

**Análise quantitativa temporal sobre os efeitos do uso de agrotóxicos em anfíbios –  
anuros**

**Temporal quantitative analysis on the effects of agricultural use on amphibians –  
anuran**

**Análisis temporal cuantitativo sobre los efectos del uso de pesticidas en anfibios - anuros**

Recebido: 16/06/2020 | Revisado: 17/06/2020 | Aceito: 27/06/2020 | Publicado: 09/07/2020

**Rosana dos Santos D' Ávila**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8236-2096>

Universidade do Estado de Mato Grosso, Brasil

E-mail: [rosanaest3@gmail.com](mailto:rosanaest3@gmail.com)

**Bruno Ramos Brum**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3645-3074>

Universidade do Estado de Mato Grosso, Brasil

E-mail: [brunoramosbrum@hotmail.com](mailto:brunoramosbrum@hotmail.com)

**Thaysa Costa Hurtado**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6274-4273>

Universidade do Estado de Mato Grosso, Brasil

E-mail: [thaysa\\_mt@hotmail.com](mailto:thaysa_mt@hotmail.com)

**Áurea Regina Alves Ignácio**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4672-1818>

Universidade do Estado de Mato Grosso, Brasil

E-mail: [aurea@unemat.br](mailto:aurea@unemat.br)

**Resumo**

A presença de anfíbios em ambientes agrícolas alterados é notável, mas o desaparecimento de algumas espécies traz preocupação com o risco de aplicação de produtos químicos associados à agricultura nas populações de larvas e adultos. A avaliação quantitativa abrangente da sensibilidade comportamental dos anfíbios faz-se imprescindível para entender melhor o impacto populacional e os impactos ecológicos resultantes dos contaminantes. Com isso, o objetivo do estudo foi realizar uma revisão utilizando o método cientométrico para avaliar os efeitos dos agrotóxicos na população de anuro. Os resultados indicaram que a maioria dos estudos foi realizada na Europa e na Ásia envolvendo estágios larvais e embrionários deste

grupo sendo que, 46,33% dos 218 estudos se concentraram nos efeitos dos inseticidas. Em particular, os inseticidas aumentaram as taxas de natação anormal e reduziram as respostas de escape aos ataques de predadores. No entanto nos artigos analisados verificou-se que a falta de testes de campo e a dependência excessiva de testes de toxicidade direta em laboratório podem limitar a capacidade de interpretar os resultados sob condições realistas de campo.

**Palavras-chave:** Contaminação ambiental; Genotoxicidade; Toxicidade; Ecotoxicologia; Declínio; Agricultura.

### **Abstract**

The presence of amphibians in altered agricultural environments is notable, but the disappearance of some species poses a risk with the risk of application of chemicals associated with agriculture in larvae and adult species. A comprehensive quantitative assessment of the behavioral sensitivity of amphibians is essential to better understand the population impact and ecological impacts applicable to contaminants. Thus, the aim of the study was to conduct a review using the scientometric method to assess the effects of pesticides on the anuran population. The results indicate that the majority of studies were conducted in Europe and Asia, involving case studies and embryos in this group, 46.33% of the 218 studies focused on the effects of insecticides. In particular, insecticides increase as abnormal swimming rates and decrease as escape responses to predator attacks. However, in the analyzed articles, it was found that the lack of field tests and the excessive dependence on direct toxicity tests in the laboratory can limit the ability to interpret the results under real field conditions.

**Keywords:** Environmental contamination; genotoxicity; Toxicity; Ecotoxicology; Decline; agriculture.

### **Resumen**

La presencia de anfibios en ambientes agrícolas alterados es notable, pero la desaparición de algunas especies presenta un riesgo con el riesgo de la aplicación de químicos asociados con la agricultura en larvas y especies adultas. Una evaluación cuantitativa exhaustiva de la sensibilidad conductual de los anfibios es esencial para comprender mejor el impacto en la población y los impactos ecológicos aplicables a los contaminantes. Por lo tanto, el objetivo del estudio fue realizar una revisión utilizando el método cuantitativo para evaluar los efectos de los pesticidas en la población de anuros. Los resultados indican que la mayoría de los estudios se realizaron en Europa y Asia, involucrando estudios de casos y embriones en

este grupo, 46.33% de los 218 estudios se enfocaron en los efectos de los insecticidas. En particular, los insecticidas aumentan como tasas anormales de natación y disminuyen como respuestas de escape a los ataques de depredadores. Sin embargo, en los artículos analizados, se descubrió que la falta de pruebas de campo y la dependencia excesiva de las pruebas de toxicidad directa en el laboratorio pueden limitar la capacidad de interpretar los resultados en condiciones reales de campo.

**Palabras clave:** Contaminación ambiental; Genotoxicidad; Toxicidad; Ecotoxicología; Disminución; Agricultura.

## 1. Introdução

Os anfíbios constituem o grupo de vertebrados mais ameaçados do mundo com queda crescente no número de espécies desde a década de 1980 (Alemeida, 2014). Esta redução no tamanho das populações pode estar associada a influências antropogênicas (Collins & Storer, 2003), como a contaminação das águas por agroquímicos ou outros poluentes (Reeves, 2014).

Neste contexto, atividades agrícolas vêm sendo consideradas de forma crescente as principais causadoras de impactos e alterações do ambiente, devido à modificação da paisagem e ao uso de agrotóxicos e fertilizantes nas lavouras que por sua vez, estão associados à contaminação de águas superficiais e subterrâneas (Moron, et al., 2006).

Segundo Cooper (1993) a aplicação de agrotóxicos sobre os campos de cultivo agrícola, possibilita que os mesmos cheguem de forma indireta até os corpos d'água, por percolação no solo, volatilização, formação de poeira no solo contaminado e/ou por pulverização transportados por correntes aéreas ou sistemas de irrigação e lixiviação.

De acordo com Hayes, et al.,(2006) estes fatores são bastante preocupantes devido a dependência dos anfíbios ao meio aquático, principalmente para a reprodução e desenvolvimento dos estágios iniciais de vida. Além disso, sua pele permeável aumenta a vulnerabilidade desses animais á contaminação química, proveniente da poluição das águas por agrotóxicos.

Sendo assim, Arcaute, et al. (2014) apontam que além da suscetibilidade a doenças e outros problemas, durante seu desenvolvimento, a exposição a agrotóxicos pode induzir a efeitos deletérios, como lesões genéticas . Ensaios em laboratórios apontaram que a exposição a agrotóxicos, tiveram um papel importante na produção de danos genotóxicos nos eritrócitos micronucleados e outras anormalidades nucleares eritrocitárias como, núcleos lobados,

binucleados ou núcleos segmentados, núcleos em forma de rim, núcleos entalhados e núcleos picnóticos dos girinos de anfíbios (Pérez-Iglesias, et al., 2015., Lajmanovich, et al., 2014).

Neste sentido estudos sobre genotoxicidade envolvendo anfíbios são, importantes para a detecção de espécies indicadoras de mudanças ambientais (Beiswenger, 1988). Para Stuart, et al., (2004) a sensibilidade dos anfíbios a variações ambientais, devido suas particularidades comportamentais e fisiológicas, podem explicar a ocorrência de declínios populacionais em áreas que apresentam alterações imperceptíveis do habitat, mas que podem estar sendo contaminada por produtos químicos provenientes do manejo agrícola.

Sendo assim a avaliação ecotoxicológica constitui importante ferramenta para avaliação dos efeitos nocivos dos agrotóxicos em espécies não-alvo. A identificação do perigo e análise da relação dose-resposta são etapas iniciais no processo da toxicidade ou de risco ambiental desses compostos (Donaldson, et., 2002).

Segundo Hayes, et al., (2010) muitos produtos químicos utilizados na agricultura funcionam como disruptores endócrinos como, por exemplo, a atrazina, e outros com potencial capacidade de gerar feminilização e até castração química em anfíbios machos adultos.

Dessa forma, para entender os efeitos de poluente em qualquer espécie de animal aquática, faz-se necessário o conhecimento da toxicidade aguda de compostos representantes das classes dos agrotóxicos, tornando imperativa a realização de experimentos para determinar sua Concentração Letal (LC<sub>50</sub>) em indivíduos testados (Perkins, et al., 2000).

Neste contexto este estudo apresenta uma visão geral de 39 anos de produção científica relacionadas aos efeitos do uso de agrotóxicos nos anfíbios – anuro.

## **2. Metodologia**

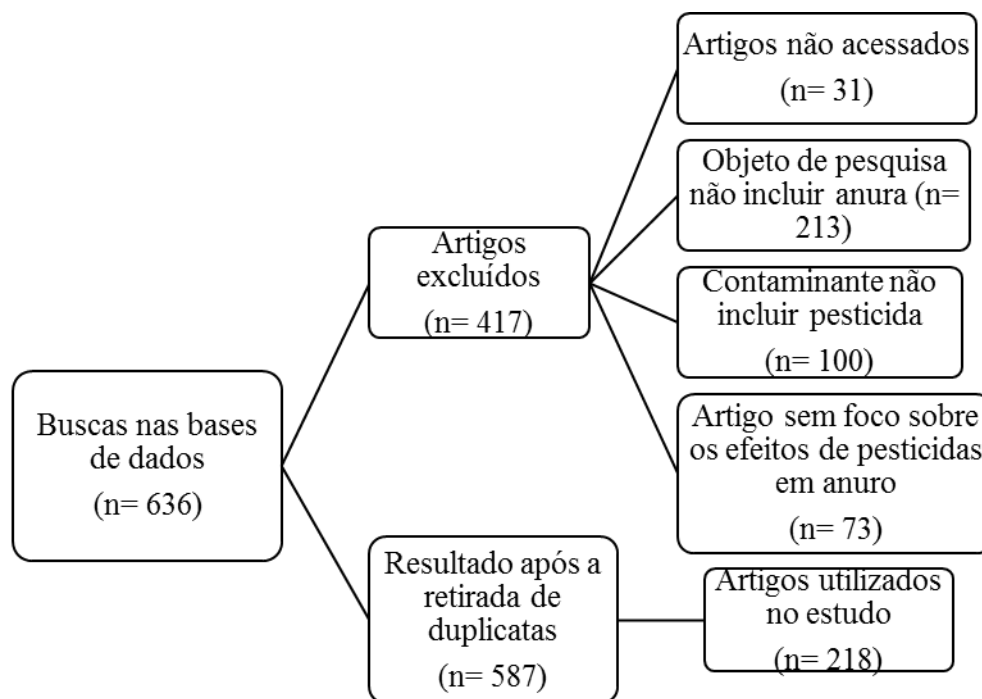
O método utilizado nesta pesquisa foi o cienciométrico, por meio de análise de artigos científicos que abordaram questões relacionadas aos efeitos nocivos causados pelos agrotóxicos em anuros.

