

UNIVERSIDADE DE RIO VERDE - UniRV
FACULDADE DE BIOLOGIA E QUÍMICA
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS - LICENCIATURA E BACHARELADO

**MORFOMETRIA DE ANFÍBIOS ANUROS EM ESTÁGIO LARVAL EM
AMBIENTE ANTRÓPICO E NATURAL.**

AUTOR: MARCO ANTONIO GUIMARÃES SILVA

ORIENTADOR: PROF. Me. RINNEU ELIAS BORGES

Artigo de Trabalho apresentado à
Faculdade de Biologia e Química da
UniRV- Universidade de Rio Verde,
como parte das exigências para a
obtenção do grau de bacharel em
Ciências Biológicas.

RIO VERDE – GOIÁS

2017

MORFOMETRIA DE ANFÍBIOS ANUROS EM ESTÁGIO LARVAL EM AMBIENTE ANTRÓPICO E NATURAL.

*Silva, M. A. G.*¹

Borges, R. E.²

Resumo

Devido a intensa fragmentação e destruição do cerrado, principalmente para o cultivo de soja, milho e cana, esse domínio vem sendo cada vez mais estudado devido sua biodiversidade. O uso inadequado do solo, principalmente com a aplicação indiscriminada de pesticidas, põe em risco vários grupos de vertebrados, em especial os anfíbios, que são considerados bioindicadores de qualidade ambiental. O conhecimento sobre morfologia de larvas de anuros, compõe um conjunto de quesitos importantes para o estudo das espécies e a relação ao ambiente em que vivem, além contribuir significativamente na resolução de problemas relacionados na taxonomia das espécies de anfíbios. As análises morfoanatomicas foram realizadas em cinco espécies (*Sinax fuscovarius*; *Leptodactylus fuscus*; *Dendropsophus minutus*; *Boana albopunctatus* e *Physalaemus cuvieri*) de larva de anuros coletados em distintas áreas: Unidade de Conservação e área agrícola com o objetivo de avaliar os parâmetros de desenvolvimento de larvas provenientes de ambientes antropizado e conservado. O efeito relacionado a fase foi determinante nas medidas das larvas, porem apresentando em algumas espécies medidas morfométricas maiores na unidade de conservação quando comparadas com ambiente antropizado, nos quais apresentaram fases mais avançadas, assim chamando atenção para possíveis perturbações significativas na área agrícola.

Palavras-chave: morfometria, girino, perturbações antrópicas.

¹Acadêmico do curso de Ciências Biológicas Licenciatura e Bacharelado. Universidade de Rio Verde - UniRV.

² Professor Mestre da Faculdade de Biologia da Universidade de Rio Verde – UniRV rinneu@unirv.edu.br

Introdução

Atualmente há cerca de 7638 espécies de anfíbios no mundo, sendo que 6726 são da ordem anura. Sua distribuição é cosmopolita, exceto para as regiões de latitudes extremas do Norte, a Antártida e a maioria das ilhas oceânicas (FROST, 2017). Até junho de 2016 foram reconhecidas 1080 espécies desta classe no Brasil sendo 1039 de anuros (SEGALLA et al., 2016). Para a região do cerrado verifica-se a ocorrência de algo entre 209 a 271 espécies, sendo que mais de 50% são endêmicas da região (MELO et al., 2013).

O Cerrado (*Hotspots* de Biodiversidade) vem sendo vítima de um grande desmatamento intensivo decorrente de atividades agrícolas e pecuaristas por décadas, ocasionando até mesmo a extinção de espécies de vegetais e animais, a alta taxa de endemismo e a grande biodiversidade presente nesse Bioma, destaca o Cerrado como uma área de importância mundial, sendo escasso atualmente mecanismos de compensação, que chame a atenção do setor privado ao mesmo tempo em que beneficiaria a conservação do Cerrado (OLIVEIRA et al., 2008; KLINK E MACHADO 2005).

Teixeira (2005) relata que a modernização da agricultura chegou no país na década de 1950, com importação de meios de produção mais avançados, assim abrindo espaço para o mercado e setor industrial de produção de equipamentos agrícolas e agrotóxicos, que por si, se estabeleceu fortemente em 1960.

Com a grande expansão da agricultura e seu decorrente uso de defensivos químicos, os agrotóxicos vêm se tornando um acentuado problema de saúde pública e ambiental, tendo em vista os grandes números de populações que são expostas diretamente e indiretamente a esses produtos, desde a fábrica até setores nas proximidades agrícolas e também em alimentos contaminados que consumimos (RIGOTTO et al., 2014).

