



Caracterização de corpos hídricos representativos para a reprodução e fase aquática de anfíbios brasileiros

Coordenador:

Prof. Dr. Luis Cesar Schiesari
Escola de Artes, Ciências e Humanidades
Universidade de São Paulo
lschiesa@usp.br

Pesquisadores

Prof. Dr. Luis Cesar Schiesari
Dr^a Ariadne Fares Sabbag
Dr. Thiago Augusto Leão Pires
Mestranda Bianca Rodrigues Strecht Valente



Introdução

Área, volume e tipo do corpo d'água têm profundas consequências para o funcionamento dos ecossistemas de água doce

No que diz respeito à contaminação química, estas propriedades influenciam

- * a taxa de entrada de compostos na forma sólida, líquida e gasosa (por intermédio da extensão do contato entre o ecossistema aquático e o ecossistema terrestre)
- * a taxa de renovação da água e a capacidade de diluição de compostos
- * a exigência legal de uma APP e sua extensão, entre outros.

Portanto, na Avaliação de Risco Ambiental de contaminantes químicos para organismos aquáticos é muito importante definir a área, o volume e o tipo do ambiente aquático que se quer representar.

Objetivos

Elaborar base de dados e relatório técnico, a partir de dados bibliográficos, caracterizando os corpos d'água representativos para a reprodução e desenvolvimento embrio-larval de anfíbios brasileiros, com indicação das dimensões e ocorrência em áreas agrícolas ou áreas adjacentes.

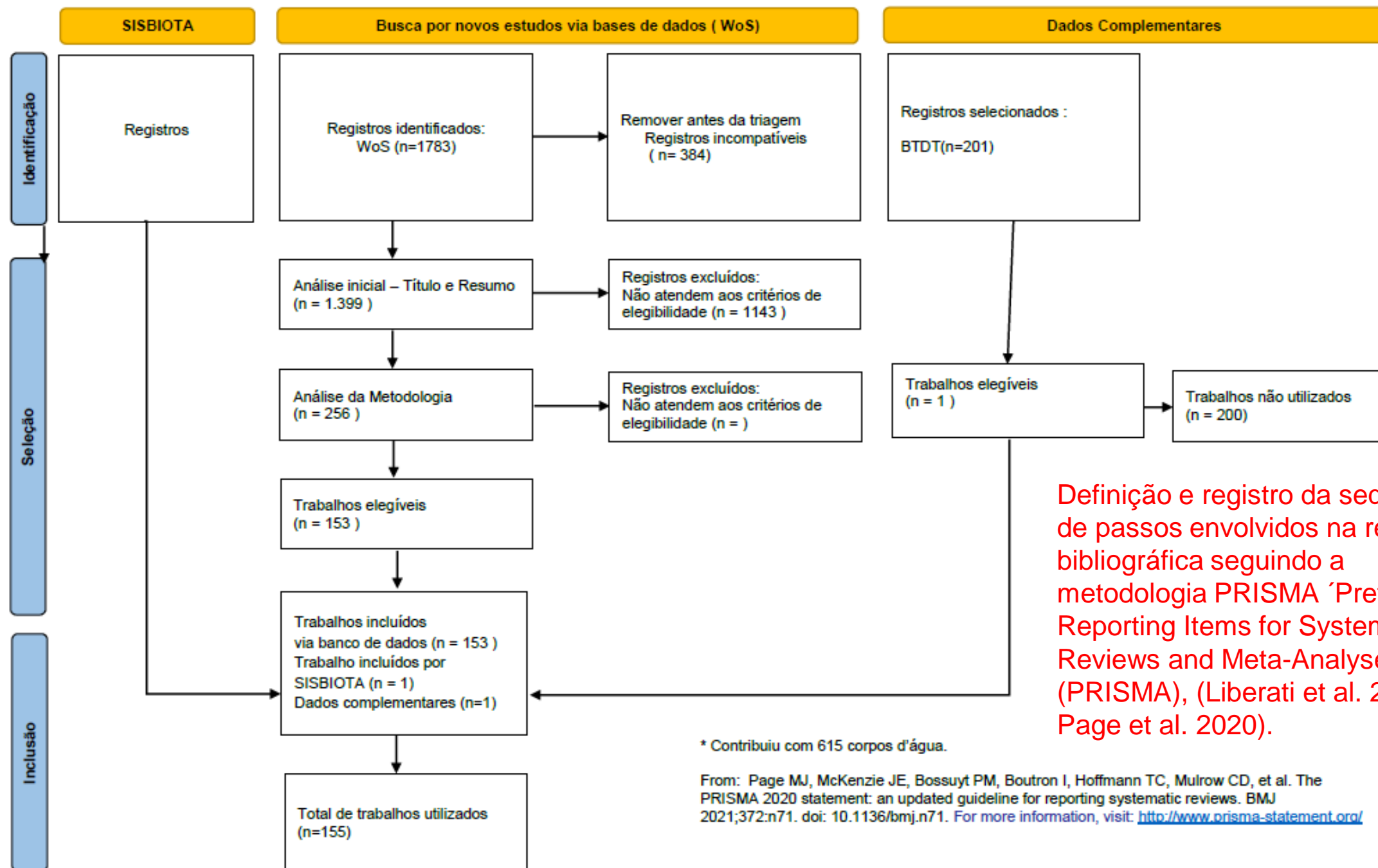
Boana cinerascens
Schiesari et al. 2022



Levantamento de dados secundários de três fontes, em etapas sequenciais

- i) Projeto 'Girinos de Anuros da Mata Atlântica, da Amazônia, do Pantanal, do Cerrado e de Zonas de Transição: Caracterização Morfológica, Distribuição Espacial e Padrões de Diversidade', liderado pela Profa. Dra. Denise Rossa Feres ('Projeto SISBIOTA', 2011-2013)
- ii) revisão bibliográfica sistemática da literatura indexada na Web of Science
- e
- iii) dados complementares.

Fontes de dados



Métodos

Para cada corpo d'água

- 1) coordenadas geográficas
- 2) tipo (lêntico ou lótico), hidroperíodo (permanente ou temporário), dimensões (comprimento, largura, profundidade, área e/ou volume) e uso da terra no entorno
- 3) espécies de anfíbios registradas na forma de ovos, embriões ou larvas (portanto evidência direta), ou de adultos vocalizantes (portanto evidência indireta).