Segundo (White & Griffith, 1982; McCAIN, 1990) diversos aspectos da produção científica, utilizam esta técnica, em que os principais autores de uma determinada área de conhecimento constituem a unidade de análise. Para Raan, (1997) a abordagem cienciométrica visa o avanço do desenvolvimento da ciência em relação às questões ambientais, sociais e políticas e se baseia principalmente na análise quantitativa de

publicações científicas para entender como um determinado conhecimento ou campo da ciência é estruturado e organizado (Ochoa, et al., 2014).

Sendo assim, uma análise de rede foi aplicada para caracterizar os grupos temáticos e a abrangência do assunto estudado. A Figura 1 apresenta uma descrição detalhada das etapas adotadas na pesquisa.

**Figura 1** – Diagrama das etapas entre a obtenção dos artigos potenciais disponíveis nas bases de dados pesquisadas e a seleção de artigos contendo estimativas de efeito de agrotóxicos em anfíbios – Anura.



Fonte: Construção dos autores (2020).

A primeira etapa consistiu-se em restringir um *corpus* de texto de referências disponíveis no banco de dados das bases Web of Science, Scopus e ScienceDirect. Artigos científicos indexados que continham os termos ecotoxicology, toxicity, insecticide, fungicide, herbicide, atrazine, carbaryl, glyphosate, endosulfan, pesticide, LC<sub>50</sub> e anuran no título, resumo ou palavras-chave.

A busca foi realizada utilizando asterisco depois de todas as palavras para que a busca fosse feita com palavras no singular, plural e suas formas variantes. O operador de busca OR também foi utilizado para encontrar registros que continham as palavras ecotoxicology, toxicity, insecticide, fungicide, herbicide, atrazine, carbaryl, glyphosate, endosulfan, pesticide,

LC<sub>50</sub> ou ambas as palavras. O operador AND foi utilizado para encontrar registros que contivessem uma das palavras anteriores em associação com anura, palavras com as quais a busca foi relacionada.

Sendo assim a pesquisa foi realizada da seguinte forma: (ecotoxicology\* OR toxicity\* OR insecticide\* OR fungicide\* OR herbicide\* OR atrazine\* OR carbaryl\* OR glyphosate\* OR endosulfan\* OR pesticide\* OR LC<sub>50</sub>\*) AND anuran. As consultas realizadas nos bancos de dados resultaram em um total de 636 artigos científicos para ambas as bases. As publicações encontradas nas duas plataformas foram contabilizadas apenas uma vez.

Cada registro foi examinado para verificar sua relação com o foco desta pesquisa, 417 entradas não continham o foco da pesquisa e foram excluídas do conjunto de dados do *corpus*. Portanto, todas as análises apresentadas neste estudo foram realizadas considerando um total de 218 artigos científicos.

Para explorar melhor os artigos compilados com o objetivo desse estudo, uma série de variáveis foi atribuída ao conjunto de dados criados: a) ano de publicação, b) país da publicação, c) número de citações por década, d) autores que mais citados sobre o tema e e) principais agrotóxicos utilizados nos estudos publicados.

Foram considerados para este estudo, apenas artigos que trabalham com espécies pertencentes à Classe Amphibia, Ordem anura. Os estudos também foram classificados em categorias: Toxicidade (incluindo determinação de toxicidade e mortalidade), Metamorfose (crescimento, tamanho e peso), Teratogênese (anomalias internas e externas).

Diante da classificação supracitada, formaram-se dois grupos de artigos: um grupo “genérico”, composto por artigos cujo conceito de agrotóxicos em anuro, apesar de citado, era um foco menor da publicação, pois não mencionavam nenhuma metodologia que testava o efeito dos agrotóxicos em anuro, mas analisavam os efeitos em espécimes advindos de área de cultivo (N = 154); e um grupo “específico” com referências a métodos testados para os efeitos relacionados (N = 64).

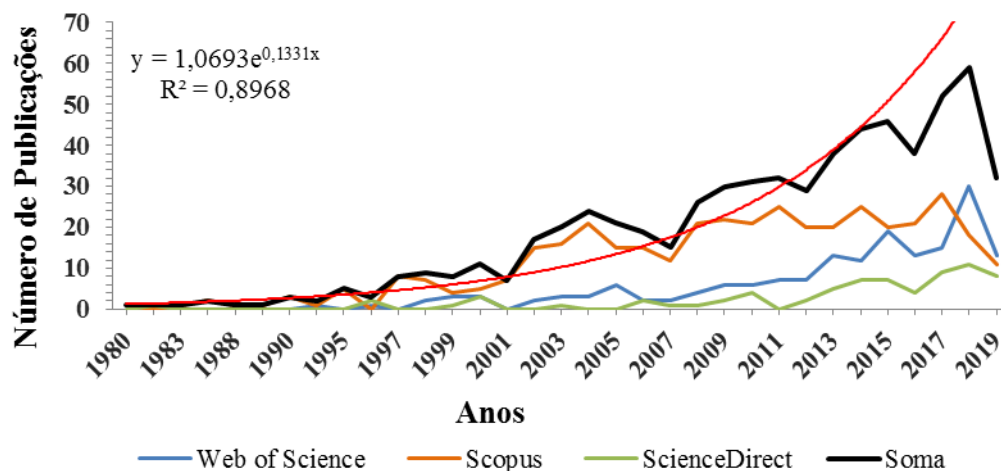
### **3. Resultados e Discussão**

Foram encontradas, 636 publicações indexadas nas três bases de dados, a maior parte das publicações 391 estava indexada apenas na base de dados Scopus (61,48%), 173 publicações na Web of Science (27,20%) e 72 das publicações foram registradas na base de ScienceDirect (11,32%). O primeiro trabalho relacionado ao tema foi publicado no ano de 1980, tratando da

exposição ao inseticida composto por endrin e toxafeno, de ovos e larvas de rã leopardo (*Lithobates pipiens*) no sul da América do Norte.

A Figura 2 demonstra o aumento no número de publicações envolvendo o uso de agrotóxicos e os efeitos desses compostos em espécies de anuros, comprovado pelo ajuste de modelo de regressão exponencial ( $R^2=0,90$ ).

**Figura 2** – Variação temporal no número total de publicações entre 1980 e agosto de 2019 com os termos *ecotoxicology*, *toxicity*, *insecticide*, *fungicide*, *herbicide*, *atrazine*, *carbaryl*, *glyphosate*, *endosulfan*, *pesticide*, *LC50* e *anuran*.



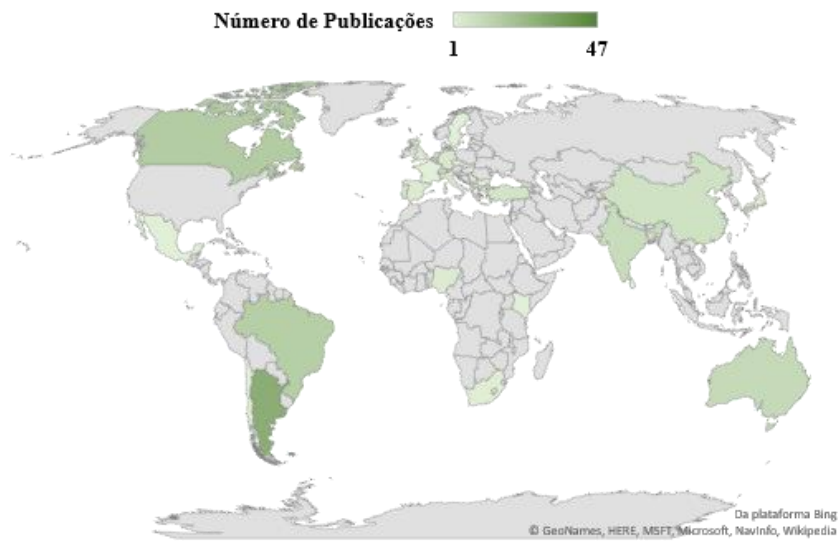
Fonte: Construção dos autores (2020).

A base de dados Scopus apresentou o maior número de publicação (61,64%) em comparação às bases Web of Science e ScienceDirect. Em relação ao aumento de publicações ao longo das décadas observou-se que o crescimento das publicações ocorreu de maneira mais significativa após as décadas de 2000 e 2014 com 44 publicações, em seguida temos os anos de 2015, 2017 e 2018 com 46, 52 e 59 publicações respectivamente. Para a ano de 2019 houve um decréscimo devido à inclusão dos meses de pesquisa o que ocorreu somente até o mês de agosto do respectivo ano.

Ao analisar a nacionalidade dos autores dos estudos selecionados, averiguou-se que o maior número de publicações, ou seja, 47 são de origem dos Estados Unidos da América. Estes valores foram seguidos pela Argentina, Canadá, Brasil e Austrália com 29, 16, 15 e 10 publicações respectivamente, conforme demonstrado na Figura 3.



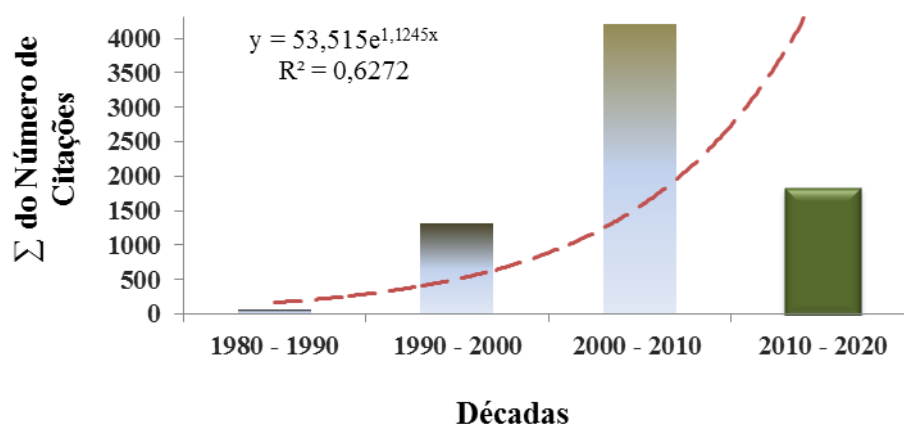
**Figura 3** - País de origem e número de artigos publicados.



Fonte: Construção dos autores (2020).

Em relação ao número de citações por publicação, 4,27% dos artigos possuem mais de 100 citações e 14,03% não possuem nenhuma citação. Entre os artigos mais citados observou-se que, em ordem cronológica crescente, os artigos foram publicados de acordo com os seguintes quantitativos: 1999: citado 437 vezes; 2004: citado 936 vezes; 2005: citado 213 vezes; 2008: citado 505 vezes; 2009: citados 651 vezes; e, 2011: citado 434 vezes (Figura 4).

**Figura 4** - Número de citações por ano com os termos *ecotoxicology*, *toxicity*, *insecticide*, *fungicide*, *herbicide*, *atrazine*, *carbaryl*, *glyphosate*, *endosulfan*, *pesticide*, *LC50* e *anuran*.