Os agrotóxicos foram desenvolvidos para que sua formulação química seja específica assim sendo, seletivo à determinados tipos de insetos, animais, plantas ou fungos, que sejam considerados danosos a cultura introduzida; entretanto, organismos não alvo podem sofrer danos devido a facilidade de dispersão do produto no ambiente como um todo, ou seja prejudicando inúmeros organismos que entram em contato com esses compostos (VEIGA et al., 2006).

Insumos agrícolas, mesmo que em baixa concentração, podem vir a afetar a estrutura e função das comunidades em diferentes níveis, que podem ser de níveis morfológicos, estruturais, genéticos e moleculares de até mesmo a comunidades inteiras, isso mostra que o intensivo uso destes defensivos, podem ser de grande impacto, levando diretamente a redução do número de espécies de uma localidade, assim diminuindo a biodiversidade (GRISOLIA, 2005).

A maioria das espécies de anfíbios passa por um estágio larval em seu desenvolvimento, denominada nesta fase de girino. Nesta etapa, estes animais permanecem obrigatoriamente em ambiente úmido ou aquático, onde se desenvolvem até alcançarem maturidade suficiente e se deslocar para o ambiente terrestre (POUGH et al 1999).

O Brasil é um dos maiores consumidores de agrotóxicos no mundo (ANVISA, 2012). Pesticidas, incluindo inseticidas, herbicidas e fungicidas são particularmente prejudiciais aos anfíbios devido à dependência de fontes de água em alguma fase de sua vida, e à permeabilidade da sua pele (GOVINDARAJULU, 2008). Ao longo dos anos herpetologistas de toda parte do mundo vêm chamando a atenção e se preocupando com o grande declínio das espécies de anfíbios (KOPP et al., 2007).

O conhecimento sobre a fase larval dos anuros e sua morfologia compõe um conjunto de ferramentas importantes para o estudo da ecologia das espécies, e também contribui significativamente na resolução de problemas na taxonomia das espécies de anfíbios (ALTIG & McDIARMID, 1999).

Com o conhecimento de poucas chaves taxonômicas ilustradas que possibilitem a identificação de espécies de girinos da maior parte do país, na qual dificulta ou mesmo inviabiliza a utilização das larvas em estudos de outras áreas do conhecimento da biologia (ANDRADE et al., 2007).

O presente trabalho destaca a grande importância de estudos voltados na comparação de ambientes de diferentes níveis de ação humana, no qual relaciona esses animais com o meio que vivem sendo ele natural ou de ação antrópica direta. Tendo como objetivo o uso de parâmetros morfométricos como ferramenta de estudo, afim de se observar diferentes níveis de degradação ambiental. Tais níveis foram observado a partir de análises morfométricas e identificação de fase de 5 espécies coletadas em ambas as áreas, esperando um crescimento orgânico linear na unidade de conservação afim de associar aspectos morfométricos com condições ambientais.

Material e Métodos

Área e métodos de coleta

Foram coletados girinos provenientes de dois ambientes distintos: Parque Nacional das Emas (Unidade Federal de Conservação) e área agrícola (município de Rio Verde, Goiás).

O Parque Nacional das Emas (PNE) é conhecido pelo seu alto grau de conservação, onde encontramos diversas fitofisionomias divididas em formações florestais, savânicas e campestres, como campo limpo úmido, campo sujo úmido e vereda. Já no ambiente de coleta de Rio Verde, área com a matriz de monocultura, onde predominou-se monocultura de soja na época das coletas, ou seja, uma área inteiramente ligada as ações humanas, restando alguns fragmentos florestais

Para coleta foi realizada busca ativa, com auxílio de puçá, entre 2014 a 2016 no período chuvoso (novembro a março). Os girinos foram levados ao laboratório de Zoologia da UniRV e posteriormente feito a triagem (lupa: OPTON Microscópio estereoscópio: OPTON).

Dez indivíduos de cinco espécies (*Sinax fuscovarius*; *Leptodactylus fuscus*; *Dendropsophus minutus*; *Boana albopunctatus* e *Physalaemus cuvieri*) foram selecionados para realizar a morfometria.