A partir daí, harmonização de dados necessariamente heterogêneos

- Simplificação de descritores dos corpos d'água (tipo, hidroperíodo, uso da terra)

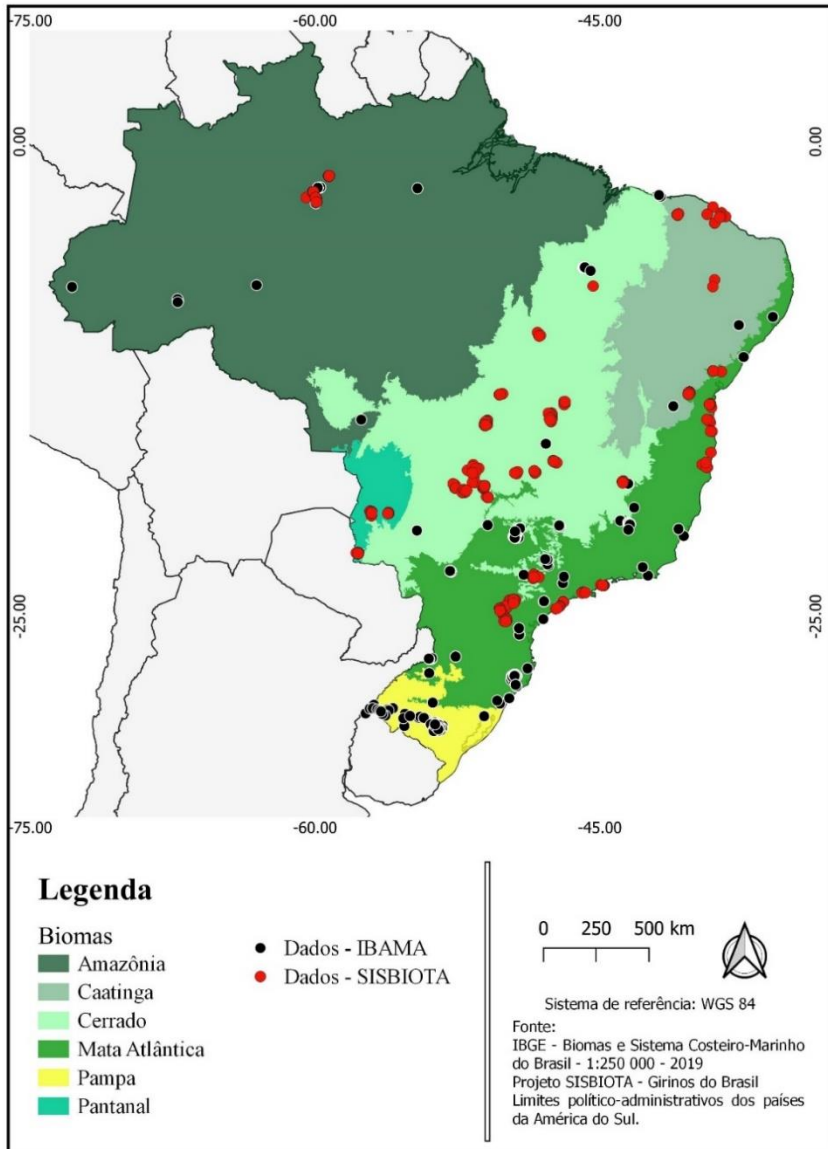
- Retenção dos valores máximos das dimensões reportados

- Classificação de biomas seguindo IBGE (2019), a partir das coordenadas

- Atualização tentativa de todos os nomes seguindo Frost (2021), considerando localidades de ocorrência

Resultados e Discussão

Localização dos Corpos d'água no Brasil



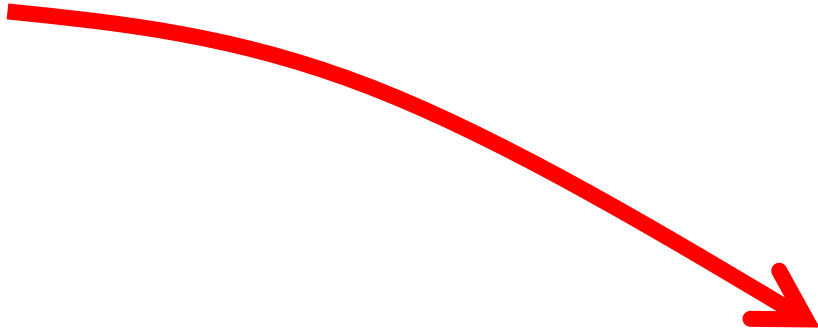
1207 corpos d'água em todos os biomas brasileiros representados

18 famílias

50 gêneros

279 espécies representadas

163 espécies registradas em corpos d'água inseridos em ambientes agrícolas

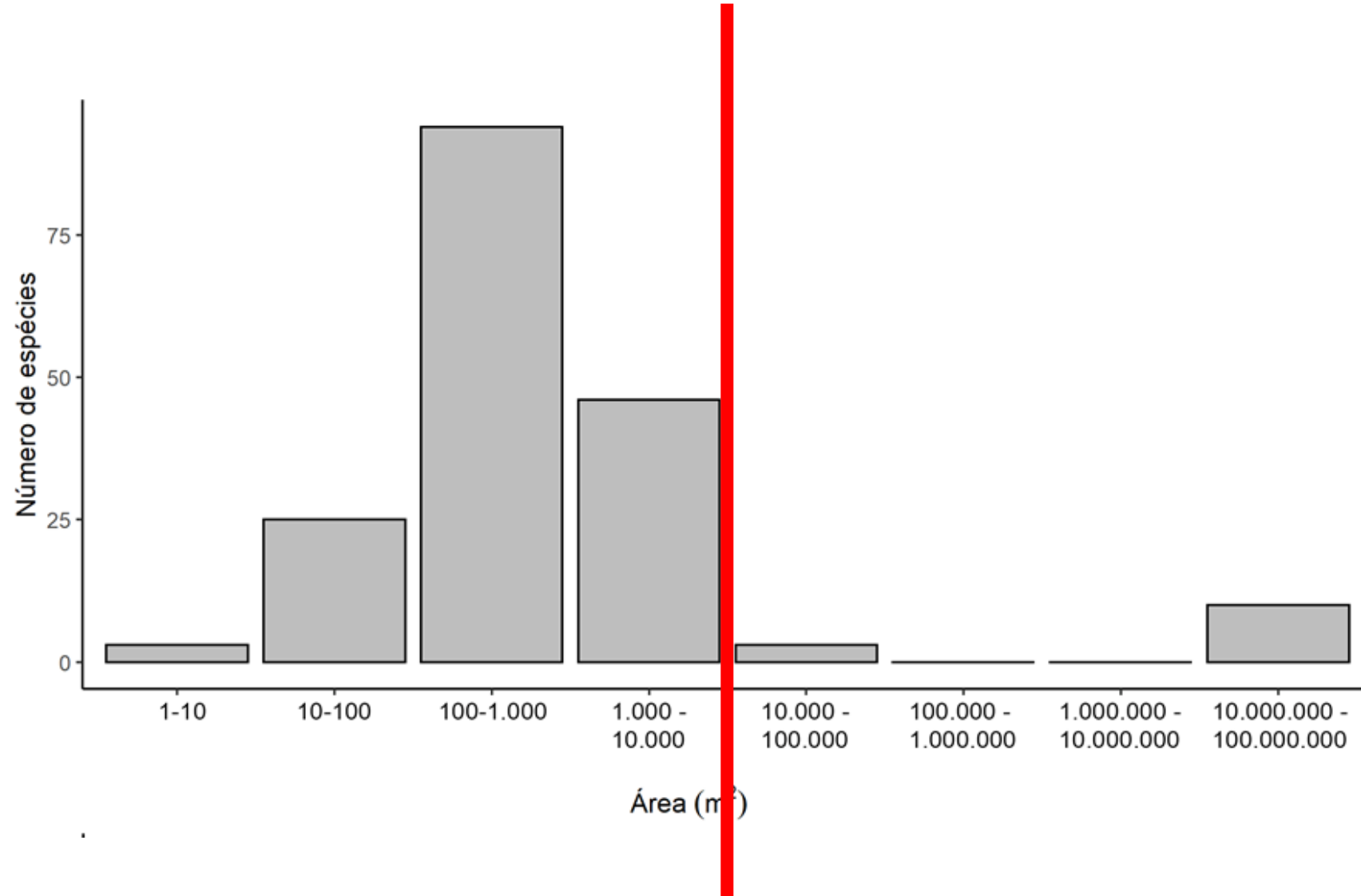
[illegible]

