de anuros utilizadas nos experimentos; estágio de desenvolvimento dos anuros estudados, duração do experimento; o tipo do experimento, se campo ou laboratório; nome e concentração da formulação do herbicida utilizado; nome do surfactante. Uma base de dados com todos os artigos encontrados foi estabelecida.

A partir das análises foram compiladas as variáveis: ano de publicação dos artigos; nome dos autores; países de publicação; no caso do Brasil, o estado da federação; o tipo do agrotóxico usado no experimento; nome científico e popular dos agrotóxicos; princípio ativo e surfactante do pesticida; concentrações utilizadas no experimento, consequências fisiológicas para os anfíbios; valores de toxicidade aguda (LC50); taxa de mortalidade; associações com extinção local; tempo do experimento; espécie de anuro anfíbio estudada, estágio larval, adulto ou jovem adulto; e especificação de artigo ou tese. Todas as informações qualitativas e quantitativas significativas para o estudo foram digitadas em uma tabela de Excel. Novas abas foram sendo criadas para cada análise de tema de interesse, pela elaboração de gráficos e o uso de estatística descritiva. Nesta revisão sistemática, optou-se por não utilizar modelos quantitativos inferenciais de meta-análise, devido à grande heterogeneidade em relação à natureza da informação.

3. RESULTADOS

Foram encontrados um total de 287 estudos pertinentes ao tema. O banco de dados *Google Scholar* detém o maior acervo com 230 trabalhos encontrados, em comparação à *Web of Science*, *Scielo* e *PUBMED*. Artigos e teses que fugiam ao tema, eram duplicatas ou não tinham o acesso ao conteúdo na íntegra foram excluídos da análise final (Tabela 1).

Tabela 1: Relação dos números de artigos encontrados nos respectivos bancos de dados,

Palavras Chave	Banco de Dados	Data da Pesquisa	Total encontrado	Duplicatas	Excluídos	Incluídos
anfíbios anuros glifosato declínio	Web of Science	27/05/22	5	0	1	4
anfíbios anuros glifosato	Scielo	27/05/22	2	0	1	1
anfíbios anuros glifosato	Google Scholar	27/05/22	112	14	66	32
glyphosate anurans amphibians	Google Scholar	06/08/22	118	8	31	79
glyphosate anurans amphibians	PUBMED	23/01/23	50	30	13	7
TOTAL			287	52	112	123

artigos acessados em duplicata, excluídos e incluídos na pesquisa.

Quanto à hipótese 1, os resultados indicam que, assim como esperado, os países com maior número de estudos sobre os efeitos do glifosato sobre os anuros, foram aqueles que estão entre os maiores consumidores de herbicidas no mundo (FAO, 2022). O Brasil possui a maioria de estudos relevantes ao tema, seguido por Estados Unidos da América e Argentina (Figura 1). É importante ressaltar que, 11 dos 28 estudos brasileiros são teses e dissertações, enquanto que 17 são artigos publicados em revistas indexadas internacionalmente. Os EUA apresentam 25 estudos encontrados, e 24 deles são artigos,

apresentando apenas uma dissertação. Já a Argentina possui 24 estudos encontrados, sendo três deles dissertações.