Análises biométricas

Os girinos (n=10) de cada espécie (n=5) e de cada localidade coletada (município de Rio Verde, e do PNE), foram anestesiados em benzocaína e fixados em formalina 10% para preservação e análises. As medidas foram de acordo com Altig e McDiarmid (1999) e Grosjean (2005), onde foram analisados: CT (comprimento total), CC (comprimento do corpo), CCA (comprimento da cauda), AMCA (altura máxima da cauda), DIO (distância interocular), LCO (largura do corpo no nível dos olhos), AC (altura máxima do corpo), DOF (distância do olho ao focinho) com o auxílio de um paquímetro digital e fase quanto os critérios de Gosner (1960). Posteriormente os dados foram comparados entre os animais da mesma espécie coletados nas distintas localidades e condições ambientais.

Licença de coleta e Tombamento de material

Todos os animais coletados no município de Rio Verde e no Parque Nacional das Emas tem a devida licença emitida pelo Instituto Chico Mendes de Biodiversidade e Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (ICMBIO/IBAMA) sob o número 41919-1. Após as análises, os girinos foram transportados ao Laboratório de Anatomia Comparativa da Universidade Estadual Paulista-UNESP/IBILCE, e tombados na coleção científica da Universidade.

Análise estatística

Os resultados foram analisados através de análise estatística descritiva (média e desvio padrão) e uma análise de covariância (ANCOVA) para testar a relação dos locais, fase de desenvolvimento e morfometria de todas as amostras. O estágio larvário é a covariável em razão da influência no tamanho do corpo dos girinos de forma linear. Todas as análises foram executadas no software Statistica7®, considerando um intervalo de confiança de 95% e um nível de significância $p < 0,05$.

Resultados

Na análise de todos os parâmetros morfométricos a espécie *S. fuscovarius* de área agrícola apresentou tamanhos maiores dentro do seu próprio ambiente e na relação com ambiente preservado ($P < 0,0001$) (Tabela 1 e Figura 1). Assim, foi verificado um viés em relação a essa espécie com a fase de desenvolvimento nesse aumento orgânico (Tabela 2).

Tabela 1. Aspectos morfométricos de girinos de área agrícolas (Antropizado) versus ambiente preservado.

Área/Espécies	Morfometria entre girinos do cerrado							
	CT	CC	CCA	AMCA	LCO	AC	DIO	DOF
PRESERVADO								
<i>S. fuscovarius</i>	24.38±2.08	7.65±0.72	20.91±2.18	7.05±0.84	4.22±0.40	3.70±0.42	3.17±0.32	1.06±0.15
<i>L. fuscus</i>	22.11±1.19	8.30±0.47	17.59±1.30	6.38±0.87*	4.16±0.34	3.47±0.36	3.02±0.20*	1.27±0.25
<i>D. minutus</i>	26.15±1.80*	8.18±0.70	21.11±1.48*	7.84±1.11	4.31±0.43	4.19±0.55	3.61±0.48*	1.86±0.19*
<i>B. albopunctatus</i>	40.99±4.39**	12.98±1.16*	29.76±4.24**	7.04±0.86	6.27±0.76	5.94±1.15	3.60±0.58*	1.80±0.31
<i>P. cuvieri</i>	25.53±1.70	8.75±0.49	18.36±1.13	3.88±0.43	4.44±0.35	4.13±0.39	1.88±0.10	1.10±0.32
ANTROPIZADO								
<i>S. fuscovarius</i>	44.69±5.87***	13.31±1.15***	37.67±4.96***	14.02±1.43***	7.56±0.81***	6.29±0.88***	6.68±0.70***	2.49±0.45***
<i>L. fuscus</i>	27.40±2.65	9.71±0.85	18.41±1.84	4.64±0.63	4.70±0.53	4.73±0.68	2.44±0.26	1.52±0.25
<i>D. minutus</i>	20.65±2.04	6.88±1.05	16.78±1.91	6.43±1.00	3.68±0.68	3.96±0.89	2.80±0.47	1.39±0.33
<i>B. albopunctatus</i>	28.96±10.15	10.83±3.41	21.39±7.98	5.47±2.03	5.64±1.90	6.26±2.40*	2.52±1.19	1.45±0.64
<i>P. cuvieri</i>	23.97±1.35	8.78±0.51	16.01±1.56	4.08±0.56	4.06±0.60	4.48±0.31	1.69±0.21	0.90±0.12

CT = comprimento total; CC = comprimento do corpo; CCA = comprimento da cauda; AMCA = altura máxima da cauda; LCO = largura do corpo a níveis dos olhos; AC = altura do corpo; DIO = distância interocular; DOF = distância olho focinho. Média±Desvio padrão e comparação morfométrica entre ambientes, espécies. Nível de significância estatística, $P = 0,05^*$; $P = 0,01^{**}$; $P = 0,001^{***}$.