Nomeclatura conforme publicação original			Nomenclatura atual tentativa		Bioma						Uso da terra	N	Tipo		
Família	Gênero	Espécie	Gênero	Espécie	Amazônia	Cerrado	Caatinga	Mata Atlântica	Pampa	Pantanal	Ocorre em corpos d'água dentro ou à margem de pastagens e/ou plantações?	N corpos d'água	Lêntico (%)	Lótico (%)	Lêntico-Lótico (%)
Leptodactylidae	Physalaemus	Physalaemus cuvieri	Physalaemus	Physalaemus cuvieri	X	X	X	X	X		X	309	88%	12%	0%

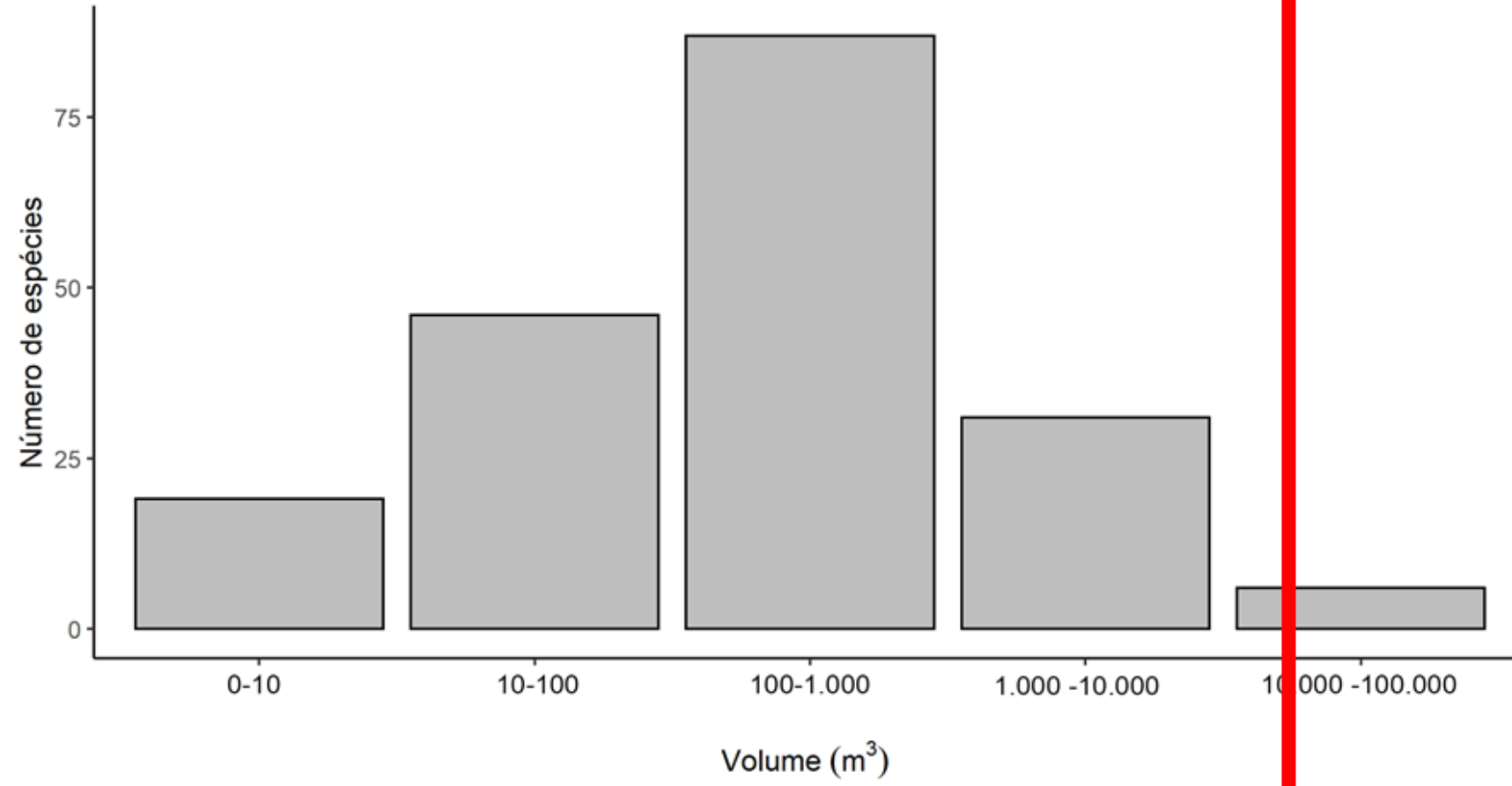
Área (m2)												
Mínima	2 ,5%	5%	10%	25%	50% (mediana)	75%	90%	95%	97 ,5%	Máxima	Média	
2	31	70	115	297	1018	4053	15388	27522	40464	251327	6834	

Volume (m3)												
Mínimo	2 ,5%	5%	10%	25%	50% (mediana)	75%	90%	95%	97 ,5%	Máximo	Média	
1.00	3.89	9.83	23.32	99.92	1470.35	12887.24	62338.94	152356.99	441822.99	1084599.49	34602.97	

GENEEC
Generic Estimated Environmental Concentration
US EPA 2001
10.000 m²



GENEEC
Generic Estimated Environmental Concentration
US EPA 2001
 $10.000 \text{ m}^2 \times 2 \text{ m prof.} = 20.000 \text{ m}^3$



	Mínima	2.5%	5%	10%	25%	50% (mediana)	75%	90%	95%	97.5%	Máxima
	Área mediana (m²)										
Espécies lênticas	6	13	25	59	170	590	1.311	5.301	30.000.012	60.000.000	60.000.000
Espécies lênticas registradas em áreas agrícolas	9	58	76	130	296	550	1.491	2.827	4.905	10.617	117.810
	Profundidade mediana (m)										
Espécies lênticas	0,05	0,08	0,12	0,16	0,30	0,51	0,90	1,75	5,91	30,35	60,00
Espécies lênticas registradas em áreas agrícolas	0,05	0,08	0,12	0,16	0,30	0,51	0,90	1,75	5,91	30,35	60,00
Especies lóticas	0,08	0,19	0,21	0,29	0,36	0,59	0,78	1,25	1,26	1,31	1,50
Especies lóticas registradas em áreas agrícolas	0,01	0,12	0,18	0,25	0,35	0,50	1,00	20,55	43,50	47,35	49,00
	Volume mediano (m³)										
Espécies lênticas	0,19	0,39	0,69	6,15	26,57	81,35	396,04	1.022,60	4.143,33	7.602,10	15.668,69
Espécies lênticas registradas em áreas agrícolas	2,69	4,68	7,03	26,14	106,29	353,29	1.081,12	5.013,98	11.814,20	19.016,41	88.770,42