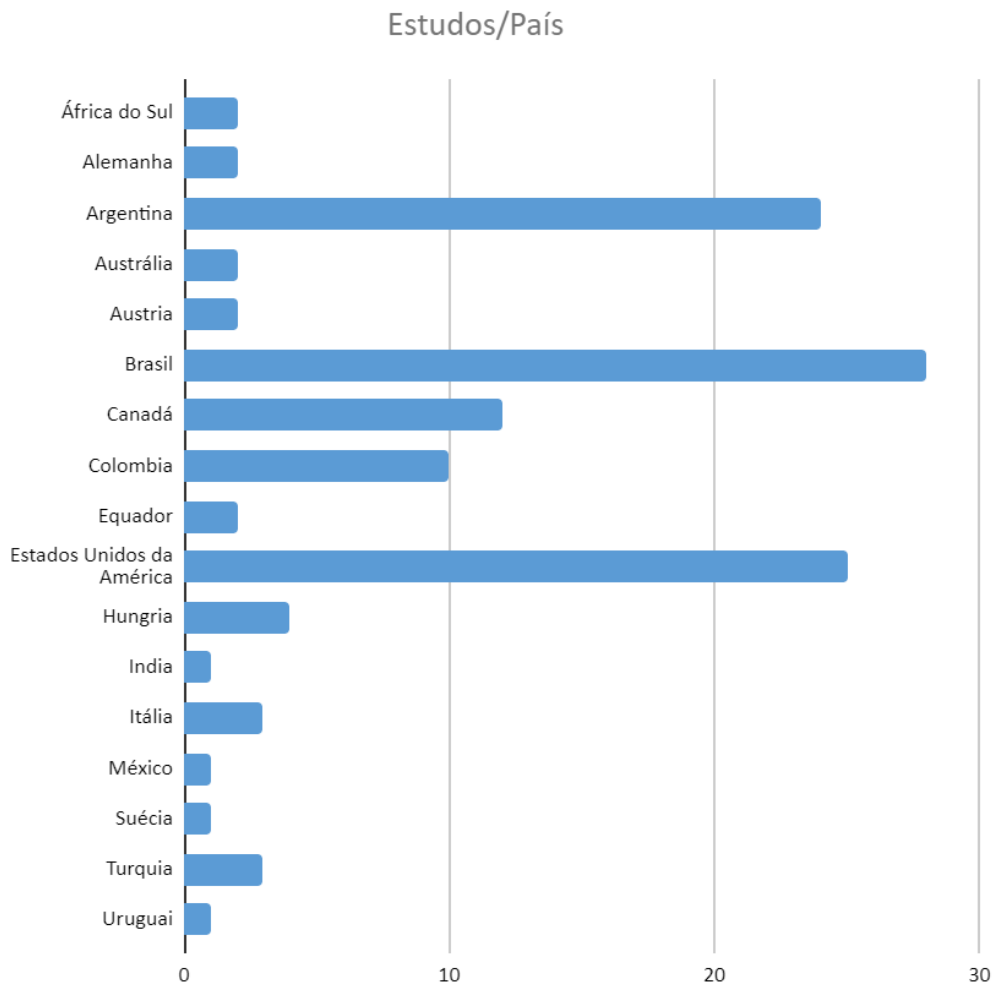


Figura 1 - Distribuição dos países de origem quanto ao número de estudos encontrados.

No Brasil, as regiões sul, sudeste e centro-oeste são aquelas onde se observa maior atividade agrícola (IBGE, 2022) e é justamente nessas regiões que se concentram os estudos, como era esperado de acordo com a hipótese 2. Diferente do Brasil e EUA, a Argentina é um caso à parte, uma vez que o país não figura entre os 10 com maiores áreas destinadas à agricultura nos últimos 30 anos (FAO, 2022).

Conforme a hipótese 3, na maior parte dos estudos, foram testados anuros em estágio larval. O uso dos anuros em estágios iniciais de desenvolvimento, quando os organismos são aquáticos e mantidos em aquários sob condições controláveis, foi observado em

72% dos estudos. Experimentos com anuros adultos foram empregados em 12% dos estudos, enquanto que 7,6% dos estudos usaram anuros em ambas as fases da vida (Figura 2A).

De acordo com a hipótese 4, a maior parte dos experimentos foram realizados em condições de laboratório, com 69,9%. Estudos em campo perfizeram um total de 6.5% dos estudos. Houve também uma parcela correspondente a 7,3% dos estudos em que foi simulado um mesocosmo e ainda uma pequena parcela de estudos desenvolvidos tanto em campo quanto em laboratório (Figura 2B).

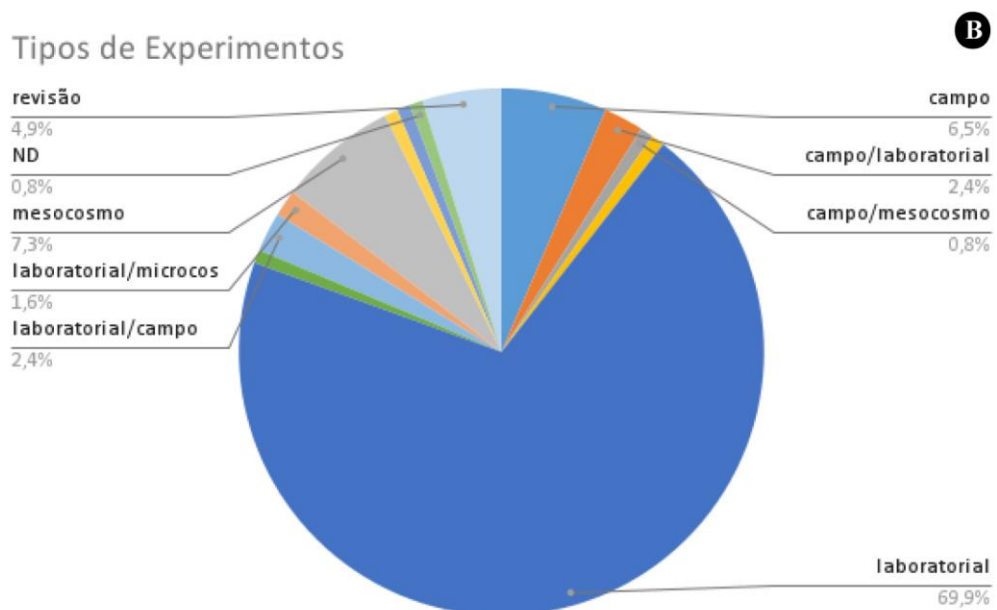
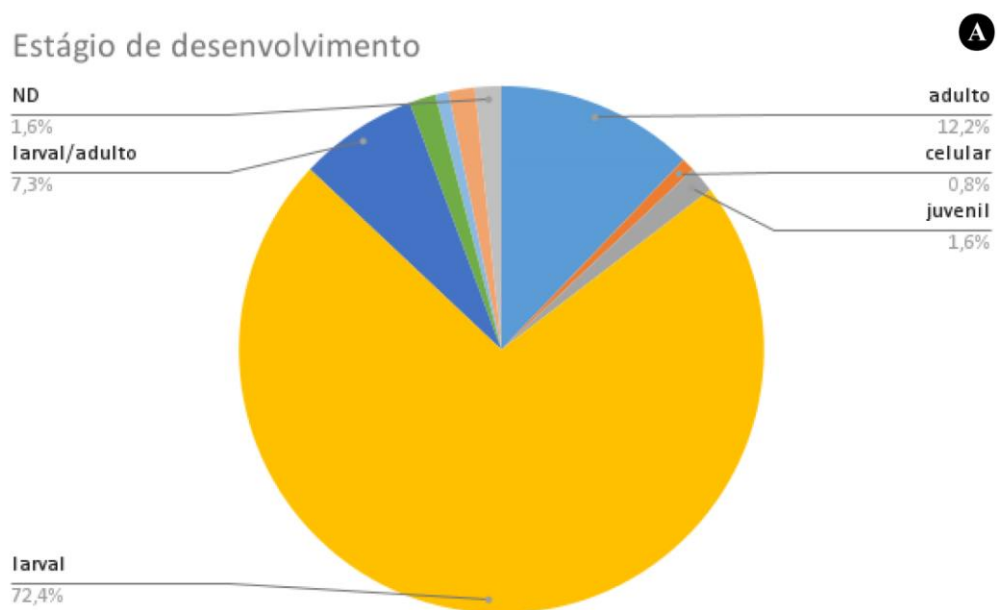