Tabela 2. Variação da média da fase de desenvolvimento de acordo com os ambientes.

Espécies	Área	Fase de desenvolvimento
<i>S. fuscovarius</i>	RV	36.6
	PNE	33.2
<i>L. fuscus</i>	RV	37.6
	PNE	31.0
<i>D. minutus</i>	RV	27.5
	PNE	29.3
<i>B. albopunctatus</i>	RV	32.9
	PNE	37.0
<i>P. cuviere</i>	RV	38.5
	PNE	37.7

Para a espécie *B. albopunctatus* de área preservada, mostrou maior desenvolvimento corpóreo de acordo os dados morfométricos, especialmente CT (40.99 ± 4.39 ; $P < 0,01$), CCA (29.76 ± 4.24 ; $P < 0,01$), CC (12.98 ± 1.16 ; $P < 0,05$) e DIO (3.60 ± 0.58 ; $P < 0,05$) (Tabela 1). Já *B. albopunctatus* em área agrícola o único aspecto de maior morfometria foi AC (6.26 ± 2.40 ; $P < 0,01$). *L. fuscus* de ambiente preservado também demonstrou maior crescimento orgânico para AMCA (6.38 ± 0.87) e DIO (3.02 ± 0.20). Nesse sentido, ainda em área preservada *D. minutus* em aspectos morfometria como tamanho total CT (26.15 ± 1.80), CCA (21.11 ± 1.48), DIO (3.61 ± 0.48), DOF (1.86 ± 0.19) mostrou superior em relação principalmente as espécies de área agrícola ($P < 0,01$) (Figura 1, 2 e 3). Espécies *S. fuscovarius*; *L. fuscus* e *P. cuviere* mostrou maior média em Rio Verde quanto a fase de desenvolvimento. Já as espécies *D. minutus* e *B. albopunctatus* apresentou maior média de fase de desenvolvimento no Parque Nacional das Emas (Tabela 2).

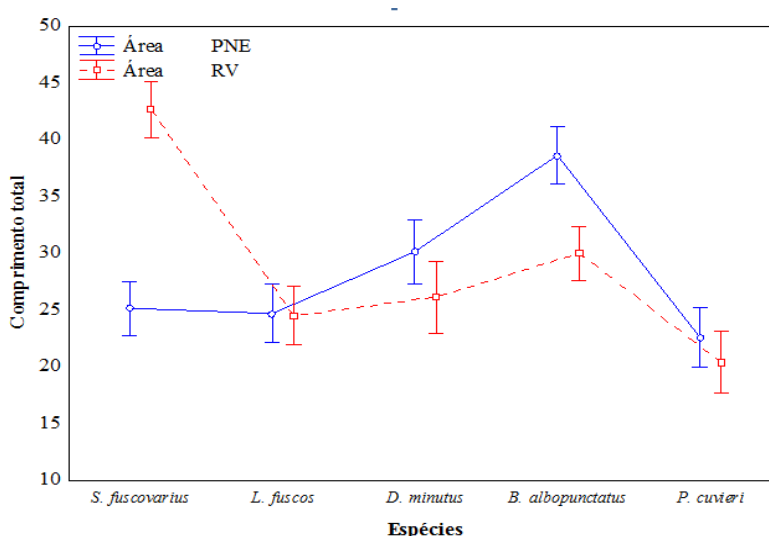


Figura 1: CT (mm) das espécies coletadas em área preservada e antropizada. Note a diferença significativa evidenciada pelas espécies *S. fuscovarius*; *D. minutus* e *B. albopunctatus*.