Phyllomedusa vaillanti
Schiesari et al. 2022





**I Workshop sobre Bases
Técnico-Científicas da
Avaliação de Risco
Ambiental de Agrotóxicos**

Avaliação de Risco Ambiental para répteis e anfíbios

Dra Juliane Silberschmidt Freitas

Universidade do Estado de Minas
Gerais, UEMG – Ituiutaba
juliane.freitas@uemg.br



Equipe Técnica
Editais de Chamamento Público nº 18/2021
Metas 4.1, 4.2, 4.3, 4.4

Dr Guarino Rinaldi Colli

Dr. Rogério Pereira Bastos

Dra Juliane Silberschmidt Freitas

Dr Eduardo Alves de Almeida

Dr Luis Cesar Schiesari

Dra Raquel Fernanda Salla Jacob

Dr Alessandro Ribeiro de Moraes

Dra Marcella Gonçalves Santos

Dr Michiel Adriaan Daam

Me Bruno Barros Bittar

Me Suelen Cristina Grott

Fundação de Empreendimentos Científicos e Tecnológicos - FINATEC



Equipe – Meta 4.4

Avaliação de Risco Ambiental para répteis e anfíbios



Coordenadores:

Profa. Dra. Juliane Silberschmidt Freitas (UEMG)

Prof. Dr. Eduardo Alves de Almeida (FURB)



Pesquisadores / Colaboradores:

Dra. Raquel Fernanda Salla Jacob (Pós Doc UFG)

Me Suelen Cristina Grott (Centro Universitário Avantis)

Michiel Adriaan Daam

(Universidade Nova de Lisboa)



Metas

Etapa 4.4.1: Levantamento de **dados da toxicidade** de agrotóxicos para espécies de **anfíbios e répteis nativos**, bem como para as **espécies padrão** utilizadas em testes de laboratório.

Etapa 4.4.2: Levantamento da **sensibilidade relativa** através da construção de **curvas de distribuição de sensibilidade de espécies (SSDs)** e cálculo de fatores de extrapolação (fatores de segurança) de toxicidade entre espécies para as seguintes relações.

- Anfíbios nativos (fase terrestre) x Aves (espécies padrão): exposição via oral;
- Répteis (nativos) x Aves (espécies padrão): exposição via oral;
- Anfíbios nativos (fase aquática) x Peixes (espécies padrão).

Etapa 4.4.3: Identificação de grupos de produtos agrotóxicos com **similaridade no potencial tóxico para répteis e anfíbios**

- Quais os tipos de produtos com maior potencial tóxico para as espécies.





I. Toxicidade aguda para os anfíbios

Etapa 4.1: Levantamento de **dados da toxicidade** de agrotóxicos para espécies de anfíbios e répteis nativos, bem como para as espécies padrão utilizadas em testes de laboratório.



Levantamento de dados para os anfíbios

1. Consulta de produtos agroquímicos que possuem registro no sistema AGROFIT no Brasil

Herbicidas: 173

Acaricidas: 24

Fungicidas: 94

Inseticidas: 89

Reguladores de crescimento: 11

Total = 391



2. AmphibiaWeb (<https://amphibiaweb.org>)

Identificação das espécies de anfíbios nativas brasileiras

Atualmente: 1159 espécies registradas



Etapa 4.1: Levantamento de **dados da toxicidade** de agrotóxicos para espécies de anfíbios e répteis nativos, bem como para as espécies padrão utilizadas em testes de laboratório.



3. Deliberação das espécies-modelo:



Xenopus laevis



Lithobates catesbeianus



Lithobates pipiens



Rana temporaria

4. Busca dados de toxicidade aguda (LC50) Ecotox Knowledgebase EPA

- Ingredientes ativos
- Nomes científicos das espécies nativas brasileiras
- Nome científico das espécies-modelo de anfíbios
- Confirmação do CAS number

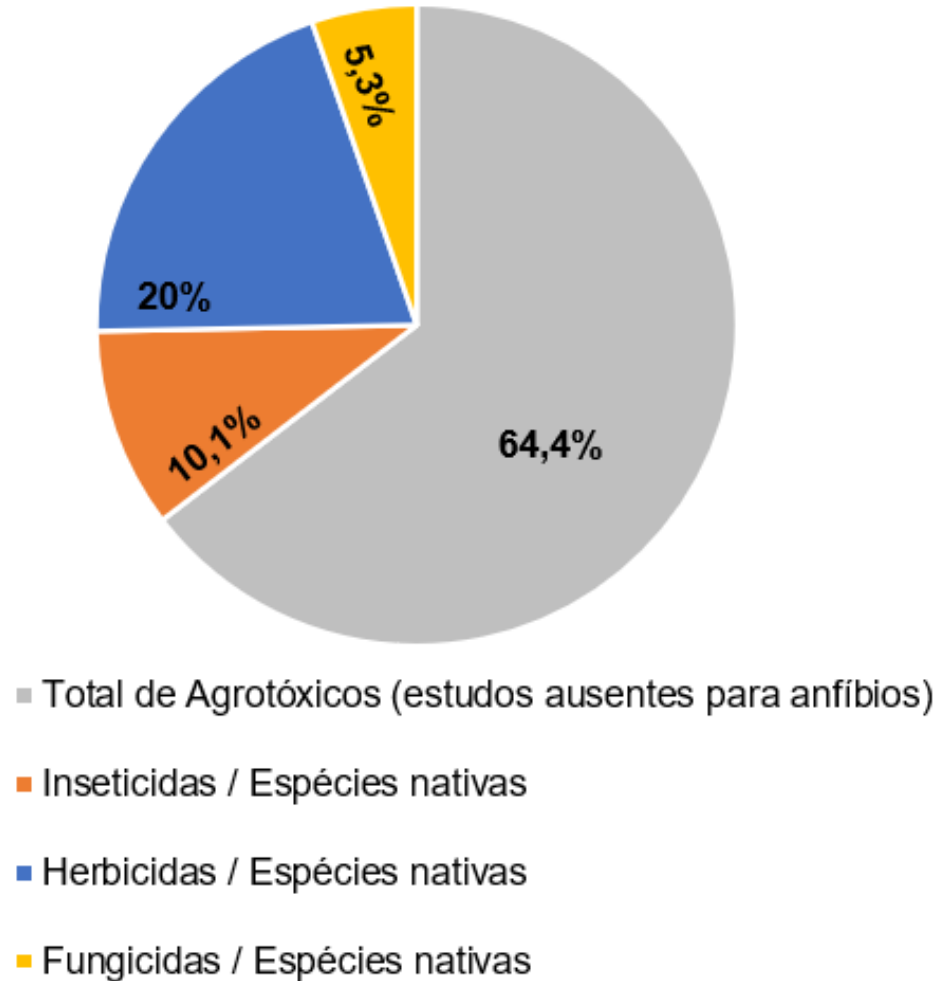


Etapa 4.1: Levantamento de dados da toxicidade de agrotóxicos para anfíbios (fase aquática)

RESULTADOS

- 1376 linhas de dados → espécies nativas
- 2574 linhas de dados → espécies modelo
- Não encontramos estudos com reguladores de crescimento
- Observações:
- Alguns valores fornecidos pelo sistema diferiam nas unidades de medida (checagem individual nos artigos).
- Muitos dados faltavam registros das condições experimentais (ex. pH, temperatura) ou parâmetros biológicos (gênero, peso, estágio).