Figura 2. A-B. A. Estágio de desenvolvimento dos anuros utilizados nos experimentos, e B. tipos dos experimentos empregados nos estudos.

Para analisar a hipótese 5, de que os efeitos do glifosato sobre os anfíbios anuros variam nas diferentes formulações comerciais do produto, é necessário antes analisar tanto a diversidade de formulações existentes, quanto a substância usada como surfactante, já que essa substância potencializa toxicidade do glifosato. Dentre todas as formulações do herbicida usadas nos estudos, as descritas somente como “Roundup” formam a maioria, com 18,9% das usadas nos experimentos. Em seguida, temos as formulações denominadas “*Roundup Original*”, com algumas variantes geracionais, como a “*Original DI*” e “*Original Max*”, somando 15,6% das marcas utilizadas nos experimentos avaliados. A formulação *Roundup WeatherMax* também aparece com uma relevante participação nos experimentos, um total de 10,7%. Muitos estudos utilizam o princípio ativo isolado para realizar os experimentos ou para estabelecer parâmetros de comparação entre as formulações comerciais. Foi observado que, dentre as formulações encontradas, as pertencentes à família *Roundup*, como *Roundup Original DI*, *Roundup WeatherMax*, *Roundup Regular*, *Roundup Ultramax*, *Roundup Transorb*, *Roundup Active*, entre outros, possuem o surfactante POEA (Tabela 2).

Tabela 2: Formulações comerciais de glifosato utilizadas nos experimentos encontrados.

Formulações	Número de estudos	Presença do POEA
Roundup	23	presente
Roundup Activo/Active	5	presente
Roundup original	10	presente
Roundup original DI	3	presente
Roundup Original Max	6	ausente
Glifosato 480 Agripec	1	ausente
Roundup UltraMax	11	presente
Roundup Transorb	3	presente
Glyphos	3	presente
Glyphosate	7	ausente

Formulações	Número de estudos	Presença do POEA
Glyphosate Pestanal	2	ausente
Velfosato Velsimex	1	ausente
Roundup "Weed and Grass Killer"	4	presente
Roundup WeatherMAX	13	presente
Touchdown	3	ausente
Roundup Biactive	2	ausente
Glifoglex	2	ausente
CK Yuyos FAV	1	ausente
Roundup Regular	1	presente
Roundup star	2	presente
GBH Mifos	1	ausente
Roundup SL	1	ausente
Roundup PowerFlex	1	ausente
Roundup Power 2.0	2	ausente
NUFARM	1	ausente
Credit LV	3	ausente
Glifosato Atanor 48	1	ausente
Roundup LB plus	1	ausente
Glyphogan Classic	3	presente
Enviro Glyphosate	2	ausente
Kilo Max	2	ausente
Rodeo	1	presente

Dentre os surfactantes utilizados, POEA tem ampla dominância (Tabela 3). Uma vez que a toxicidade do herbicida é, muitas vezes, atribuída ao POEA (MIKÓ *et al.*, 2023), é preocupante que seja amplamente utilizado em diversas formulações comerciais do produto. Vale ressaltar que, possivelmente, devido ao segredo industrial das formulações, muitos surfactantes não são descritos nos rótulos dos produtos. Outro adjuvante relevante nos experimentos é o *Cosmo-Flux 411F*. Esse produto aparece como adição ao herbicida de forma isolada ou mesmo junto ao surfactante POEA (HENA O MUÑOZ *et al.*, 2015).