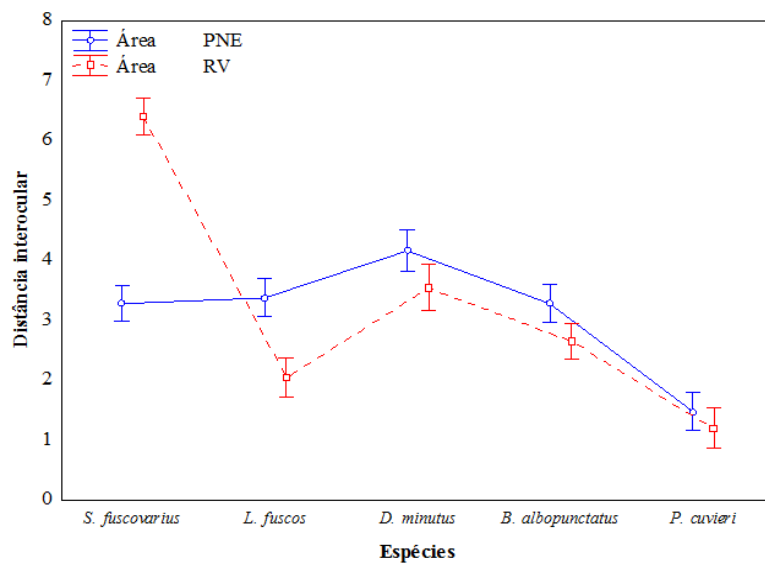


Figura 2: DIO (mm) das espécies coletadas em área preservada e antropizada. Note a diferença significativa evidenciada pelas espécies *S. fuscovarius*; *L. fuscus* *D. minutus* e *B. albopunctatus*.

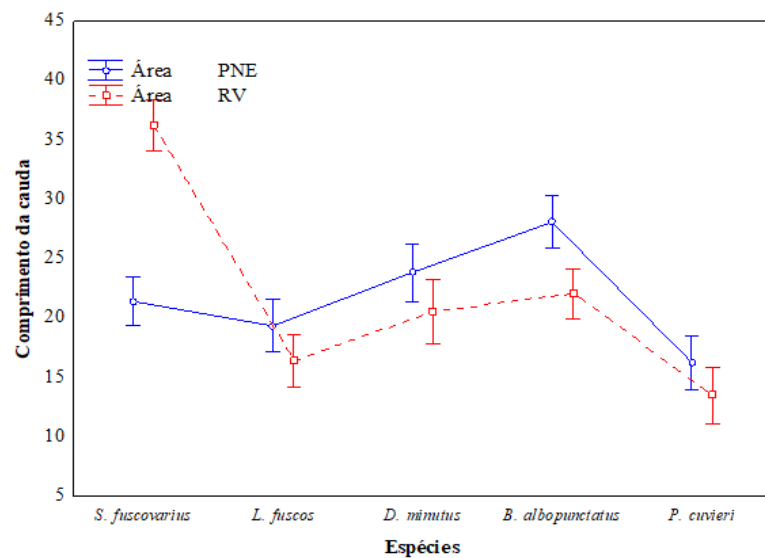


Figura 3: CCA (mm) das espécies coletadas em área preservada e antropizada. Note a diferença significativa evidenciada pelas espécies *S. fuscovarius*; *B. albopunctatus*; *L. fuscus* e *D. minutus*.

Discussão

Chamamos a atenção para a espécie *L. fuscus*, pois parece ser um bom modelo para estudo morfométrico em razão ao efeito do ambiente preservado versus perturbado e fase de desenvolvimento. Pois mesmo em fase avançada em área agrícola, não foi observado relação estatística com exceção a AMCA e DIO para melhor desenvolvimento em área preservada (Tabela 1 e 2).

A variação da fase de desenvolvimento de acordo os ambientes foram entre $\pm 29-37$ para ambiente preservado a $\pm 27-38$ e para área perturbada (Tabela 2). Pesquisas futuras devem avaliar espécimes de mesma fase de desenvolvimento para retirar o efeito da fase.

Como o estudo de parâmetros morfométricos acontece na porção exterior da larva é de tamanha importância a caracterização externa descritivas dessas espécies. De acordo com os trabalhos de Rossa Feres e Nomura (2006), apresentamos uma breve descrição dos aspectos morfométricos das espécies de girinos estudadas:

- *S. fuscovarius* (A. Lutz, 1925): Corpo comprimido, oval em vista dorsal e triangular em visão lateral. Focinho arredondado em vista dorsal e inclinado em vista lateral. Olhos grandes, laterais, direcionados lateralmente. Narina grande, oval, posicionado dorso lateralmente com abertura direcionada lateralmente, sem projeção marginal. Espiráculo sinistro, longo e estreito, abrindo na parte posterior do corpo parede posterior centrípeta, posterior dirigida para a parede do corpo e mais longo que a parede externa. Tubo anal longo, dextro, fundido à barbatana ventral, com abertura ventral, parede ventral e dorsal do mesmo comprimento Rossa Feres e Nomura (2006).