Porcentagem de Estudos Ecotoxicológicos com Anfíbios Nativos



Agrotóxicos sem nenhum registro de toxicidade aguda para os anfíbios: 64.4%

Registros de toxicidade aguda: Considerando CL50, NOEC, LC10, EC10

Dos 89 inseticidas registrados na Agrofit:

- **Espécies nativas:**
 - 9 inseticidas testados
 - 10,1% dos inseticidas
- **Espécies modelo:**
 - 24 inseticidas testados
 - 26.5% dos inseticidas

Dos 115 herbicidas:

- **Espécies nativas:**
 - 23 herbicidas testados
 - 20% dos herbicidas
- **Espécies modelo:**
 - 23 herbicidas testados
 - 20% dos herbicidas

Dos 94 fungicidas:

- **Espécies nativas:**
 - 5 fungicidas testados
 - 5.3% dos fungicidas
- **Espécies modelo:**
 - 18 fungicidas testados
 - 19.1% dos fungicidas

Etapa 4.1: Levantamento de dados da toxicidade de agrotóxicos para anfíbios (larvas)

Filtrando valores de CL50 para espécies brasileiras:

- 5 inseticidas (azadiractina, carbaril, cipermetrina, clorpirifós e malationa)
- 3 fungicidas (mancozebe, tebuconazol, e trifloxistrobina)
- 16 herbicidas (acetocloro, ametrina, atrazina, dicamba, diurom, glifosato, e glifosato-sal de amônio, glifosato-sal de isopropilamina, imazetapir, metolacoloro, metribuzim, metsulfuron, picloram, simazina, sal de dimetilamina do ácido 2,4-D)

Estudos de CL50
contemplam **13 espécies**
nativas brasileiras

Rhinella marina

Rhinella arenarum

Rana aurora

Physalaemus cuvieri

Physalaemus albonotatus

Physalaemus centralis

Physalaemus nattereri

Physalaemus gracilis

Elachistocleis bicolor

Leptodactylus latrans

Leptodactylus fuscus

Boana pardalis

Scinax nasicus



Avaliação de toxicidade crônica para anfíbios:

NOEC, EC10 e LC10

Espécies nativas

- **4 inseticidas** (abamectina, cipermetrina, clorpirifós, e malationa),
 - **5 fungicidas** (diclorana, mancozebe, tebuconazol, fludioxonil e trifloxystrobina)
 - **9 herbicidas** (acetocloro, atrazina, diurom, glifosato, glifosato-sal de isopropilamina, hexazinona, metribuzim, triclopir-butotílico e 2,4-D)
-
- **Espécies modelo:**
 - **16 inseticidas** (acetamiprid, beta-ciflutrina, beta-cyfluthrin, carbaril, clothianidin, diclorana, fosmete, cipermetrina, clorpirifós, esfenvalerate, fipronil, imidacloprid, lambda-cialotrina, lambda-cyhalothrin, malationa, permetrina),
 - **6 fungicidas** (folpete, tiabendazol, clorotalonil, miclobutanil, pyraclostrobin e trifloxystrobina)
 - **9 herbicidas** (ametrina, atrazina, alacloro, glifosato, glifosato-sal de isopropilamina, hexazinona, tiobencarbe, triclopir-butotílico e 2,4D)



Efeitos Subletais prevalentes em anfíbios:

Planilha com 311 linhas categorizando os **efeitos subletais**

- Alterações no comportamento
- Alterações no crescimento
- Desenvolvimento
- Alterações enzimáticas
- Alterações morfológicas
- Genotoxicidade
- Alterações imunológicas
- Outras (níveis biológicos mais específicos)



Alguns ingredientes ativos com + de 1 via de ação





II. Toxicidade aguda para os peixes

II. Toxicidade para os peixes

- Espécies-modelo:
- *Danio rerio* (Khan & Alhewairini, 2019)
- *Pimephales promelas* (Saari et al., 2017)
- *Oryzias latipes* (Saraf et al., 2018)
- *Gasterosteus aculeatus* (Williams et al., 2009)
- *Oncorhynchus mykiss* (Daam et al., 2019).

**Valores tabelados para realização das SSDs



Meta 4.4.2. Curvas de distribuição de sensibilidade de espécies (SSDs)

- **Anfíbios nativos** (fase aquática) x **Peixes** (espécies padrão de peixes utilizados em testes de laboratório)
- Os dados de CL50 foram combinados para a construção das SSDs

Condições para plotagem das SSDs:

- Existência de ao menos 4 espécies distintas (anfíbios + peixes) contendo dados de CL50 para um mesmo produto agrotóxico
- Período de exposição agudo (de 1 a 4 dias).