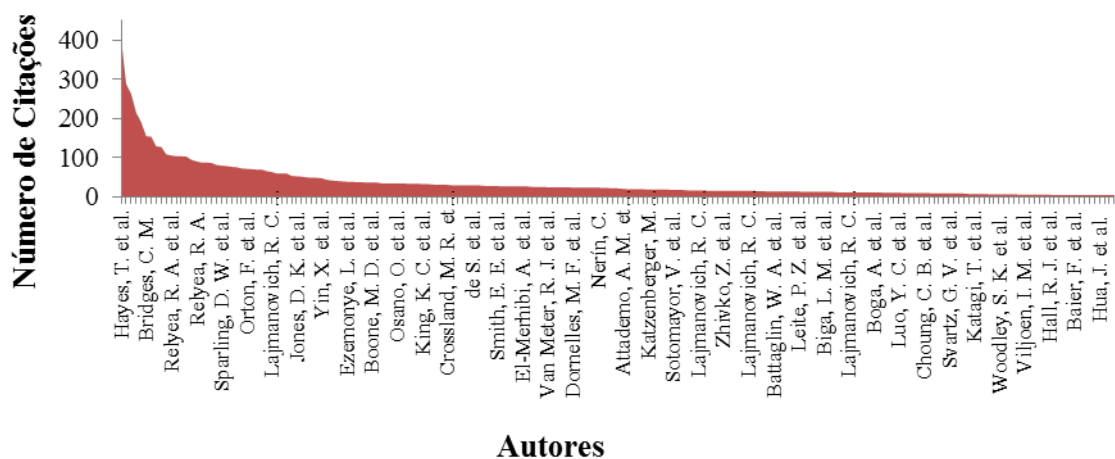
Fonte: Construção dos autores (2020).

Avaliando qual autor obteve mais citações sobre o tema, o autor estadunidense Tyrone Hayes, com artigo *Atrazine-induced hermaphroditism at 0.1 ppb in American leopard frogs (Rana*



*pipiens*): laboratory and field evidence, se destacou, seguido do autor Rick A. Relyea, com artigo Predator-Induced Stress Makes the Pesticide Carbaryl More Deadly to Gray Treefrog Tadpoles (*Hyla versicolor*) (Figura 5). Todos os autores aqui apresentados publicaram seus trabalhos em colaboração com outros autores, não havendo nenhuma publicação individual e foram considerados apenas os autores que tiveram no mínimo cinco publicações.

**Figura 5** - Número de artigos publicados pelos principais autores.



Fonte: Construção dos autores (2020).

A análise dos artigos compilados demonstrou que nos últimos anos um grande número de artigos evidenciou a problemática dos efeitos prejudiciais causados pelos agrotóxicos em vários organismos, utilizando diferentes sistemas de teste.

Porém até o final da década de 1980, pouco se publicava a respeito de contaminação ambiental associada a anfíbios. Somente a partir do ano de 1990, após o primeiro Congresso Mundial de Herpetologia em 1989, o número de publicações apresentou crescimento considerável devido à constatação do meio científico de alguns casos de extinção de populações de anfíbios e em função do declínio dos anfíbios associado a poluentes, incluindo os agrotóxicos (Lavilla, 2001).

A grande expansão agrícola, juntamente com o uso indiscriminado de agrotóxicos (Zhang, et al., 2011), despertou o interesse de muitos pesquisadores, a fim de descobrir o papel dos poluentes exercido sobre populações, comunidades e ecossistemas (Relyea & Hoverman, 2006), gerando um aumento substancial no número de publicações em relação a este tema.

A quantidade de publicações de estudos ecotoxicológicos cresceu nas de maneira significativa nas últimas décadas, principalmente a partir do momento em que ocorre a associação dos agrotóxicos como contribuintes potenciais no declínio das populações (Ghose, et al., 2014).

Estudos geram informações relacionadas aos efeitos que um determinado produto químico lançado no meio ambiente pode ter sobre indivíduos, populações e comunidades de organismos. Sendo assim, nos artigos examinados para este estudo, 29,36% dos trabalhos foram ecotoxicológicos com anfíbios anuros no período de 1980 a 2019. A crescente preocupação com os níveis de contaminação ambiental resultou em um ganho significativo nas publicações relacionadas sobre o assunto a partir dos anos 2000 (Relyea & HOVERMAN, 2006). A incerteza sobre os reais efeitos desses contaminantes sobre os anfíbios, assim como o declínio global de espécies, pode ter levado a um maior interesse de cientistas de várias nacionalidades a realizarem trabalhos sobre o tema (Bridges & Semlitsch, 2000).

Foram registrados dados para 102 espécies, distribuídas em 18 famílias e 48 gêneros entre os três grupos de anuros (sapo, rã e perereca). A família Hylidae foi mais estudada dentro das publicações, utilizadas em 25 estudos. Seguida da família Ranidae, presentes em 23 estudos, e Bufonidae estudada em 19 das publicações levantadas. Quatro espécies foram utilizadas em mais de uma publicação, com destaque para as espécies *Rhinella arenarum*, em 33,93% dos trabalhos, *Rana pipens* 24,57%, *Anaxyrus amrecicanus* e *Rana clamitans* com 21,06%.

As 102 espécies registradas nas publicações foram classificadas de acordo com sete categorias estabelecidas pela plataforma da Lista Vermelha de Espécies Ameaçadas da IUCN 20015-4, para expor uma visão geral do status atual das espécies.

As categorias são: DD (dados insuficientes), LC (preocupação menor) e NT (quase ameaçada), para espécies não ameaçadas, e VU (vulnerável), EN (ameaçada), CR (criticamente ameaçadas) para espécies ameaçadas. Os status das populações foram categorizados em: EA (Aumento), E (Estável), ED (Declínio) e D (Desconhecido).

A Figura 6 demonstra as espécies, categorias de ameaças e status das populações de anfíbios anura estudados nos trabalhos analisados.

**Figura 6** - Lista de espécies anuras utilizadas em estudos ecotoxicológicos nos trabalhos analisados, categorias de ameaças e status das populações de espécies.

Espécies estudadas					
<ul style="list-style-type: none"> <li>● <i>Discoglossus pictus</i></li> <li>▲ <i>Bombina bombina</i></li> <li>▲ <i>Bombina variegata</i></li> <li>■ <i>Duttaphrynus melanostictus</i></li> <li>● <i>Rhinella fernandezae</i></li> <li>▲ <i>Bufo viridis</i></li> <li>■ <i>Rhinella marina</i></li> <li>◆ <i>Rhinella diptycha</i></li> <li>◆ <i>Bufoles variabilis</i></li> <li>● <i>Anaxyrus terrestris</i></li> <li>● <i>Anaxyrus woodhousii</i></li> <li>◆ <i>Rhinella nattereri</i></li> <li>● <i>Sclerophrys regularis</i></li> <li>● <i>Ametophrynus maculatus</i></li> <li>● <i>Rhinella arenarum</i></li> <li>▲ <i>Anaxyrus americanus</i></li> <li>● <i>Bufo gargarizans</i></li> <li>● <i>Bufo bufo</i></li> <li>▲ <i>Anaxyrus boreas</i></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>● <i>Anaxyrus fowleri</i></li> <li>● <i>Polypedates megacephalus</i></li> <li>▲ <i>Calyptocephalella gayi</i></li> <li>▲ <i>Ceratophrys ornata</i></li> <li>◆ <i>Fejervarya multistriata</i></li> <li>● <i>Minervarya teraiensis</i></li> <li>▲ <i>Hoplobatrachus crassus</i></li> <li>● <i>Fejervarya limnocharis</i></li> <li>● <i>Euphlyctis cyanophlyctis</i></li> <li>▲ <i>Pseudacris triseriata</i></li> <li>● <i>Scinax squalirostris</i></li> <li>● <i>Hypsiboas pardalis</i></li> <li>● <i>Pseudacris crucifer</i></li> <li>◆ <i>Boana pulchella</i></li> <li>● <i>Lysapsus limellum</i></li> <li>● <i>Pleurodema tucumanum</i></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>● <i>Boana albopunctata</i></li> <li>▲ <i>Charadrahyla taeniopus</i></li> <li>▲ <i>Ecnomiophyla miotypanum</i></li> <li>● <i>Boana cordobae</i></li> <li>● <i>Hypsiboas pulchellus</i></li> <li>● <i>Pseudacris maculata</i></li> <li>● <i>Pseudis minuta</i></li> <li>■ <i>Acris blanchardi</i></li> <li>▲ <i>Hyla arborea</i></li> <li>● <i>Scinax nasicus</i></li> <li>● <i>Hyla intermedia</i></li> <li>● <i>Pseudacris regilla</i></li> <li>● <i>Litoria moorei</i></li> <li>● <i>Hyla chrysoscelis</i></li> <li>● <i>Hyla versicolor</i></li> <li>▲ <i>Hyperolius argus</i></li> <li>▲ <i>Kassina senegalensis</i></li> <li>● <i>Leptodactylus mystacinus</i></li> <li>● <i>Leptodactylus macrosternum</i></li> <li>● <i>Physalaemus biligonigerus</i></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>● <i>Leptodactylus latrans</i></li> <li>● <i>Leptodactylus latinasus</i></li> <li>● <i>Physalaemus gracilis</i></li> <li>● <i>Leptodactylus fuscus</i></li> <li>▲ <i>Physalaemus centralis</i></li> <li>● <i>Physalaemus cuvieri</i></li> <li>▲ <i>Leptodactylus chaquensis</i></li> <li>● <i>Limnodynastes maniensis</i></li> <li>● <i>Limnodynaste dorsalis</i></li> <li>■ <i>Limnodynastes peronii</i></li> <li>● <i>Limnodynastes tasmaniensis</i></li> <li>● <i>Limnodynastes fletcheri</i></li> <li>● <i>Dermatonotus muelleri</i></li> <li>● <i>Gastrophryne olivacea</i></li> <li>● <i>Microhyla ornata</i></li> <li>● <i>Scinax fuscovarius</i></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>● <i>Microhyla pulchra</i></li> <li>● <i>Crinia insignifera</i></li> <li>● <i>Crinia signifera</i></li> <li>● <i>Odontophrynus occidentalis</i></li> <li>▲ <i>Litoria raniformis</i></li> <li>● <i>Xenopus muelleri</i></li> <li>■ <i>Xenopus laevis</i></li> <li>● <i>Xenopus tropicalis</i></li> <li>■ <i>Lithobates catesbeianus</i></li> <li>● <i>Pelophylax perezii</i></li> <li>● <i>Lithobates sylvaticus</i></li> <li>■ <i>Pelophylax ridibundus</i></li> <li>▲ <i>Rana dalmatina</i></li> <li>▲ <i>Pelophylax bedriagae</i></li> <li>▲ <i>Rana chensinensis</i></li> <li>● <i>Nidirana adenopleura</i></li> <li>● <i>Rana arvalis</i></li> <li>● <i>Lithobates clamitans</i></li> <li>● <i>Acris crepitans</i></li> <li>◆ <i>Lithobates ssp.</i></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>● <i>Dendropsophus sanborni</i></li> <li>● <i>Dendropsophus minutus</i></li> <li>● <i>Lithobates sphenoccephalus</i></li> <li>● <i>Rana temporaria</i></li> <li>▲ <i>Rana boylei</i></li> <li>▲ <i>Lithobates pipiens</i></li> <li>● <i>Rana aurora</i></li> <li>▲ <i>Rana cascadae</i></li> <li>● <i>Polypedates cruciger</i></li> <li>◆ <i>Fejervarya sp</i></li> <li>◆ <i>Hyperoliidae</i></li> </ul>

Categorias de ameaça		Estado da População	
● DD = Dados insuficientes	■ EA = Aumentando	● E = Estável	▲ ED = Declínio
● LC = Preocupação menor	● VU = Vulnerável	◆ D = Desconhecido	
● NT = Quase ameaçada	● EN = Ameaçada		

Fonte: Construção dos autores (2020).