Tabela 3: Surfactantes descritos nas formulações comerciais de glifosato e número de artigos em que cada surfactante é utilizado.

Surfactantes	Número de artigos
POEA	47
cosmo-flux	8
Alquilpolissacarídeo	1
éter amina etoxilato	2
polyethylene alkylamine	1
alkylpolysaccharide	1
Agri-dex	1
Competitor	1

A hipótese 6, levanta a possibilidade de correlação entre o aumento da letalidade do glifosato entre espécies com maior dependência do ambiente aquático. Embora a maior parte dos estudos tenham sido realizados em anuros nos estágios iniciais de desenvolvimento (Figura 2A), pode ter havido essa motivação na escolha das espécies alvo. Foram analisadas um total de 99 espécies de anuros nos trabalhos encontrados. As espécies estudadas são, em sua maioria, relacionadas a ambientes aquáticos, como charcos, áreas alagadas, regiões costeiras ou similares (AMPHIBIAWEB, 2023). *Rhinella arenarum* foi a mais estudada, seguida de *Xenopus laevis* (Tabela 4). Essas duas espécies ocorrem no Brasil (IUCN, 2004), sendo a *X. laevis* reconhecidamente uma espécie invasora, presente também nos EUA. *R. arenarum* também é encontrada em diferentes países da América do Sul, como Argentina, Bolívia, Brasil e Uruguai (IUCN, 2004).

Tabela 4: Espécies de anuros mais utilizadas em estudos sobre os efeitos do glifosato.

Espécies	Família	Número de estudos
<i>Rhinella arenarum</i>	Bufonidae	10
<i>Xenopus laevis</i>	Pipidae	9
<i>Rhinella marina</i>	Bufonidae	6
<i>Boana crepitans</i>	Hylidae	6
<i>Rana catesbeiana</i>	Ranidae	6
<i>Physalaemus cuvieri</i>	Leptodactylidae	6
<i>Rana sylvatica</i>	Ranidae	5
<i>Bufo americanus</i>	Bufonidae	4
<i>Limnodynastes dorsalis</i>	Myobatrachidae	4

O período de tempo de teste variou grandemente entre os estudos analisados, porém, o mais comum nos experimentos, foi de 96 horas. Assim, foi avaliada a LC50 média de cada família presente nos testes realizados por 96 horas (Tabela 5). Para as espécies da família Hylidae, foi encontrada a menor média de LC50 em 96 horas dentre as espécies analisadas, com um valor de 2,52 mg.L⁻¹. Porém, Ranidae aparece com a menor mínima, 0,08 mg.L⁻¹, indicando que a família inclui espécies muito sensíveis ao glifosato. Essas duas famílias apresentam distribuição global e habitam uma ampla gama de habitats, sendo que a família Hylidae é extremamente rica em espécies no Brasil (AMPHIBIAWEB. 2023). Por outro lado, Ranidae apresenta maior riqueza em espécies na América do Norte, Ásia, Europa, e norte da América do Sul (AMPHIBIAWEB. 2023), como os EUA têm grande número de publicações, também era esperado um elevado número de publicações envolvendo espécies desta família entre os experimentos de 96 horas.

Rana sylvatica foi a espécie com menor LC50 dentre as estudadas (0,08 mg.L⁻¹), assim, embora apresente adultos predominantemente terrestres, essa espécie é possivelmente a mais suscetível ao glifosato e seus surfactantes (Apêndice A). É importante ressaltar que há uma grande variação do LC50 dentre as espécies dessa família.

Tabela 5: Valores de LC50 em mg.L⁻¹ em 96 horas obtidos em testes com anuros, reunidos por famílias.

Família	Mínima	Máxima	Média	Frequência
Ranidae	0,08	27,4	3,76	44
Bufoinae	0,75	78,18	16,03	24
Hylidae	0,8	7,3	2,52	20
Leptodactylidae	1,006	115,15	19,14	15
Myobatrachidae	2,54	6,3	4,14	9
Pipidae	0,67	35,1	16,61	3

Quanto à hipótese 7, embora o uso de pesticidas seja frequentemente considerado como uma das causas de extinções locais ou declínios populacionais de anfíbios anuros (BLAUSTEIN, *et al.*, 2013), não é possível atribuir causalidade direta entre o declínio e o uso do pesticida, por meio de experimentos laboratoriais. Para que se possa estabelecer relação causal direta com a perda de riqueza da anurofauna, seriam necessários dados históricos quanto à ocorrência de espécies antes e depois da contaminação. Nesse sentido, dentre as publicações analisadas, foram encontradas somente duas que relacionassem diretamente as extinções locais de anuros e o uso de glifosato. *Scinax ruber* e *Rhinella marina* não foram mais avistadas em seus locais de reprodução na Amazônia central, no Brasil, onde eram abundantes em 2016, antes da aplicação do herbicida Roundup a 250 metros desses locais (FERRANTE & FEARNside, 2020). É também relacionada a diminuição de riqueza local das espécies *Physalaemus spp.* e *Dendropsophus spp.* e o uso de pesticidas, incluindo herbicidas à base de glifosato em agrossistemas na província de Entre Rios, centro-oeste da Argentina (SUAREZ *et al.*, 2021). Nesse caso, foram encontrados traços de pesticidas em amostras de água e sedimentos, dessa forma, foi atribuída a perda de diversidade local à contaminação dos pesticidas aliados à remoção das florestas.