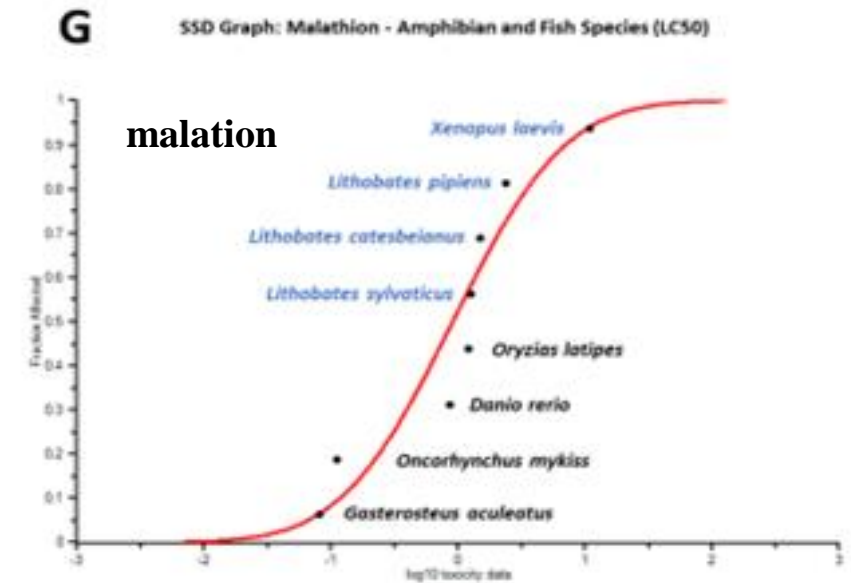
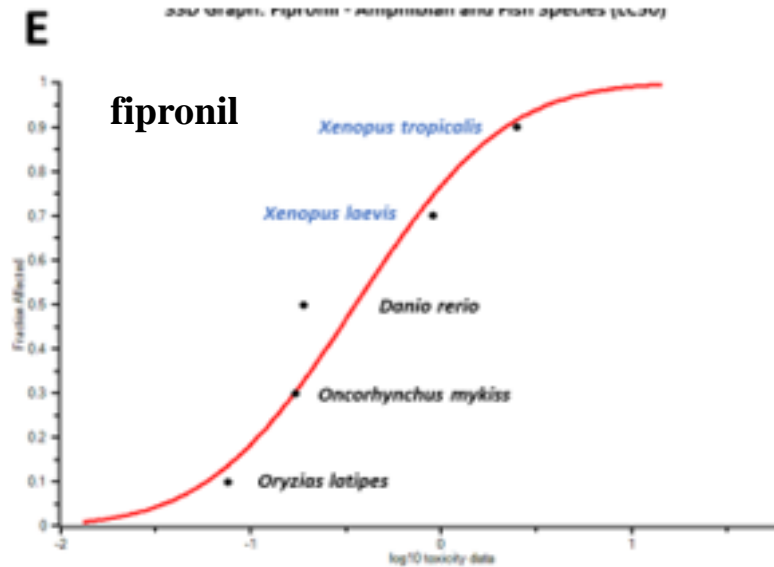
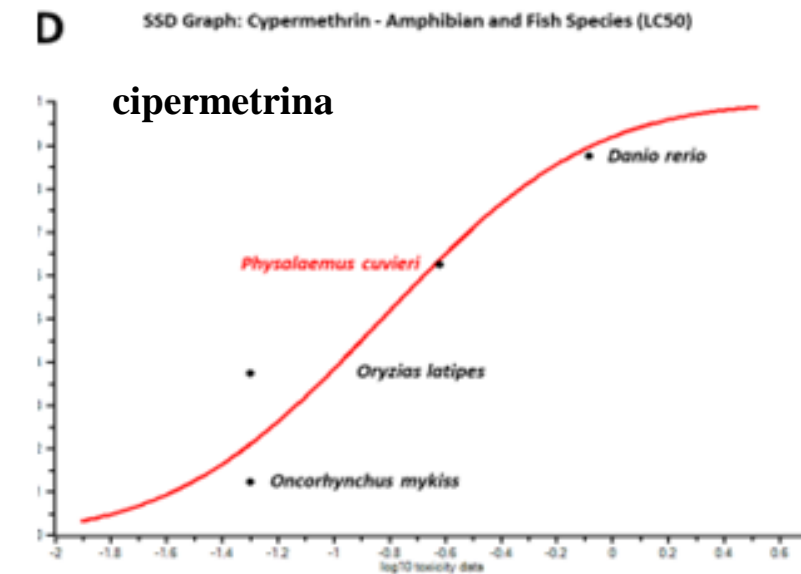
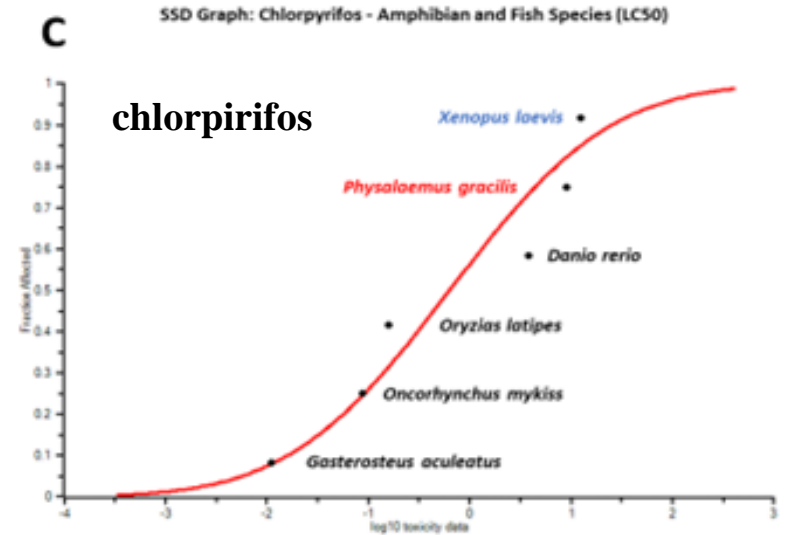
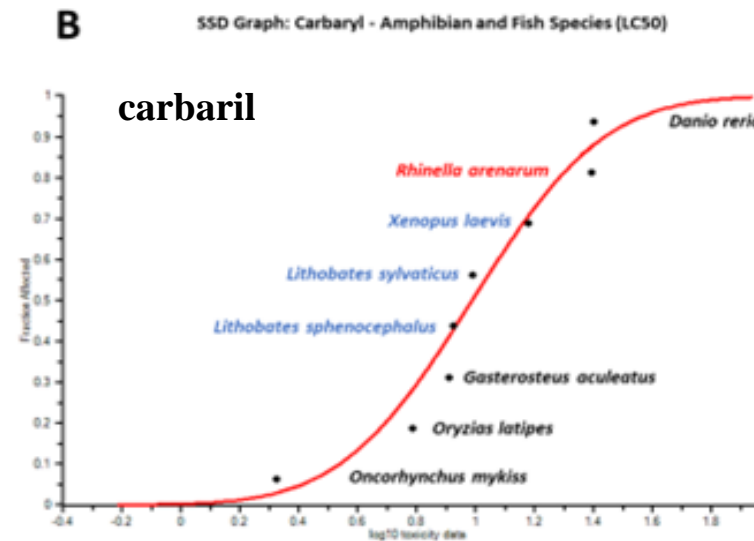
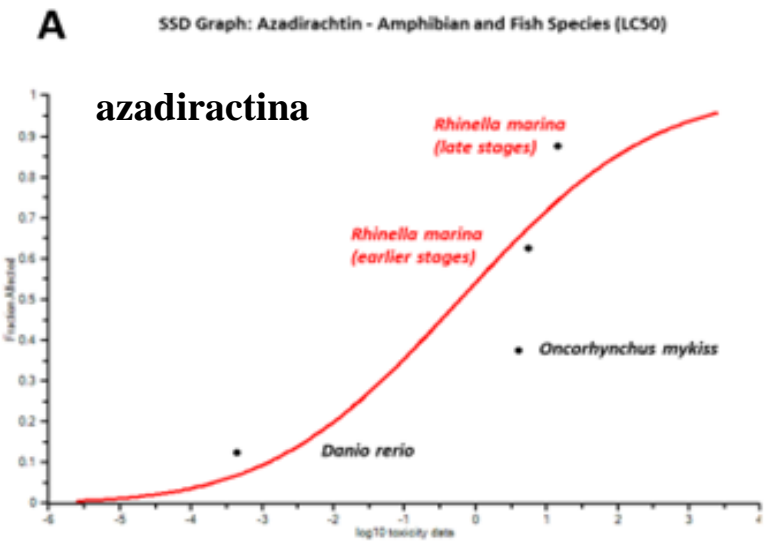
Comparação da sensibilidade relativa:

- **7 inseticidas** (azadiractina, carbaril, cipermetrina, clorpirifós, fipronil, fosmet e malation)
- **3 fungicidas** (chlorothalonil, mancozebe e trifloxistrobina)
- **9 herbicidas** (acetocloro, ametrina, atrazina, diurom, glifosato, glifosato-sal-de-isopropilamina, picloram, simazina, e 2,4D).