Nos 218 artigos analisados encontrou-se 42 tipos de agrotóxicos e suas formulações comerciais. As LC<sub>50</sub> (mg/L), foram determinadas a partir dos princípios ativos mais utilizados mundialmente em lavouras, pastagens, reflorestamentos entre outros, havendo um maior índice de utilização dos princípios ativos do herbicida glifosato e suas formulações comerciais e do inseticida endosulfan.

A Tabela 1 abaixo apresenta as LC<sub>50</sub> dos principais agrotóxicos utilizados nos testes laboratoriais, utilizando como modelo diversas espécies de anuros. Para tal apresentamos valores de médias para as LC<sub>50</sub> com exposição de 96-h onde é definida a toxicidade aguda.

**Tabela 1** - Valores Médios da Concentração Letal Média (LC<sub>50</sub> 4-dias) observada para as diferentes espécies de anuros.

Classe	Contaminante	LC <sub>50</sub> (mg/L)
Herbicida	Acetochlor	12,96 ± 4,32
Herbicida	Ametryn	28,67 ± 7,17
Herbicida	Atrazina	536,95 ± 76,70
Herbicida	Butachlor	1,85 ± 0,925
Inseticida	Carbaryl	4,5 ± 2,25
Inseticida	Chlorpyrifos	51,09 ± 12,77
Inseticida	Cypermethrin	211,65 ± 35,27
Inseticida	Diazinon	29,2 ± 14,6
Inseticida/Acaricida	Endosulfan	1795,54 ± 85,50
Herbicida	Glyphosate*	1179,78 ± 30,25
Inseticida	Malathion	476 ± 59,57
Herbicida	Metribuzin	153 ± 76,5
Herbicida	Paraquat	164,67 ± 82,33
Fungicida	Tebuconazole	1,96 ± 0,98
Herbicida	Trifluralin	30,96 ± 10,32

\*Os valores de glyphosate foram calculados no montante de todas as suas formulações comerciais apresentadas nos artigos analisados: FocusUtra, Credit, POEA, Roundup, Roundup Biactive, Roundup Transorb, Touchdown, UtraMax, Banvel, Glyfos AU, Glyfos BIO, Technical, Pivot.

Fonte: construção dos autores.

Dentre os agrotóxicos, os herbicidas foram às substâncias mais utilizadas em diferentes culturas agrícolas. Embora esses compostos químicos possuam aplicação específica para controle de plantas consideradas daninhas e sejam primariamente considerados pouco tóxicos a animais (Walker, 2005), diversos trabalhos vêm demonstrando os efeitos toxicológicos, carcinogênicos e até mutagênicos dos herbicidas sobre várias espécies de anuros.

### 3.1. Desenvolvimento alterado após exposição a agrotóxicos

Os resultados encontrados indicam que embora alguns agrotóxicos tenham o potencial de afetar diretamente as populações de anfíbios causando mortalidade, as concentrações encontradas no ambiente proveniente das aplicações em campos agrícolas, raramente são altas a ponto de vir a causar mortalidade em larga escala (Fellers, et al., 2004). No entanto estudos que examinam a toxicidade entre anfíbios geralmente observam e registram inúmeras manifestações de toxicidade subletal. Alguns desfechos, como teratogênese e desenvolvimento sexual anormal, foram estudados como resposta específica a ocorrência

generalizada, ou pelo menos a ocorrência percebida, de anormalidades nos membros e perturbações endócrinas entre populações.

Os efeitos registrados para aplicação dos testes de toxicidade subletal incluem crescimento (medido por massa e comprimento, geralmente entre girinos, mas também entre metamorfose recém-emergidos) e tempo para metamorfose.

Poucos estudos avaliaram os efeitos teratogênicos, devido à dificuldade de realizá-los em condições de campo (Peltzer, et al., 2011). Sendo assim a maioria dos estudos teratogênicos laboratoriais são baseados em concentrações de agrotóxicos, que excedem as concentrações encontradas em amostras de campo, e são geralmente limitados a estágios larvais. Portanto, malformações de membros não são frequentemente encontradas (Mann, et al., 2009).

Um dos principais métodos utilizados para avaliar os efeitos teratogênicos é o FETAX (Ensaio de teratogênese de embrião de rã - *Xenopus laevis*), que consiste em um bioensaio de curta duração (96 horas) usado para determinar o potencial teratogênico de produtos químicos (Albert, 1997). A avaliação dos efeitos teratogênicos no campo é importante para obter resultados de um quadro mais verdadeiro dos efeitos em longo prazo dos poluentes, uma vez que alguns estudos indicam que altas frequências de malformações em anuros ocorrem em locais agrícolas (Peltzer, et al., 2011).

### **3.2. Interações com o eixo tireoidiano**

Em anfíbios anuros, os hormônios da tireoide (TH) desempenham papel fundamental no desenvolvimento metamórfico, regulando diversos processos associados a modificações de órgãos e tecidos, durante as transformações que ocorrem na transição da fase larval para fase adulta (Furlow & Neff, 2006).

Nos artigos analisados uma grande variedade de produtos químicos demonstrou alterar o sistema tireoidiano em vertebrados, incluindo anfíbios, contudo, em anfíbios neotropicais, dados sobre a interrupção da sinalização da tireoide são escassos. Nos girinos, qualquer alteração no equilíbrio do TH causa mudanças estruturais e funcionais dramáticas, e ainda mudanças na morfologia larval (por exemplo, malformações de notocórdio, defeitos do coração e outros órgãos) (Miyata; Ose, 2012).

Exposição à substância exógena durante a pré-metamorfose pode resultar em metamorfose precoce (Helbing, et al., 1992). Por outro lado, a inibição dos hormônios da tireoide pode reduzir completamente a metamorfose (Gutleb, et al., 2007).

Vários agrotóxicos estão associados à inibição das atividades tireoidianas normais, incluindo perclorato (Hu, et al., 2006) nonifenol (Yang, et al., 2005), agrotóxicos organoclorados methoxychlor (FORT, et al., 2004) e os metabólitos de diclorodifeniltricloroetano (DDT) e diclorodifeniltricloroetano (DDE) (Yang, et al., 2005; Mortensen, et al., 2006). Por outro lado, alguns agrotóxicos parecem aumentar a atividade da tireoide. O acetoclor é um herbicida pré-emergente de cloroacetanilida que é conhecido por acelerar a metamorfose.

Lajmanovich, et al. (2019) avaliaram o TH em girinos de *Odontophrynus americanus* expostos a piriproxifeno (PPF) no valor de NOEC ( $0,1 \pm 15\%$  mg / L) no bioensaio de toxicidade crônica, mas esse grupo aparentemente não mostrou atraso na taxa de crescimento ou desenvolvimento.

Neste sentido Maharajan, et al. (2018) recomendam ao PPF, mais investigação para uma melhor compreensão sobre os potenciais mecanismos moleculares associados à interrupção da função da tireoide. Além disso, o PPF em embriões de vertebrados causa afinamento dos músculos do coração, edema pericárdico e hiperemia. Dessa forma, a atividade cardíaca nos girinos de *Lithobates catesbeianus* (rã-touro) tratados com PPF diminui as taxas de batimentos cardíacos (bradicardia), indicando que o PPF tem efeitos graves na atividade cardíaca do girino, sendo cardiotóxico.

Neste contexto, as altas atividades de glutathione S-transferase (GST) nas larvas tratadas com PPF reforçaram a insuficiência cardíaca, pois o estresse oxidativo está envolvido na insuficiência cardíaca. O PPF induz o estresse oxidativo aumentando a formação de espécies reativas de oxigênio (ERO) podendo estimular alguns efeitos tóxicos secundários nos níveis cardíaco e tecidual, como evidenciado, para o formaldeído em vertebrados, nos estudos realizados por (Costa, et al., 2015). Essa observação foi reforçada com a relação significativa entre as atividades do GST e a função cardíaca (frequência cardíaca e intervalo, respectivamente) nos tratamentos controle (CO) e PPF. A associação entre o alto custo energético para combater os efeitos deletérios deste agrotóxico. A indução de estresse oxidativo sugere que concentrações baixas de PPF podem ter um impacto no desempenho dos girinos, comprometendo sua sobrevivência por insuficiência cardíaca.

### **3.3 Outros mecanismos para crescimento e desenvolvimento prejudicados**

Dentre os estudos analisados alguns autores reportaram atraso na metamorfose e/ou no desenvolvimento em resposta à exposição de agrotóxicos (Teplitsky, et al., 2005). Neste contexto os inseticidas organofosforados e carbamatos incluem muitos dos produtos químicos mais comumente aplicados e agem através da inibição da acetilcolina esterase (AChE) (Venturino & Pechen, 2005) e tem o efeito de perturbar os sistemas neurológicos.

A exposição a essas classes de produtos químicos geralmente é medida como uma redução na atividade de ache, tanto em estudos que utilizam ensaios laboratoriais controlados (Richards & Kendall, 2002; El-Merhibi, et al., 2004; Colombo, et al., 2005; Venturino & Pechen, 2005; Wacksman, et al., 2006; Widder & Bidwell, 2006; Widder & Bidwell 2008; Henson-Ramsey, et al., 2008), quanto em experimentos com sapos coletados em campo (Sparling, et al., 2001; Lajmanovich, et al., 2004; Attademo, et al., 2007).

Os pesquisadores evidenciam que a toxicidade se manifesta como respostas comportamentais prejudicadas (Bridges, 1997, 1999b; Fordham, et al., 2001; Punzo, 2005; Widder & Bidwell, 2008), crescimento prejudicado (Metts, et al., 2005; Widder & Bidwell, 2008) e metamorfose tardia (Metts, et al., 2005; Boone, 2008); este último possivelmente como consequência da inibição de comportamentos alimentares (Bridges, 1999b), o que provavelmente impede crescimento e desenvolvimento. Alternativamente, o crescimento pode ser inibido porque a energia deve ser desviada para os mecanismos de desintoxicação (Durant, et al., 2007). Inúmeras vias de desintoxicação que exigem energia são iniciadas após a exposição a agrotóxicos (Venturino & Peche, 2005).