4. DISCUSSÃO

O Brasil foi o país com o maior número de estudos relativos aos efeitos do glifosato sobre os anuros, seguido por EUA e Argentina. Entretanto, quase um terço dos estudos brasileiros são teses e dissertações e não artigos publicados em revistas indexadas. Assim, o país carece de publicações relacionando os efeitos deletérios do glifosato sobre as populações locais de anuros, visto que o país figura entre os maiores consumidores de herbicidas, com ênfase no glifosato, do mundo (FAO, 2022). Vale ressaltar, de forma positiva, o amplo acesso às dissertações brasileiras disponíveis *online* e de fácil localização via bancos de dados supracitados. A mesma correlação não foi possível de ser observada nos demais países, salvo Argentina, Colômbia, México, Uruguai e Estados Unidos da América.

A maior parte dos estudos utiliza para os testes de toxicidade a fase larval dos anuros. Durante os estágios iniciais de desenvolvimento, o anuro depende do ambiente aquático, tornando-o mais suscetível à contaminação pelo glifosato. Diferentemente do ambiente terrestre, onde a degradação desse composto é facilitada pelos microrganismos, na água requer um período mais prolongado para essa quebra química (AMARANTE JÚNIOR *et al.*, 2002).

O glifosato está presente em quase todos os continentes do mundo (STATISTA, 2022). Comercializado sob diversas formulações, o herbicida se popularizou e, inclusive, já foi considerado ecologicamente correto (RELYEA, 2011). É possível afirmar que esse herbicida é tóxico para organismos não alvo, especialmente os anfíbios. Comumente associado à marca *Roundup*, que atualmente pertence a Bayer, o glifosato é comercializado em diversos países, em destaque Brasil e os Estados Unidos da América, devido a forte produção agrícola. Sua ampla distribuição e sua já comprovada toxicidade para os anfíbios fazem deste herbicida um potencial risco à biodiversidade da anurofauna global.

Collins & Storfer (2003) atribuem seis possíveis causas para o declínio mundial de anuros, divididas em duas classes. Na primeira, os autores colocam como hipóteses as espécies invasoras, a exploração excessiva e a mudança no uso de terras, que incluem o desmatamento, uma vez que abre espaço para a agricultura e, por consequência, a destruição dos habitats naturais. Na classe II, os autores citam as mudanças climáticas,

doenças infecciosas emergentes e, por fim, contaminantes ambientais, entre eles os agrotóxicos. Há uma ampla gama de estudos disponíveis sobre a toxicidade do herbicida glifosato para anfíbios. O tema tem sido colocado em pauta por diversos autores ao redor do mundo, especialmente na Argentina e EUA. O Brasil figura como um caso curioso, pois embora haja muitos estudos, a grande parte deles não se tornaram publicações de alcance internacional, ou seja, artigos científicos. A falta de visibilidade do tema em âmbito nacional é um fator de extrema preocupação, visto que o Brasil abriga uma considerável riqueza de espécies de anuros (AMPHIBIAWEB, 2023) e possui uma relevante parte do território nacional destinado à agricultura (IBGE, 2023).

O POEA é um surfactante de origem animal predominantemente utilizado como adjuvante em diversas formulações comerciais de glifosato, tais como *Roundup Original*, *Roundup WeatherMax*, *Glyphogan Classic*, entre outros. Diversos estudos apontam o POEA como responsável pela maior parte da toxicidade dessas formulações (MIKÓ & HETTYEY, 2023; HOWE *et al.*, 2004; RELYEA & JONES, 2009 ; MOORE *et al.*, 2012). Em estudos de 96 horas, diferentes formulações de glifosato mataram as larvas de anfíbios com concentrações que começam em 0,08 mg.L⁻¹. Atribuído a boa parte das formulações do herbicida, o surfactante mais utilizado tem se mostrado altamente tóxico para os anfíbios anuros, independente da espécie. Mann *et al.* (2003) afirmam que o surfactante aumenta a toxicidade do herbicida, já MIKÓ *et al.* (2023) reforçam que o surfactante é o principal agente tóxico para larvas de *R. dalmatina* e *B. bufo* testados, e também demonstram que o POEA potencializa os efeitos deletérios do ingrediente ativo.