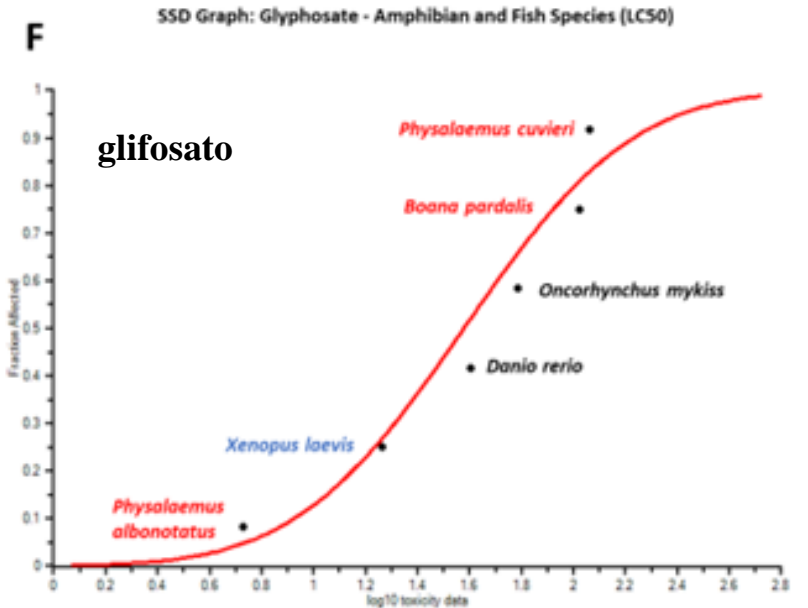
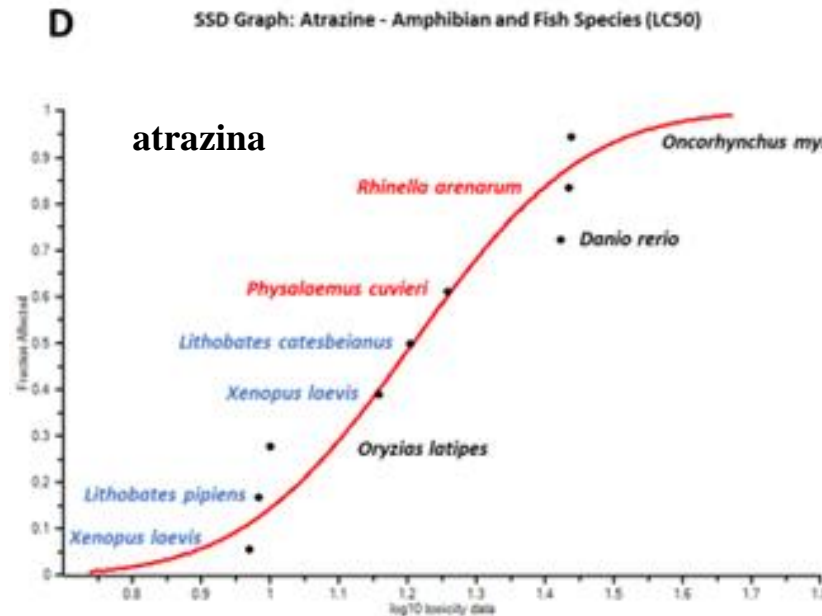
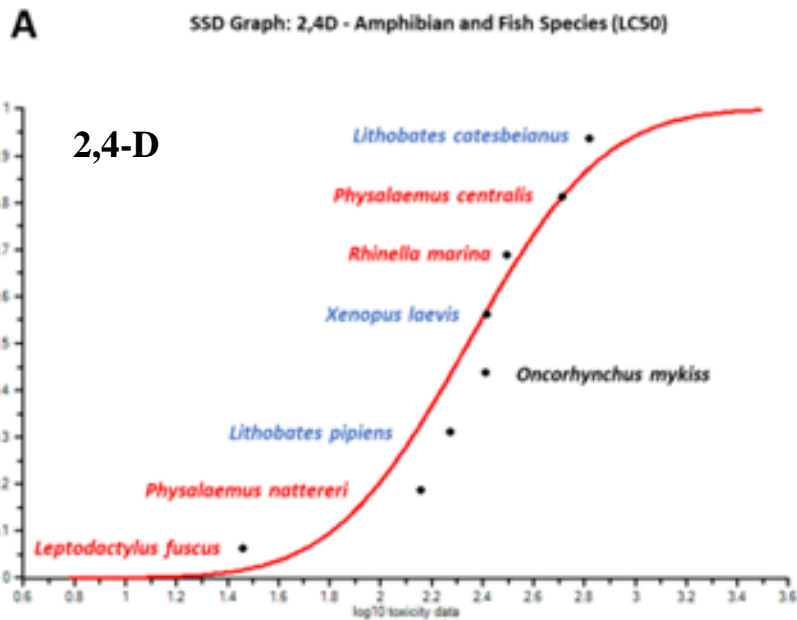
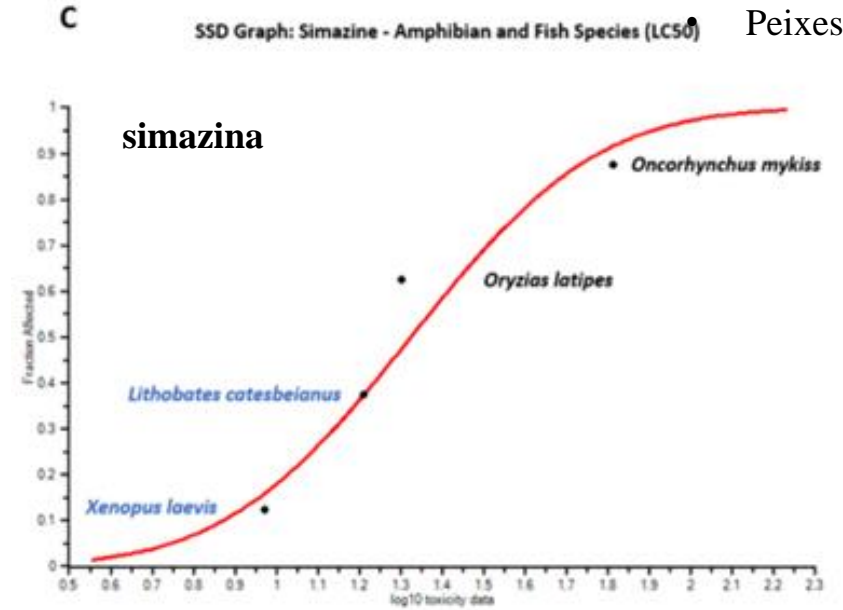
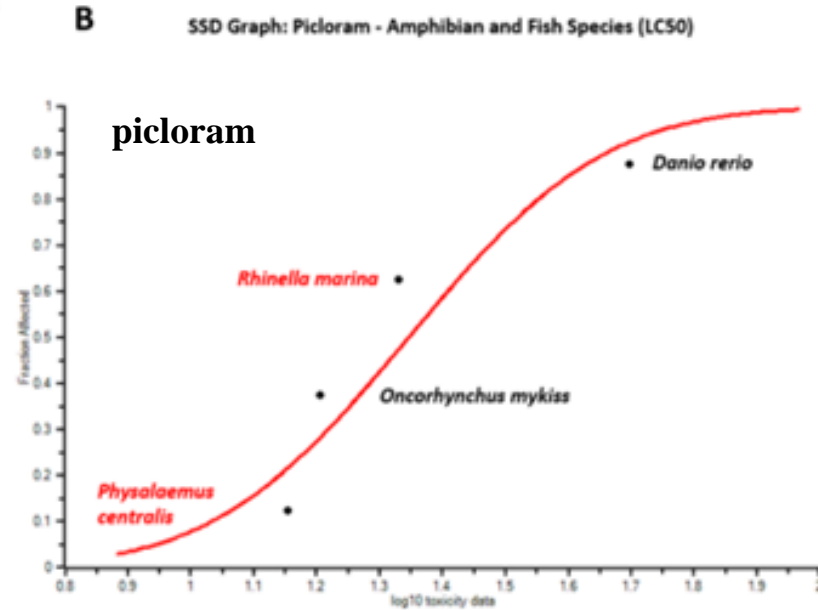
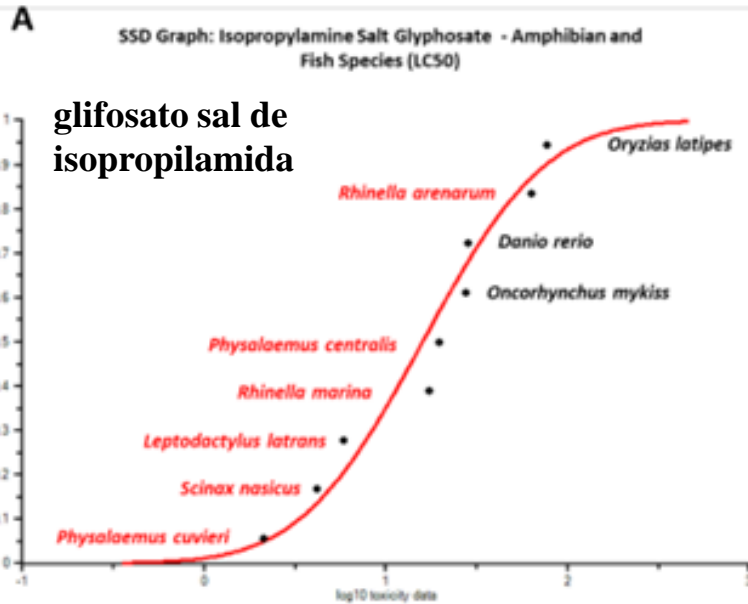
Inseticidas: Peixes x girinos