Embora os agrotóxicos anti-AChE estejam entre aqueles considerados amplamente investigados em relação aos anfíbios, e grande parte da literatura que descreve atrasos no desenvolvimento provavelmente envolve agrotóxicos organofosforados ou carbamatos. Alguns estudos relataram respostas comportamentais e de crescimento prejudicadas após a exposição a outras classes de agrotóxicos; em resposta a agrotóxicos piretróides (Materna, et al., 1995; Greulich & Pflugmacher, 2003) e ao fungicida fenpropimorfo (Teplitsk, et al., 2005).

### **3.4 Deformidades**

Os resultados encontrados nas pesquisas analisadas apontam que, uma das manifestações mais dramáticas de anomalias do desenvolvimento em anfíbios é a ocorrência



de malformações externas grosseiras, principalmente nos membros posteriores e nos dígitos. Os autores alertam para o fato de que, embora malformações dos dígitos, e em menor extensão dos membros, pareça ser uma ocorrência normal entre populações selvagens de sapos, as estimativas variam entre <1% (Gardiner & Hoppe, 1999) até 5% dos sapos (Stocum, 2000; Johnson, et al., 2001b; Schoff, et al., 2003; Eaton, et al., 2004; Piha, et al., 2006) - maior prevalência de malformações dos membros posteriores e dígitos foi relatada entre anfíbios coletados de regiões agrícolas (Linzey, et al., 2003; McCallum & Trauth, 2003; Taylor, et al., 2005; Gurushankara, et al., 2007).

vários agrotóxicos são teratogênicos para os anfíbios em desenvolvimento (Fort, et al., 1999b; Harris, et al., 2000; Vismara, et al., 2000, Vismara, et al., 2001; Kennedy & Sampath, 2001; Osano, et al., 2002a, 2002b ; Bonfanti, et al., 2004; Bridges, et al., 2004; Bacchetta, et al., 2008; Kang, et al., 2008; Lenkowski, et al., 2008; Sayim, 2008; Yoon, et al., 2008). no entanto, a maioria desses estudos relataram efeitos teratogênicos em concentrações de agrotóxicos que excedem os relatados em amostras de campo. Além disso, quase todos esses estudos limitam a avaliação aos estágios larvais e as malformações dos membros não são relatadas com frequência.

Exceções incluem o estudo de Bridges, et al. (2004), que relataram deformidades nos membros entre *Rana pipiens* expostas a uma mistura de atrazina (5 mg / L) e carbaril (5 mg / L) e Fort et al. (1999b) que relataram deformidades dos membros posteriores entre *Xenopus laevis* expostas a Maneb (200 mg / L).

Exames realizados em *Rhinella diptycha* no norte do estado de Mato Grosso mostraram através de resultados obtidos por exame do plasma sanguíneo, resíduos de endosulfan e outros agrotóxicos organoclorados, apresentando propriedades teratogênicas, resultando em uma avaliação que a ação conjunta e/ ou isolada de agrotóxicos tem provocado às malformações nos sapos-cururus (Moreira, et al., 2012).

Bernabò, et al., (2013) mostraram em sua pesquisa os efeitos de exposição e pós-exposição de uma concentração de endosulfan ambientalmente realista (200mg/L) em girinos de *Bufo bufo*, avaliando a mortalidade, incidência de deformidade e comportamento. Os autores evidenciaram que a exposição direta a curto prazo ao endosulfan não induziu à mortalidade em *B. bufo*, enquanto, após o término da entrada do agrotóxico, os girinos sofreram mortalidade significativa, o que confirma estudos anteriores realizados em Ranidae e Bufonidae (concentrações variando de 30 a 360 mg/L de endosulfan) (Berriel, et al., 1998; Jones, et al., 2009).

Outros estudos sugeriram que uma exposição de curto prazo a 200 mg/L de endosulfan não resulta em mortalidade, mas, essa concentração é suficiente para induzir comportamentos precoces como a metamorfose. Alterações comportamentais ocorrem sistematicamente ao longo do tempo em uma sequência específica: hiperatividade, agitação e torção do corpo, seguidas de repouso/paralisia (Bernabò, et al., 2013). Os efeitos do endosulfan podem ocorrer após a degradação do pesticida. Faz-se importante considerar os efeitos do atraso, apontando assim as limitações de um experimento de curto prazo.

### **3.5 Efeitos na diferenciação sexual**

Assim como é conhecido que vários produtos químicos afetam os eixos do hormônio tireoidiano e do estresse, muitos agrotóxicos também podem afetar a diferenciação sexual e/ou os níveis dos hormônios sexuais circulantes, estradiol e testosterona (Palmer, et al., 1998; Noriega & Hayes, 2000; Sower, et al., 2000; Bevan, et al., 2003; Cevasco, et al., 2008). Alteração de sexo e anormalidades gonodais são ocorrências de manifestações físicas de interrupções hormonais durante o processo de metamorfose. Harris, et al. (2000) encontraram esse tipo de alteração em rãs-leopardo recentemente metamorfoseadas (*Rana pipiens*) expostas a concentrações relativamente altas de mancozeb (0,08 mg/L) ou endosulfan (2,35 mg/L). Em ambos os casos, isso foi encontrado em 100% no sexo feminino, embora o tamanho da amostra fosse baixo.

No centro da atenção recente sobre o potencial de agrotóxicos como desreguladores endócrinos em anfíbios está a atrazina, um herbicida usado extensivamente na produção agrícola em todo o mundo. Há evidências de que a atrazina pode afetar adversamente a capacidade reprodutiva dos anuros (Tavera-Mendoza, et al., 2002a, 2002b; Hayes, et al., 2002, Hayes, et al., 2003; Oka, et al., 2008) e, em consequência, contribuir potencialmente para a diminuição dessa população.

A falta de estudos de bioacumulação em anuros, principalmente em áreas de alta biodiversidade, aumenta o déficit de conhecimento e de informação sobre processos de absorção, metabolismo e purificação de poluentes (Katagi & Ose, 2014) não apenas em espécies de anuros, mas também no ecossistema como um todo.

A compreensão de tais processos (absorção, metabolismo e purificação) é necessária para entender a relação entre exposição e os efeitos colaterais tóxicos. É importante que mais estudos ecotoxicológicos envolvendo agrotóxicos sejam realizados, principalmente em países onde esses produtos são mais utilizados.

É importante ressaltar que o campo da ecotoxicologia em anfíbios é muito amplo e cada trabalho que se concentra em um tipo específico de estudo contribui substancialmente para o crescimento da ciência, em termos de compreensão dos impactos de poluentes em ambientes naturais.

No entanto, nas análises realizadas neste estudo ficou evidenciado que a maioria das pesquisas envolvendo a ecotoxicologia estão focados em poucos poluentes, haja vista que mais de 4,6 milhões de toneladas de agrotóxicos são pulverizados anualmente no meio ambiente, sendo que há mais de 500 agrotóxicos com aplicações em massa, dentre esses incluindo muitos do tipo organoclorados.

Esses índices são bastante preocupantes uma vez que, da quantidade de agrotóxico aplicada, apenas cerca de 1% atinge o alvo desejado alcançando o objetivo de atingir e eliminar as pragas. Como consequência, qualquer quantidade do agrotóxico que não atinja o alvo não terá o efeito desejado e representará uma forma de perda, bem como, uma fonte de contaminação ambiental, já que os 99% restantes são liberados em solos, corpo d'água e atmosfera (Sabik, et al., 2000; Spadotto, 2006; Zhang et al., 2011; Brum, et al., 2020).

### **3.6 Concentrações Letais Médias (LC<sub>50</sub>) em estudos ecotoxicológicos em anuros**

Diversos trabalhos já foram realizados com testes de toxicidade aguda em organismos vivos devido à importância de se conhecer os efeitos dos compostos químicos em contexto ecológico. Neste trabalho observamos que a minoria dos estudos que apresentou LC<sub>50</sub> avaliaram compostos orgânicos sintéticos (por exemplo, inseticidas, herbicidas, fungicidas).

Entre os compostos orgânicos, os mais estudados foram os inseticidas, seguidos por herbicidas, havendo poucos estudos sobre fungicidas. Os resultados encontrados neste estudo são semelhantes aos observados por Relyea & Hoverman, (2006) em uma revisão sobre os efeitos ecológicos dos agrotóxicos.

Os herbicidas apareceram como um dos agrotóxicos mais utilizados nas pesquisas ecotoxicológicas, seguidos por inseticidas e fungicidas (Donaldson, et al., 2002; Zhang, et al., 2011). Porém, um estudo de meta-análise realizado por Ghose, et al., (2014) demonstrou que os nematicidas e fungicidas podem ser mais tóxicos do que os herbicidas, e, no entanto, são aqueles que recebem menos atenção da pesquisa.

A LC<sub>50</sub> é o método utilizado para estimar o perigo toxicológico de qualquer substância em organismos, e é geralmente verificada através de experimentos de curta duração (entre 1 a

4 dias de exposição), a fim de gerar curvas de dose-resposta (Hammond, et al., 2012). A  $LC_{50}$  é determinada para compostos orgânicos e inorgânicos.

Os testes da  $LC_{50}$  geralmente se concentram em alguns “organismos modelo” (por exemplo, *Daphnia* [Cladocera: Brachiopoda], *Lithobates* [Amphibia: Anura]) como parte do processo para tentar identificar as espécies mais sensíveis dentro de cada grupo (CHIARI, et al., 2015). Verificou-se neste estudo que apenas 41 espécies de anuros pertencentes a 13 famílias e 27 gêneros foram utilizadas nos experimentos de  $LC_{50}$ .

Tendo por base os valores de  $LC_{50}$  4 dias obtidos nos estudos, observou-se a possibilidade de ocorrer uma grande variação interespecífica na sensibilidade das espécies. Por exemplo, para o herbicida atrazina, a  $LC_{50}$  4 dias variou de 0,23mg / L na espécie *Ptychadena bibroni* (Ezemonye & Tongo, 2009) a 126 mg / L em *Xenopus laevis* (Morgan, et al., 1996). Para o inseticida endosulfan, o  $LC_{50}$  4-dias variou de 0,0005 mg / L para *Rana boylii* (Ezemonye & Isioma, 2010) a 120 mg / L para a *Pseudacris crucifera* (JONES, et al., 2009).

Hammond, et al., (2012), avaliaram as diferenças nas sensibilidades contra o inseticida endosulfan, entre as famílias Ranidae, Bufonidae e Hylidae, através da primeira análise filogenética de 15 espécies. Eles concluíram que a família Ranidae foi a mais sensível, seguida por Hylidae e Bufonidae (Hammond, et al., 2012).