- *L. fuscus* (Schneider, 1799): Corpo deprimido, oval em vista dorsal e globular / deprimido em vista lateral. Focinho oval em vista dorsal e inclinado em vista lateral. Olhos pequenos, dorsais, dirigidos lateralmente. Narina pequena, oval, posicionados dorsalmente com abertura lateralmente dirigido, sem projeção na margem marginal. Espiráculo sinistro, curto e estreito, dirigido posterodorsalmente, abertura no terço do corpo, parede centrípeta totalmente fundido com a parede do corpo e o mesmo comprimento que o parede externa. Tubo anal longo, medial, fundido com a barbatana ventral, com abertura medial e membrana ventral mais longa do que a dorsal Rossa Feres e Nomura (2006).

- *D. minutus* (Peters, 1872): Corpo comprimido, oval em vista dorsal e triangular em vista lateral. Focinho arredondado em vista dorsal e inclinado em vista lateral. Olhos grandes, laterais, lateralmente direcionados. Narina grande, circular, posicionado lateralmente com abertura direcionada pós-dirigida, sem projeções em marginal. Espiráculo sinistro, lateroventral, curto e estreito, abrindo no terço médio do corpo, dirigido posterodorsalmente, parede centrípeta fundida na parede do corpo e maior do que a parede externa. Tubo anal curto, dextral, fundido ao ventre, com

abertura medial e parede ventral menor do que parede dorsal Rossa Feres e Nomura (2006).

- *B. albopunctatus* (Spix, 1824): Corpo deprimido, oval em vista dorsal e globular / deprimido em vista lateral. O focinho é oval em vista dorsal e arredondado em vista lateral. Olhos grandes, dorsais, direcionados lateralmente. Narina grande, ovais, posicionados dorsalmente, com abertura dirigido dorsolateralmente, com uma grande projeção marginal. Espiráculo sinistro , longo e estreito, abrindo na parte posterior do terço médio do corpo, parede posterior centrípeta, posterior não fundido na parede do corpo e no mesmo comprimento do parede externa. Tubo anal, medial, fundido com a barbatana ventral, com abertura dextro e parede ventral mais longa que a parede dorsal Rossa Feres e Nomura (2006).

- *P. cuviere* (Fitzinger, 1826): Corpo em vista lateral. Oval arredondado em dorsal e vistas laterais. Olho pequeno, dorsal, dirigido dorsolateralmente. Narina grande, ovais, posicionados dorsalmente com abertura dorsal dirigido, com uma pequena projeção marginal. Espiráculo sinistro, longo e largo, abrindo no terço posterior do corpo, com direção pós-dirigida, parede centrípeta para a parede do corpo com borda distal livre e mais longa do que a parede externa. Tubo anal longo, medial, com abertura medial parede ventral e dorsal do mesmo comprimento Rossa Feres e Nomura (2006).

O estudo de parametros morfométricos em larvas de anuros apresenta grande potencial como biomarcador, assim apresentando diferenças morfométricas nas estruturas desses animais a nível de ambiente, possibilitando mensurar perturbações antrópicas perante os ecossistemas.

Conclusão

De modo geral os dados indicam que ambiente preservado a média de desenvolvimento orgânico ocorre de forma linear especialmente para *L. fuscus*, *D. minutus* e *B. albopunctatus*, mostrando-se como bons modelos de parâmetros morfométricos quando relacionadas as mesmas de área perturbada.

Referências

ALTIG R, MCDIARMID RW. 1999. Tadpoles: The Biology of Anuran Larvae. The University of Chicago Press. Chicago, 337 pp.

ALTIG, R. & R. W. MCDIARMID 1999. Body plan: Development and Morphology. In: R. W McDiarmid & R. Altig, Tadpoles. The biology of anuran larvae, p.24-51. Chicago, The University of Chicago.

ANDRADE, G. A.; ETEROVICK, P. C.; ROSSA-FERES, D. C. & SCHIESARI, L. 2007. Estudos de girinos no Brasil: histórico, conhecimento atual e perspectivas. In: Nascimento, L. B. & Oliveira, M. E. (eds). Herpetologia no Brasil II. Sociedade Brasileira de Herpetologia, Belo Horizonte, p.127-145.

ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/divulga/noticias/2009/020409.htm>. Acessado em 06 de junho de 2017.