A meia vida do glifosato nas formulações pode variar de dia a meses, dependendo das condições ambientais as quais o produto é exposto, enquanto que o POEA varia de 1 a 2 semanas (GIESY *et al.*, 2000). Em teste foi constatado que larvas de *H. versicolor*, *B. americanus* e *R. pipiens* foram quase completamente exterminadas (98%) após 3 semanas de tratamento com *Roundup*, independente da presença ou não de solo nos mesocosmos (Relyea 2005). Além disso, em experimentos de aplicação direta do produto em jovens anuros pós-metamorfizados, o resultado foi a morte de 79% dos indivíduos em apenas um dia de teste (Relyea 2005).

Independente das formulações, é bem conhecida a toxicidade do surfactante POEA e seus riscos para organismos não alvo, quando o mesmo é combinado com o glifosato.

Diversos estudos apontam para o surfactante como o maior responsável pela toxicidade para anuros (MIKÓ & HETTYEY, 2023; HOWE *et al.*, 2004; RELYEA & JONES, 2009 ; MOORE *et al.*, 2012), ainda assim o POEA é encontrado em grande parte das formulações da família *Roundup*. A toxicidade do glifosato + POEA para a fauna aquática é bem conhecida e pode ser aplicada, em muitos casos, aos anuros, porém não há legislação específica para esse grupo animal nos países de maior concentração dos estudos, como Brasil e EUA (RELYEA, 2011; IBAMA, 2023; OECD, 2019). A falta de obrigatoriedade de testes em anfíbios por parte de órgãos reguladores de uso e distribuição de pesticidas é preocupante (RELYEA, 2011; IBAMA, 2023; OECD, 2019). No Brasil, por intermédio do sistema PPA, o IBAMA adota um parâmetro similar ao utilizado nos EUA, testando peixes, aves, pequenos mamíferos, insetos e microcrustáceos (IBAMA, 2023), ou seja, anfíbios não são testados. Por outro lado, a União Europeia restringiu o uso do glifosato em sistemas agrícolas e pretende proibir completamente o pesticida a partir de dezembro de 2023 (EFSA, 2023).

Dois estudos realizados na Alemanha tratam da toxicidade das formulações *Roundup Original*, *Roundup UltraMax* em larvas de *X. laevis*, *D. pictus* e *R. temporaria*, respectivamente, ressaltando o poder letal do herbicida para os estágios larvais desses organismos (WAGNER *et al.*, 2017; BRÜHL *et al.*, 2013). Também no Brasil, Almeida *et al.* (2019) concluíram que a formulação comercial contendo o princípio ativo glifosato e o surfactante POEA é potencialmente letal para girinos de *P. cuvieri* e *R. schneideri*, além de causar efeitos subletais danosos aos sobreviventes. Ao se analisar o surfactante de forma isolada, os mesmos autores encontraram valores de LC50 superiores àqueles limites estabelecidos pela ANVISA. Sendo assim, é urgente a adequação da legislação vigente no país, uma vez que o declínio populacional dos anfíbios pode ser irreversível.

Os órgãos reguladores presumem que os testes de LC50 do glifosato em peixes pode ser aplicado aos girinos (RELYEA, 2011). A presunção é de que a sensibilidade ao produto químico seja semelhante entre os peixes e a fase aquática do anfíbio, porém, como observado no presente estudo, a LC50 média em 96 horas variou grandemente entre as famílias de anuros. Independentemente da formulação utilizada no estudo, o princípio ativo glifosato juntamente com o surfactante POEA, na grande maioria dos casos, possui toxicidade aguda em diferentes graus para as diferentes espécies. Mesmo entre espécies da mesma família é possível notar diferentes sensibilidades ao herbicida, como no caso de *R. pipiens* (1.80 mg.L⁻¹) e *R. clamitans* (4.22 mg.L⁻¹) (MOORE *et al.*, 2012). Para os

estágios de vida terrestre dos anfíbios, presume-se que as aves são o grupo semelhante, baseado em estudos de ingestão (RELYEA, 2011). Não foi possível determinar uma LC50 para anuros adultos por falta de dados na literatura, fazendo-se necessárias mais investigações nesse sentido.

Os anfíbios podem ser especialmente suscetíveis aos agrotóxicos por diversas razões, visto que seus ciclos de vida (aquático e terrestre) potencialmente os expõem à contaminação. Para minimizar as perdas por evaporação, os anuros terrestres absorvem água principalmente através da pele hipervascularizada na região pélvica ventral (LAJMANOVICH *et al.*, 2015), tornando-os, possivelmente, mais vulneráveis ao glifosato, mesmo na fase adulta. Em países como o Brasil, onde grande parte do seu território é destinado à agricultura (IBGE, 2023), é provável que esses ambientes sejam habitados ou rotas de migração de anuros. Assim, é grande a probabilidade de que sejam expostos à contaminação por pesticidas, porém os dados sobre os efeitos desse tipo de contaminação são escassos. Logo, identifica-se a necessidade de novas pesquisas voltadas à contaminação terrestre dos anfíbios por agrotóxicos, em especial o glifosato.