Nos artigos analisados também pode-se observar que vários estudos testaram o efeito do glifosato sobre a população de anfíbio. O glifosato causou malformação em anuros tanto na fase de embrião como girinos, inibições dos hormônios relacionados às glândulas tireoide, defeitos anatômicos craniofaciais, malformações de órgãos bem como no formato dos olhos e enrolamento intestinal (Bach, et al., 2018; Carvalho, et al., 2019).

O glifosato é um herbicida de baixa toxicidade aguda, amplamente utilizada no controle de pragas, principalmente nas culturas de soja geneticamente modificadas. Porém este herbicida é capaz de causar danos ao DNA e age como uma cascata genética crítica para o desenvolvimento do cérebro e esqueleto craniofacial. Portanto, está correlacionado com a interrupção dos mecanismos de desenvolvimento envolvendo a crista neural, a formação da linha média dorsal embrionária e com o padrão cefálico. Desta forma este tipo de alteração pode ocasionar malformações oculares, cerebrais e faciais, como alterações mandibulares, além de alterações caudais (Paganelli, et al., 2010).

Neste sentido, diferenças nas sensibilidades foram corroboradas para algumas famílias, em comparação com um tipo específico de contaminante. No entanto, esta informação não pode ser verificada para outras famílias, devido à ausência de estudos que permitam a comparação. Dessa forma, tendo em vista as limitações que podem influenciar a

toxicidade dos poluentes e, conseqüentemente, a sensibilidade dos organismos, os estudos da LC<sub>50</sub> são essenciais para avaliar os efeitos dos poluentes e até mesmo permitir a criação e aplicação de estratégias de conservação.

Embora seja difícil extrapolar esses efeitos de suborganismos para medidas relacionadas ao condicionamento físico em indivíduos e respostas no nível da população, eles oferecem informações sobre possíveis mecanismos subjacentes à toxicidade direta aguda e crônica.

#### **4. Considerações Finais**

Os resultados encontrados nas análises realizadas nos artigos investigados neste estudo fornecem suporte para hipótese de que os agrotóxicos causam efeitos deletérios à população de anuros e, associados a outros fatores podem provocar o declínio dessa população.

Dentre os artigos analisados, em várias categorizações, pôde-se observar respostas diferentes de acordo com o sistema de teste, o grupo de animais testados e o tipo de célula analisada. Para todas as espécies analisadas os resultados foram significativos para os efeitos desses princípios ativos sobre a população, toxicidade (incluindo determinação de toxicidade e mortalidade), metamorfose (crescimento, tamanho e peso), teratogênese (anomalias internas e externas).

Testes em laboratório utilizando o fungicida mancozeb e o inseticida endosulfan sugerem que esses agrotóxicos estejam relacionados a feminilização dos organismos expostos, assim como estudos com o herbicida glifosato e suas formulações apresentaram aumento na formação de micronúcleos.

Esses agrotóxicos são capazes de prejudicar a metamorfose comprometendo a sobrevivência, capacidade de forrageamento, fuga de predadores, como também causam graves danos no desenvolvimento de células germinativas nos testículos, tendo efeito negativo na espermatogênese, o que diminui a possibilidade de sucesso reprodutivo, e, portanto, contribui para possíveis extinções das populações de anfíbios.

A análise identificou algumas necessidades-chave para pesquisas futuras, em particular que pesquisadores forneçam mais detalhes dos protocolos e resultados experimentais tais como, toxicidade aguda e genotoxicidade dos agrotóxicos e ampliem a gama dos contaminantes testados para fungicidas e desfolhantes. Estes dados podem aumentar o entendimento dos efeitos de múltiplos estressores e facilitam o estabelecimento da importância ecológica de estudos ecotoxicológicos para o monitoramento ambiental.

## Agradecimentos

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa DS, ao Projeto Erosão da Biodiversidade na Bacia do Alto Paraguai: Impactos do Uso da Terra na Estrutura da Vegetação e Comunidade de Vertebrados Terrestres e Aquáticos. Edital Redes de Pesquisa em Mato Grosso Nº 037/2016/Fapemat e a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Mato Grosso (FAPEMAT), pelo financiamento da pesquisa.

## Referências

Albert, L. A. Compuestos orgánicos persistentes En Albert, L. A. (1997). Introducción a la toxicología ambiental. ECO/OPS/OMS. *Metepac*, México, 334–358.

Almeida, P. R. (2014). Toxicidade aguda (LC50) e efeitos comportamentais e morfológicos do formulado comercial Roundup Original DI em girinos de *Physalaemus cuvieri* (anura, Leptodactylidae) e *Rhinella icterica* (anura, Bufonidae). Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia Ambiental), Universidade Federal de Alfenas – Poços de Calda, MG.

Arcaute, C. R., Pérez-Iglesias, J. M., Nikoloff, N., Natale, G. S., Natale, S., Soloneski, S., Larramendy, M. L. (2014). Genotoxicity evaluation of the insecticide imidacloprid on circulating blood cells of Montevideo tree frog *Hypsiboas pulchellus* tadpoles (Anura, Hylidae) by comet and micronucleus bioassays *C. Ecological Indicators*, 45, 632–639.

Attademo, A. M., Peltzer, P. M., Lajmanovich, R. C., Cabagna, M., Fiorenza, G. (2007). Plasma B-esterase and glutathione S-transferase activity in the toad *Chaunus schneideri* (Amphibia, Anura) inhabiting rice agroecosystems of Argentina. *Ecotoxicology*, 16, 533–539.

Bacchetta, R., Mantecca, P., Andrioletti, M., Vismara, C., Vailati, G. (2008). Axial-skeletal defects caused by carbaryl in *Xenopus laevis* embryos. *Science of the Total Environment*, 392, 110–118.

Bach, N. C., Marino, D. J. G., Natale, G. S., Somoza, G. M. (2018). Effects of glyphosate and its commercial formulation, Roundup® Ultramax, on liver histology of tadpoles of the neotropical frog, *Leptodactylus latrans* (Amphibia:Anura). *Chemosphere*, 202, 289–297.

Beiswenger, R. E. (1988). Integrating anuran amphibian species into environmental assessment programs, p.159-165. In: Szaro, R.C., Severson, K.E. & D.R. Patton (Eds). *Management of Amphibians, Reptiles, and Small Mammals in North America: Proceedings of the Symposium*. Arizona, USDA Forest Service, General Technical Report RM-166, 458.

Bernabò, I., Bonacci, A., Coscarelli, F., Tripepi, M., Brunelli, E. (2013). Effects of salinity stress on *Bufo balearicus* and *Bufo bufo* tadpoles: Tolerance, morphological gill alterations and Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase localization. *Aquatic Toxicology*, 132(133), 119–133.

Berrill, M., Coulson, D., McGillivray, L., Pauli, B. (1998). Toxicity of endosulfan to aquatic stages of anuran amphibians. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 17, 1738–1744.

Bevan, C. L., Porter, D. M., Prasad, A., Howard, M. J., Henderson, L. P. (2003). Environmental estrogens alter early development in *Xenopus laevis*. *Environmental Health Perspectives*, 111 (4), 488–496.

Bonfanti, P., Colombo, A., Orsi, F.; Nizzetto, I., Andrioletti, M., Bacchetta, R., Mantecca, P., Fascio, U., Vailati, G., Vismara, C. (2004). Comparative teratogenicity of chlorpyrifos and malathion on *Xenopus laevis* development. *Aquatic Toxicology*, 70 (3), 189–200.

Boone, M. D. (2008). Examining the single and interactive effects of three insecticides on amphibian metamorphosis. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 27 (7), 1561–1568.

Bridges, C. M. (1999b) Predator–prey interactions between two amphibian species: effects of insecticide exposure. *Aquatic Ecology*, 33, 205–211.

Bridges, C. M., Semlitsch, R. D. (2000). Variation in pesticide tolerance of tadpoles among and within species of Ranidae and patterns of amphibian decline. *Conservation Biology*, 14 (5), 1490–1499.



Bridges, C., Little, E., Gardiner, D., Petty, J., Huckins, J. (2004). Assessing the toxicity and teratogenicity of pond water in north-central Minnesota to amphibians. *Environmental Science and Pollution Research*, 11 (4), 233–239.

Brum, B.R., D'Ávila R.S., Sguarezi, S.B., Santos-Filho, M. & Ignácio, A.R.A. (2020). Temporal analysis of the use of birds, as environmental sentinels in the monitoring of contamination by pesticides. *Research, Society and Development*, 9(7): 1-26, e752974807.

Carvalho, W. F., De Arcaute, C. R., Pérez-Iglesias, J. M., Laborde, M. R. R.; Soloneski, S., Larramendy, M. L. (2019). DNA damage exerted by mixtures of commercial formulations of glyphosate and imazethapyr herbicides in *Rhinella arenarum* (Anura, Bufonidae) tadpoles. *Ecotoxicology*, 28 (3), 367-377.

Cevasco, A., Urbatzka, R., Bottero, S., Massari, A., Pedemonte, F., Kloas, W., Mandich, A. (2008). Endocrine disrupting chemicals (EDC) with (anti)estrogenic and (anti)androgenic modes of action affecting reproductive biology of *Xenopus laevis*: II. Effects on gonad histomorphology. *Comparative Biochemistry and Physiology C Toxicology and Pharmacology*, 147 (2), 241–251.

Chiari, Y., Glaberman, S., Serén, N., Carretero, M. A., Capellini, I. (2015). Phylogenetic signal in amphibian sensitivity to copper sulfate relative to experimental temperature. *Ecological Applications*, 25 (3), 596–602.

Collins, J. P., Storfer, A. (2003). Global amphibian declines: sorting the hypotheses. *Diversity and Distributions*, 9 (2), 89-98.

Colombo, A., Orsi, F., Bonfanti, P. (2005). Exposure to the organophosphorus pesticide chlorpyrifos inhibits acetylcholinesterase activity and affects muscular integrity in *Xenopus laevis* larvae. *Chemosphere*, 61 (11), 1665–1671.

Cooper, C. M. (1993). Biological effects of agriculturally derived surface-water pollutants on aquatic systems: a review. *Journal of Environmental Quality*, 22 (3), 392–402.

Costa, M. J., Ribeiro, L. R., Salla, R. F., Gamero, F. U., Alves, L. M. L. M., Silva Zacarin, E. C. M. (2015). Effects of the organophosphorus pesticide Folisuper 600 (methyl parathion) on the heart function of bullfrog tadpoles, *Lithobates catesbeianus* (Shaw, 1802). *Brazilian Journal of Biology*, 75 (4), 163-168.

Donaldson, D., Kiely, T., Grube, A. (2002). Pesticide industry sales and usage. EPA United States Environmental Protection Agency, *Market Estimates*, 733.