CARLOS A. KLINK; RICARDO B. MACHADO: A conservação do Cerrado brasileiro: megadi v. 1 n. 1 2005.

DENISE DE CERQUEIRA ROSSA-FERES & FAUSTO NOMURA. Characterization and taxonomic key for tadpoles (Amphibia: Anura) from the northwestern region of São Paulo State, Brazil. Bio Neo, v. 6 n. 1. 2006 <http://www.biotaneotropica.org.br/v6n1/pt/abstract?identificationkey+bn00706012006>.

FROST, DARREL R. 2017. Amphibian Species of the World: na Online Reference. Version 6.0 (23 de maio de 2017). Electronic Database accessible at.

GOSNER KL. 1960. A Simplified Table for Staging Anuran Embryos and Larvae with Notes on Identification By Kenneth L. Gosner. Herpetologica. 16 (3). p. 183-190.

GOVINDARAJULU, P., 2008. Literature review of impacts of Glyphosate herbicide on amphibians: What risks can the silvicultural use of this herbicide pose for amphibians in B.C.? Ministry of Environment, Victoria, BC. Wildlife Report No R-28.

GRISOLIA, C.K. Agrotóxicos: mutações, câncer e reprodução. Brasília: UNB, 2005.

GROSJEAN S. 2005. The choice of external morphological characters and developmental stages for tadpole-based anuran taxonomy: a case study in *Rana (Sylvirana) nigrovittata* (Blyth, 1855) (Amphibia, Anura, Ranidae). Contributions to Zoology 74: P. 6176.<http://research.amnh.org/herpetology/amphibia/index.html>. American Museum of Natural History, New York, USA.

KROPP, K.; FILHO, N. R. A.; ALVES, M. I. R.; BASTOS, R. P. Publicações sobre o efeito de pesticidas em anfíbios no período de 1980 a 2007. Revs Mul Ciên. Edição n. 8. 2007. Disponível em: http://lherp.ecoevol.ufg.br/uploads/199/original_Kopp_et_al_2007.pdf

MELO, M.; FAVA, F.; PINTO, H. B. A.; BASTOS, R. P.; NOMURA, F. Diversidade de anuros (Amphibia) na reserva extrativista Lago do Cedro e seu entorno, Aruanã, Goiás. Rev Bio Neot. Vol. 13, nº 2. 2013. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1676-06032013000200205&script=sci_arttext&tlng=pt

MYERS, N. Florestas tropicais e suas Espécies: sumindo, sumindo...? In: WILSON, O. E. (ed.). biodiversidade. Rio de Janeiro: Nova Fronteira, 1997. p. 36-45.

OLIVEIRA.D.A, PIETRAFESA.J.P, BARBALHO.M.G.S: Manutenção da biodiversidade e o hotspots cerrado: cam geo- revista on line <http://ww.ig.ufu.br/revista/caminhos.html>. ISSN 1678-6343 JUN/2008 P. 101 – 114.

POUGH, H. F.; HEISER, J. B. & McFARLAND, W. 1999. A vida dos vertebrados. São Paulo, Atheneu Editora, 798p.

RIGOTTO.R.M; VASCONCELOS.D.P; ROCHA.M.M: Uso de agrotóxicos no Brasil e problemas para a saúde pública. Cad. Saúde Pública, Rio de Janeiro, 30 (7):1-3, jul,2014. <http://dx.doi.org/10.1590/0102-311XPE020714>

SEGALLA.M.V; CARAMASCHI.U; CRUZ.C.A.G; GRANT.T; HADDAD.C.F.B; GARCIA.P.C.A; BERNECK.B.V.M, JOSÉ A. LANGONE- BRAZILIAN AMPHIBIANS: List of Species http://www.sbherpetologia.org.br/images/LISTAS/Lista_Anfibios2016.pdf acesso (23 de maio de 2017).

TEIXEIRA.J.C: Modernização da Agricultura no Brasil: Impactos Econômicos, Sociais e Ambientais. Rev Eletr Asso Geó Bras – Seção Três Lagoas Três Lagoas-MS, V 2 – n. 2 – ano 2. 2005.

VEIGA, M. M.; SILVA, D. M.; VEIGA, L. B. E.; FARIA, M.V. de C. Análise da contaminação dos sistemas hídricos por agrotóxicos numa pequena comunidade rural do Sudeste do Brasil. Cad. Saúde Pública. Rio de Janeiro, 2006.