5. CONCLUSÃO

Conclui-se que a toxicidade dos herbicidas que utilizam o princípio ativo glifosato é significativamente relevante para anfíbios anuros, especialmente aqueles herbicidas que contém o surfactante POEA. Independentemente da formulação, os valores de LC50 testados em girinos demonstram que os anfíbios são particularmente sensíveis ao glifosato, assim, são necessárias mais pesquisas voltadas aos anuros adultos para uma compreensão mais abrangente. Foram descritas informações valiosas quanto à toxicidade do glifosato e o surfactante POEA sobre a comunidade de anfíbios anuros, fazendo-se necessário rever a falta de obrigatoriedade dos testes em anfíbios para a regulamentação do agrotóxico, uma vez que testes realizados com peixes e aves podem não ser representativos para a sensibilidade dos anfíbios às formulações. Há uma ampla variação nos valores de LC50 máximos e mínimos dentro de cada família de anfíbios, indicando a possibilidade de maior letalidade do que aqui constatado. Todos os estudos demonstram a elevada letalidade do glifosato e seu surfactante para os anfíbios anuros e nenhum estudo revisado associa diretamente o glifosato ao declínio dos anuros.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALAN POUNDS, J. et al. Widespread amphibian extinctions from epidemic disease driven by global warming. *Nature*, v. 439, n. 7073, p. 161-167, 2006.
2. ALMEIDA, P. R. Rodrigues, M.V. Imperador, A. M. Toxicidade aguda (LC50) e efeitos comportamentais e morfológicos do formulado comercial com princípio ativo glifosato em girinos de *Physalaemus cuvieri* (anura, Leptodactylidae) e *Rhinella icterica* (anura, Bufonidae). *Eng Sanit Ambient.* v.24, n.6, p.1115-1125, 2019.
3. AMARANTE JUNIOR, Ozelito P. Santos, T. C. R. Brito, N. M. Ribeiro, M. L. Glifosato: propriedades, toxicidade, usos e legislação. *Quimica nova*, v. 25, n. 4, p. 589-593, 2002.
4. AMPHIBIAWEB. 2023. amphibiaweb.org. Universidade da Califórnia, Berkeley, CA, EUA. Acesso em julho de 2023.
5. ANDRÉA, M. M.; Peres, t. b.; Luchini, l. c.; Bazzarin, s.; Papini, s.; Matallo, m. b.; Savoy, v. l. t. Influence of repeated applications of glyphosate in its persistence and soil bioactivity. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v.38, n.11, p.1329-1335, 2003.
6. ANVISA, 2023. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa. Registro de Agrotóxicos. Disponível: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/acessoainformacao/perguntasfrequentes/agrotoxicos/registro-de-agrotoxicos#:~:text=Os%20agrot%C3%B3xicos%2C%20componentes%20e%20afins,identificadas%20ou%20quando%20constatada%20fraude>. acesso em março 2023.
7. BARINAGA, Marcia. Where Have All the Froggies Gone? It has taken a decade, but herpetologists are hopping up and down about declining amphibian populations. *Science*, v. 247, n. 4946, p. 1033-1034, 1990.
8. BIDWELL J.R & GORRIE J.R. Acute toxicity of a herbicide to selected frog species. Department of Environmental Protection. Technical Series 79, Perth, Austrália, 1995.
9. BLAUSTEIN, Andrew R. et al. The complexity of amphibian population declines: understanding the role of cofactors in driving amphibian losses. *Annals of the New York Academy of Sciences*, v. 1223, n. 1, p. 108-119, 2011.

10. BRÜHL, Carsten A. et al. Terrestrial pesticide exposure of amphibians: an underestimated cause of global decline?. *Scientific reports*, v. 3, n. 1, p. 1135, 2013.
11. COLLINS, J. P. STORFER, A. Global amphibian declines: sorting the hypotheses. *Diversity and Distributions*, n. 9, p. 89-98, 2003.
12. D'AVILA, R. dos S.; BRUM, BR; HURTADO, TC; IGNÁCIO, Áurea RA. Análise quantitativa temporal dos efeitos do uso agrícola em anfíbios – anuros. *Pesquisa, Sociedade e Desenvolvimento*, [S. l.] , v. 9, n. 8, pág. e383985682, 2020.
13. EFSA. 2023. European Food Safety Authority. Glyphosate. Disponível em: <https://www.efsa.europa.eu/en/topics/topic/glyphosate>. Acesso em agosto de 2023.
14. FERRANTE, Lucas; FEARNSIDE, Philip M. Evidence of mutagenic and lethal effects of herbicides on Amazonian frogs. *Acta Amazonica*, v. 50, p. 363-366, 2020.
15. FIT, Ficha de Informação Toxicológica. Divisão de Toxicologia Humana e Ambiental, CETESB, 2018.
16. Food and Agriculture Organization (FAO), 2022. Pesticides Use database from 1990 to 2019. Disponível: <https://www.fao.org/faostat/en/#data/RP/visualize>, acesso em junho 2022
17. GIESY, John P.; DOBSON, Stuart; SOLOMON, Keith R. Ecotoxicological risk assessment for Roundup® herbicide. Springer New York, 2000.
18. HENAO MUÑOZ, Liliana Marcela; TRIANA VELÁSQUEZ, Teófila María; BERNAL BAUTISTA, Manuel Hernando. Evaluación de la toxicidad de dos agroquímicos, Roundup® Activo y Cosmo-Flux® 411F, en renacuajos de anuros colombianos. *Acta Biológica Colombiana*, v. 20, n. 2, p. 153-161, 2015.
19. HOWE, Christina M. et al. Toxicity of glyphosate-based pesticides to four North American frog species. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*, v. 23, n. 8, p. 1928-1938, 2004.
20. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA). Disponível em: <https://www.gov.br/ibama/pt-br/servicos/avaliacao-e-destinacao/quimicos-e-biologicos/avaliacao-ambiental-para-registro-de-agrotoxicos-seus-componentes-e-afins-de-uso-agricola>. acesso em agosto de 2023.

21. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). Monitoramento da cobertura e uso da terra do Brasil : 2018/2020, Coordenação de Meio Ambiente. Rio de Janeiro. 2022.
22. IUCN. 2004. The International Union for Conservation of Nature (IUCN). Lista Vermelha de Espécies Ameaçadas da IUCN. Disponível em: www.iucnredlist.org. Acesso em julho de 2023.
23. LAJMANOVICH, Rafael C. et al. Harmful effects of the dermal intake of commercial formulations containing chlorpyrifos, 2, 4-D, and glyphosate on the common toad *Rhinella arenarum* (Anura: Bufonidae). *Water, Air, & Soil Pollution*, v. 226, p. 1-12, 2015.
24. MANN, Reinier M.; BIDWELL, Joseph R.; TYLER, Michael J. Toxicity of herbicide formulations to frogs and the implications for product registration: A case study from Western Australia. *Applied Herpetology*, v. 1, p. 13-22, 2003.
25. MIKÓ, Zsanett; HETTYEY, Attila. Toxicity of POEA-containing glyphosate-based herbicides to amphibians is mainly due to the surfactant, not to the active ingredient. *Ecotoxicology*, v. 32, n. 2, p. 150-159, 2023.
26. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Registro de Agrotóxicos. Brasília, 2022.
27. MOORE, Lindsay J. et al. Relative toxicity of the components of the original formulation of Roundup® to five North American anurans. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, v. 78, p. 128-133, 2012.
28. OECD (2019), Test No. 203: Fish, Acute Toxicity Test, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 2, OECD Publishing, Paris
29. RELYEA R.A. Amphibians are not ready for Roundup. In Elliott JE, Bishop CA, Morrissey CA, eds, *Wildlife Ecotoxicology, Vol 3. Emerging Topics in Ecotoxicology* Springer, New York, NY, USA, pp 267–300, 2011.
30. RELYEA, R. A. New effects of Roundup on amphibians: Predators reduce herbicide mortality; herbicides induce antipredator morphology. *Ecological Applications*, 22(2), 634–647, 2012.
31. RELYEA, R.A. The lethal impact of Roundup on aquatic and terrestrial amphibians. *Ecological Applications*, v. 15, n. 4, p. 1118-1124, 2005.
32. RELYEA, Rick A.; JONES, Devin K. The toxicity of Roundup Original Max® to 13 species of larval amphibians. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*, v. 28, n. 9, p. 2004-2008, 2009.

33. STATISTA, (2022). Agricultural consumption of pesticides worldwide from 1990 to 2019. Disponível: <https://www.statista.com/statistics/1263077/global-pesticide-agricultural-use/>, acesso em abril 2022.
34. STUART, Simon N. et al. Status and trends of amphibian declines and extinctions worldwide. *Science*, v. 306, n. 5702, p. 1783-1786, 2004.
35. SUAREZ, Romina P. et al. Combined effects of agrochemical contamination and forest loss on anuran diversity in agroecosystems of east-central Argentina. *Science of The Total Environment*, v. 759, p. 143435, 2021.
36. WAGNER, Norman; MÜLLER, Hendrik; VIERTEL, Bruno. Effects of a commonly used glyphosate-based herbicide formulation on early developmental stages of two anuran species. *Environmental Science and Pollution Research*, v. 24, p. 1495-1508, 2017.
37. WAKE, David B. Declining amphibian populations. *Science*, v. 253, n. 5022, p. 860-860, 1991.

9. APÊNDICE

Apêndice A. Tabela completa de dados dos artigos e dissertações encontrados nos bancos de dados *Google Scholar*, *PUBMED*, *Scielo* e *Web of Science*.

Disponível em: https://docs.google.com/spreadsheets/d/1_E3DejPNYsEoBxN0imtIA-rBS9FdOI97/edit?usp=sharing&ouid=111816696136157035131&rtpof=true&sd=true