DuRant, S. E., Hopkins, W. A., Talent, L. G. (2007). Energy acquisition and allocation in an ectothermic predator exposed to a common environmental stressor. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C Toxicology & Pharmacology*, 145 (3), 442–448.

Eaton, B. R., Eaves, S., Stevens, C., Puchniak, A., Paszkowski, C.A. (2004). Deformity levels in wild populations of the wood frog (*Rana sylvatica*) in three ecoregions of western Canada. *Journal of Herpetology*, 38 (2), 283–287.

El-Merhibi, A., Kumar, A., Smeaton, T. (2004). Role of piperonyl butoxide in the toxicity of chlorpyrifos to *Ceriodaphnia dubia* and *Xenopus laevis*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 57 (2), 202–212.

Ezemonye L. I. N., Isioma, T. (2010). Acute toxic effects of Endosulfan and Diazinon pesticides on adult amphibians (*Bufo regularis*). *Journal of Environmental Chemistry and Ecotoxicology*, 2(5), 73–78.

Ezemonye L. I. N., Tongo, I. (2009). Lethal and Sublethal Effects of Atrazine to Amphibian Larvae. *Jordan Journal of Biological Sciences*, 2(1), 29–36.

Fellers, G. M., Mcconnell, L. L., Pratt, D., Datta, S. (2004). Pesticides in mountain yellow-legged frogs (*Rana muscosa*) from the Sierra Nevada mountains of California, USA. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 23(9), 2170–2177.

Fordham, C. L., Tessari, J. D., Ramsdell, H. S., Keefe, T. J. (2001). Effects of malathion on survival, growth, development, and equilibrium posture of bullfrog tadpoles (*Rana catesbeiana*). *Environmental Toxicology and Chemistry*, 20(1), 179–184.

Fort, D. J., Guiney, P. D., Weeks, J. A., Thomas, J. H., Rogers, R. L., Noll, A. M., Spaulding, C. D. (2004). Effect of Methoxychlor on Various Life Stages of *Xenopus laevis*. *Toxicological Sciences*, 81(2), 454–466.

Fort, D. J., Rogers, R. L., Copley, H. F., Bruning, L. A., Stover, E. L., Helgen, J. C., Burkhart, J. G. (1999b). Progress toward identifying causes of maldevelopment induced in *Xenopus* by pond water and sediment extracts from Minnesota, USA. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 18(10), 2316–2324.

Furlow, J. D., Neff, E. S. (2006). A developmental switch induced by thyroid hormone: *Xenopus laevis* metamorphosis. *Trends in Endocrinology and Metabolism*, 17(2), 40–47.

Gardiner, D. M., Hoppe, D. M. (1999). Environmentally induced limb malformations in mink frogs (*Rana septentrionalis*). *Journal of Experimental Zoology*, 284(2), 207–216.

Ghose, S. L., Donell, M. A., Kerby, J., Whitfield, S. M. (2014). Acute toxicity tests and meta-analysis identify gaps in tropical ecotoxicology for amphibians. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 33(9), 2114–2119.

Greulich, K., Pflugmacher, S. (2003). Differences in susceptibility of various life stages of amphibians to pesticide exposure. *Aquatic Toxicology*, 65(3), 329–336.

Gurushankara, H. P., Krishnamurthy, S. V., Vasudev, V. (2007). Morphological abnormalities in natural populations of common frogs inhabiting agroecosystems of central Western Ghats. *Applied Herpetology*, 4(1), 39–45.

Gutleb, A. C., Schriks, M., Mossink, L., Van Den Berg, J. H. J., Murk, A. J. (2007). A synchronized amphibian metamorphosis assay as an improved tool to detect thyroid hormone disturbance by endocrine disruptors and apolar sediment extracts. *Chemosphere*, 70(1), 93–100.

Hammond, J. I., Jones, D. K., Stephens, P. R., Relyea, R. A. (2012). Phylogeny meets ecotoxicology: evolutionary patterns of sensitivity to a common insecticide. *Evolutionary Applications*, 5(6), 593–606.

Harris, M. L., Chora, L., Bishop, C. A., Bogart, J. P. (2000). Species- and age-related differences in susceptibility to pesticide exposure for two amphibians, *Rana pipiens*, and *Bufo americanus*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 64(2), 263–270.

Hayes, T. B., Collins, A., Lee, M., Mendoza, M., Noriega, N., Stuart, A. A., Vonk, A. (2002). Hermaphroditic, demasculinized frogs after exposure to the herbicide atrazine at low ecologically relevant doses. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99(8), 5476–5480.

Hayes, T. B., Haston, K., Tsui, M., Hoang, A., Haeffele, C., Vonk, A. (2003). Atrazine-induced hermaphroditism at 0.1 ppb in American leopard frogs (*Rana pipiens*): laboratory and field evidence. *Environmental Health Perspectives*, 111(4), 568–575.

Hayes, T. B., Khoury, V., Narayan, A., Nazir, M., Park, A., Brown, T., Adame, L., Chan, E., Buchholz, D., Stueve, T., Gallipeau, S. (2010). Atrazine induces complete feminization and chemical castration in male African clawed frogs (*Xenopus laevis*). *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(10), 4612–4617.

Hayes, T. B., Stuart, A. A., Mendoza, M., Collins, A., Noriega, N., Vonk, A., Johnston, G., Liu, R., Kpodzo, D. (2006). Characterization of atrazine-induced gonadal malformations in African clawed frogs (*Xenopus laevis*) and comparisons with effects of an androgen antagonist (cyproterone acetate) and exogenous estrogen (17 $\beta$ -estradiol): Support for the demasculinization/feminization hypothesis. *Environ Health Perspect*, 114(1), 134–141.

Helbing, C. C., Gergely, G., Atkinson, B. G. (1992). Sequential up-regulation of thyroid hormone  $\beta$  receptor, ornithine transcarbamylase and carbamyl phosphate synthetase mRNAs in the liver of *Rana catesbeiana* tadpoles during spontaneous and thyroid hormone-induced metamorphosis. *Developmental Genetics*, 13(4), 289–301.

Henson-Ramsey, H., Kennedy-Stoskopf, S., Levine, J. F., Taylor, S. K., Shea, D., Stoskopf, M. K. (2008). Acute toxicity and tissue distributions of malathion in *Ambystoma tigrinum*. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 55(3), 481–487.

Hu, F., Sharma, B., Mukhi, S., Patino, R., Carr, J. A. (2006). The colloidal thyroxine (T<sub>4</sub>) ring as a novel biomarker of perchlorate exposure in the African clawed frog *Xenopus laevis*. *Toxicological Sciences*, n. 93(2), 268–277.

Johnson, P. T. J., Lunde, K. B., Ritchie, E. G., Reaser, J. K., Launer, A. E. (2001b). Morphological abnormality patterns in a California amphibian community. *Herpetologica*, 57(3), 336–352.

Jones, D. K., Hammond, J. I., Relyea, R. A. (2009). Very highly toxic effects of endosulfan across nine species of tadpoles: lag effects and family-level sensitivity. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 28(9), 1939–1945.

Kang, H. S., Gye, M. C., Kim, M. K. (2008). Effects of endosulfan on survival and development of *Bombina orientalis* (boulenger) embryos. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 81(3), 262–265.

Katagi, T., Ose, K. (2014). Bioconcentration and metabolism of pesticides and industrial chemicals in the frog. *Journal of Pesticide Science*, 39(2), 55–68.

Kennedy, I. J., Sampath, K. (2001). Short-term and long-term survival studies in *Rana tigrina* tadpoles with reference to methyl parathion toxicity. *Journal of Environmental Biology*, 22(4), 267–271.

Lajmanovich, R. C., Sanchez-Hernandez, J. C., Stringhini, G., Peltzer, P. M. (2004). Levels of serum cholinesterase activity in the rococo toad (*Bufo paracnemis*) in agrosystems of Argentina. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 72(3), 586–591

Lajmanovich, R. C., Cabagna-Zenklusen, M. C., Attademo, A. M., Junges, C. M., Peltzer, P. M.; Bassó, A., Lorenzatti, E. (2014). Induction of micronuclei and nuclear abnormalities in tadpoles of the common toad (*Rhinella arenarum*) treated with the herbicides Liberty® and

glufosinate-ammonium. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 769, 7–12.

Lajmanovich, R. C., Peltzer, P. M., Attademo, A. M., Martinuzzi, C. S., Simoniello, M. F., Colussi, C. L., Boccioni, A. P. C., Sigrist, M. (2019). First evaluation of novel potential synergistic effects of glyphosate and arsenic mixture on *Rhinella arenarum* (Anura: Bufonidae) tadpoles. *Heliyon*, 5(10), 02601.

Lavilla, E. O. (2001). Amenazas, declinaciones poblaciones y extinciones en anfibios Argentinos. *Cuaderno de Hepetología*, 15(1), 59–82.

Lenkowski, J. R., Reed, J. M., Deininger, L., Mclaughlin, K. A. (2008). Perturbation of organogenesis by the herbicide atrazine in the amphibian *Xenopus laevis*. *Environmental Health Perspectives*, 116(2), 223–230.

Linzey, D. W., Burroughs, J., Hudson, L., Marini, M., Robertson, J., Bacon, J. P., Nagarkatti, M., Nagarkatti, P. S. (2003). Role of environmental pollutants on immune functions, parasitic infections and limb malformations in marine toads and whistling frogs from Bermuda. *International Journal of Environmental Health Research*, 13(2), 125–148.

Maharajan, K., Muthulakshmi, S., Nataraj, B., Ramesh, M., Kadirvelu, K. (2018). Toxicity assessment of pyriproxyfen in vertebrate model zebrafish embryos (*Danio rerio*): A multi biomarker study. *Aquatic Toxicology*, 196, 132–145.

Mann, R. M., Hyne, R. V., Choung, C. B., Wilson, S. P. (2009). Amphibians and agricultural chemicals: Review of the risks in a complex environment. *Environmental Pollution*, 157(11), 2903–2927.

Materna, E. J., Rabeni, C. F., Lapoint, T. W. (1995). Effects of the synthetic pyrethroid insecticide, esfenvalerate, on larval leopard frogs (*Rana* spp.). *Environmental Toxicology and Chemistry*, 14(4), 613–622.

McCain, K. (1990). Mapping Authors in Intellectual Space: A Technical Overview. *Journal of the American Society for Information Science*, 41(6), 433–443.

McCallum, M. L., Trauth, S. E. (2003). A forty-three year museum study of northern cricket frog (*Acris crepitans*) abnormalities in Arkansas: upward trends and distributions. *Journal of Wildlife Diseases*, 39(2), 522–528.

Metts, B. S., Hopkins, W. A., Nestor, J. P. (2005). Interaction of an insecticide with larval density in pond-breeding salamanders (*Ambystoma*). *Freshwater Biology*, 50(4), 685–696.

Miyata, K., Ose, K. (2012). Thyroid Hormone-disrupting Effects and the Amphibian Metamorphosis Assay. *Journal of Toxicologic Pathology*, 25(1), 1–9.

Moreira, J. C., Peres, F., Simões, A. C., Pignati, W. A., Dores, E. De C., Vieira, S. N., Strüssmann, C. Mott, T. (2012). Contaminação de águas superficiais e de chuva por agrotóxicos em uma região do estado do Mato Grosso. *Ciência & Saúde Coletiva*, 17(6), 1557–1568.

Morgan, M. K., Scheuerman, P. R., Bishop, C. S., Pyles, R. A. (1996). Teratogenic potential of atrazine and 2,4-D using FETAX. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 48(2), 151–168.

Moron, S. E., Polez, V. L. P., Artoni, R. F., Ribas, J. L. C., Takahashi, H. K. (2006). Estudo de Alterações na Concentração dos Íons Plasmáticos e da Indução de Micronúcleos em *Piaractus mesopotamicus* Exposto ao Herbicida Atrazina. *Journal of the brazilian society of ecotoxicology*, 1(1), 27-30.

Mortensen, A. S., Kortner, T. M., Arukwe, A. (2006). Thyroid hormone-dependent gene expression as a biomarker of short-term 1,1-dichloro-2,2- bis(p-chlorophenyl) ethylene (DDE) exposure in European common frog (*Rana temporaria*) tadpoles. *Biomarkers*, 11(6), 524–537.

Noriega, N. C., Hayes, T. B. (2000). DDT congener effects on secondary sex coloration in the reed frog *Hyperolius argus*: a partial evaluation of the *Hyperolius argus* endocrine screen. *Comparative Biochemistry and Physiology B-Biochemistry & Molecular Biology*, 126(2), 231–237.



Ochoa, X., Suthers, D., Verbert, K., Duval, E. (2014). Analysis and Reflections on the Third Learning Analytics and Knowledge Conference (LAK 2013). *Journal of Learning Analytics*, 1(2), 5–22.

Oka, T., Tooi, O., Mitsui, N., Miyahara, M., Ohnishi, Y., Takase, M., Kashiwagi, A., Santo, N., Iguchi, T. (2008). Effect of atrazine on metamorphosis and sexual differentiation in *Xenopus laevis*. *Aquatic Toxicology*, 87(4), 215–226.

Osano, O., Admiraal, W., Otieno, D. (2002a). Developmental disorders in embryos of the frog *Xenopus laevis* induced by chloroacetanilide herbicides and their degradation products. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 21(2), 375–379.

Osano, O., Oladimeji, A. A., Kraak, M. H. S., Admiraal, W. (2002b). Teratogenic effects of amitraz, 2,4-dimethylaniline, and paraquat on developing frog (*Xenopus*) embryos. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 43(1), 42–49.

Paganelli, A., Gnazzo, V., Acosta, H., Lopez, S. L., Carrasco, A. E. (2010). Glyphosate based herbicides produce teratogenic effects on vertebrates by impairing retinoic acid signaling. *Chemical Research in Toxicology*, 23(10), 1586–1595.

Palmer, B. D., Huth, L. K., Pieto, D. L., Selcer, K. W. (1998). Vitellogenin as a biomarker for xenobiotic estrogens in an amphibian model system. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 17(1), 30–36.

Peltzer, M. P., Lajmanovich, R. C., Sanchez, L. C., Attademo, A. M., Junges, C. M., Bionda, C. L., Martino, A. L., Bassó, A. (2001). Morphological abnormalities in amphibian populations from the mid-eastern region of Argentina. *Herpetological Conservation and Biology*, 6(3), 432–442.

Pérez-Iglesias, J. M., Soloneski, S., Nikoloff, N., Natale, G. S., Larramendy, M. L. (2015). Toxic and genotoxic effects of the imazethapyr-based herbicide formulation Pivot H® on montevideo tree frog *Hypsiboas pulchellus* tadpoles (Anura, Hylidae). *Ecotoxicol and Environ Saf*, 119, 15–24.

- Perkins, P. J., Boermans, H. J., Stephensen, G. R. (2000). Toxicity of glyphosate and triclopyr using the frog embryo teratogenesis assay-Xenopus. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 19(4), 940-945.
- Piha, H., Pekkonen, M., Merila, J. (2006). Morphological abnormalities in amphibians in agricultural habitats: a case study of the common frog *Rana temporaria*. *Copeia*, 4, 810–817.
- Punzo, F. (2005). Effects of insecticide (carbaryl) exposure on activity and swimming performance of tadpoles of the Rio Grande leopard frog, *Rana berlandieri* (Anura: Ranidae). *Texas Journal of Science*, 57(3), 263–272.
- Raan, V. A. F. J. (1997). Scientometrics: State-of-the-art. *Scientometrics*, 38(1), 205–218.
- Reeves, R. A. (2014). Amphibian stress, survival, and habitat quality in restored agricultural wetlands in central Iowa. Dissertations, (Ecology and Evolutionary Biology Commons, and the Natural Resources and Conservation Commons) Iowa State University State University Ames – Iowa.
- Relyea, R., Hoverman, J. (2006). Assessing the ecology in ecotoxicology: a review and synthesis in freshwater systems. *Ecology Letters*, n. 9(10), 1157–1171.
- Richards, S. M., Kendall, R. J. (2002). Biochemical effects of chlorpyrifos on two developmental stages of *Xenopus laevis*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 21(9), 1826–1835.
- Sabik, H., Jeanot, R., Roundeau, B. (2000). Multiresidue methods using solid-phase extraction techniques for monitoring priority pesticides, including triazines and degradation products, in ground and surface waters. *Journal of Chromatography*, 885, 217-236.
- Sayim, F. (2008). Acute toxic effects of malathion on the 21st stage larvae of the marsh frog. Turkish. *Journal of Zoology*, 32(1), 99–106.

Schoff, P. K., Johnson, C. M., Schotthoefer, A. M., Murphy, J. E., Lieske, C., Cole, R. A., Johnson, L. B., Beasley, V. R. (2003). Prevalence of skeletal and eye malformations in frogs from north-central United States: estimations based on collections from randomly selected sites. *Journal of Wildlife Diseases*, 39(3), 510–521.

Sower, S. A., Reed, K. L., Babbitt, K. J. (2000). Limb malformations and abnormal sex hormone concentrations in frogs. *Environmental Health Perspectives*, 108(11), 1085–1090.

Spadotto, C. A. (2006). Influência das Condições Meteorológicas no Transporte de Agrotóxicos no Ambiente. *Embrapa Meio Ambiente*.

Sparling, D. W., Fellers, G. M., McConnell, L. L. (2001). Pesticides and amphibian population declines in California, USA. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 20(7), 1591–1595.

Stocum, D. L. (2000). Frog limb deformities: an “eco-devo” riddle wrapped in multiple hypotheses surrounded by insufficient data. *Teratology*, 62(3), 147–150.

Stuart, S. N., Chanson, J. S., Cox, N. A., Young, B. E., Rodrigues, A. S. L., Fischman, D. L., Waller, R. W. (2004). Status and trends of amphibian declines and extinctions worldwide. *Science*, 306, 1783–1786.

Tavera-Mendoza, L., Ruby, S., Brousseau, P., Fournier, M., Cyr, D., Marcogliese, D. (2002a). Response of the amphibian tadpole (*Xenopus laevis*) to atrazine during sexual differentiation of the ovary. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 21(6), 1264–1267.

Tavera-Mendoza, L., Ruby, S., Brousseau, P., Fournier, M., Cyr, D., Marcogliese, D. (2002b). Response of the amphibian tadpole (*Xenopus laevis*) to atrazine during sexual differentiation of the testis. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 21(3), 527–531.

Taylor, B., Skelly, D., Demarchis, L. K., Slade, M. D., Galusha, D., Rabinowitz, P. M. (2005). Proximity to pollution sources and risk of amphibian limb malformation. *Environmental Health Perspectives*, 113(11), 1497–1501.

Teplitsky, C., Piha, H., Laurila, A., Merila, J. (2005). Common pesticide increases costs of antipredator defenses in *Rana temporaria* tadpoles. *Environmental Science & Technology*, 39(16), 6079–6085.

Venturino, A., Pechen De D'angelo, A. M. (2005). Biochemical targets of xenobiotics: biomarkers in amphibian ecotoxicology. *Applied Herpetology*, 2(3), 335–353.

Vismara, C., Bacchetta, R., Cacciatore, B., Vailati, G., Fascio, U. (2001). Paraquat embryotoxicity in the *Xenopus laevis* cleavage phase. *Aquatic Toxicology*, 55(1-2), 85–93.

Vismara, C., Battista, V. V., Vailati, G., Bacchetta, R. (2000). Paraquat induced embryotoxicity on *Xenopus laevis* development. *Aquatic Toxicology*, 49(3), 171–179.

Wacksman, M. N., Maul, J. D., Lydy, M. J. (2006). Impact of atrazine on chlorpyrifos toxicity in four aquatic vertebrates. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 51(4), 681–689.

Walker, A., Rodriguez-Cruz, M. S., Mitchell, M. J. (2005). Influence of ageing of residues on the availability of herbicides for leaching. *Environmental Pollution*, 133(1), 43-51.

White, D. H., Griffith, B. C. (1982). Authors as markers of intellectual space: Co-citation in studies of science, technology and society. *Journal of Documentation*, 38(4), 255–272.

Widder, P. D., Bidwell, J. (2006). Cholinesterase activity and behavior in chlorpyrifosexposed *Rana sphenoccephala* tadpoles. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 25(9), 2446–2454.

Widder, P. D., Bidwell, J. (2008). Tadpole size, cholinesterase activity, and swim speed in four frog species after exposure to sub-lethal concentrations of chlorpyrifos. *Aquatic Toxicology*, 88(1), 9–18.

Yang, F.-X., Xu, Y.; Wen, S. (2005). Endocrine-disrupting effects of nonylphenol, bisphenol A, and p, p'-DDE on *Rana nigromaculata* tadpoles. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 75, 1168–1175.

Yoon, C. S., Jin, J. H., Park, J. H., Yeo, C. Y., Kim, S. J., Hwang, Y. G., Hong, S. J., Cheong, S. W. (2008). Toxic effects of carbendazim and n-butyl isocyanate, metabolites of the fungicide benomyl, on early development in the African clawed frog, *Xenopus laevis*. *Environmental Toxicology*, 23(1), 131–144.

Zang, W., Jiang, F., Ou, J. (2011). Global pesticide consumption and pollution: with China as a focus. *Proceedings of the International Academy of Ecology and Environmental Sciences*, 1(2), 125–144.

#### **Porcentagem de contribuição de cada autor no manuscrito**

Rosana dos Santos D' Ávila – 41%

Bruno Ramos Brum – 27%

Thaysa Costa Hurtado – 10 %

Áurea Regina Alves Ignácio – 22%