- Anfíbios modelo
- Anfíbios nativos
- Peixes



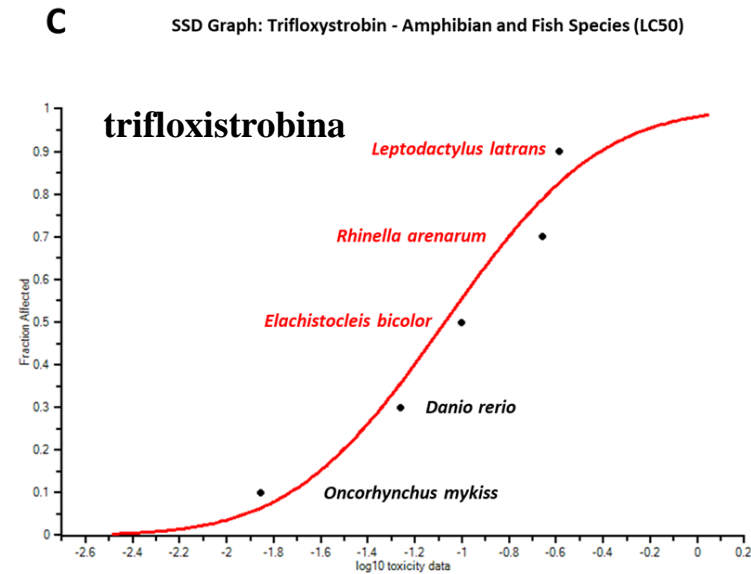
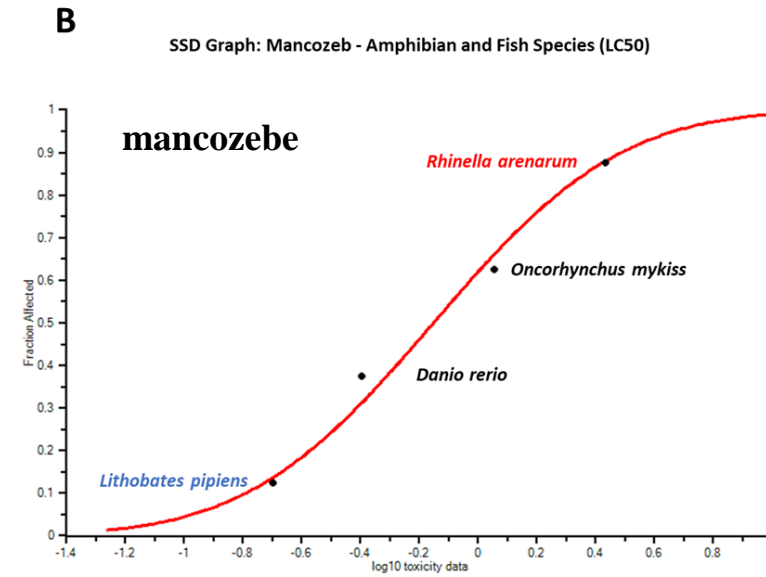
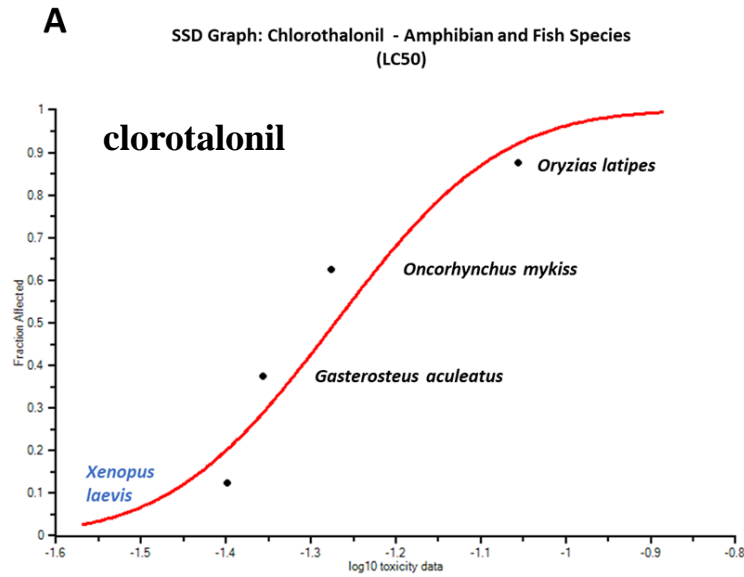
Herbicidas: Peixes x girinos

- Anfíbios modelo
- Anfíbios nativos
- Peixes



Fungicidas: Peixes x girinos

- Anfíbios modelo
- Anfíbios nativos
- Peixes



HC₅ (*Hazard Concentration* - mg/L)
encontrados para as SSDs

Inseticidas - HC₅ (Hazard Concentration - mg/l) 96h

SSD – CL50			
Agrotóxico	HC ₅ (mg/l)	LL HC5	UL HC5
Azadiractina	0.00008	8.68E-12	0.016542753
Carbaril	2.41972	0.737804781	4.476623942
Clorpirifós	0.00415	1.50E-05	0.051406668
Cipermetrina	0.012451	0.000138894	0.054337988
Fipronil	0.028868	0.000943043	0.112191461

Fungicidas - HC₅ (Hazard Concentration - mg/l) 96h

SSD – CL50			
Agrotóxico	HC ₅ (mg/l)	LL HC5	UL HC5
Clorotalonil	0.02814	0.008779411	0.04122098
Mancozebe	0.086346	0.001925649	0.300289185
Trifloxistrobina	0.010293	0.000581703	0.032187005

Herbicidas - HC₅ (Hazard Concentration - mg/l) 96h

SSD – CL50			
Agrotóxico	HC ₅ (mg/l)	LL HC5	UL HC5
2,4D	42.35462	10.346750 22	87.89278597
Acetocloro	0.321497	0.0090099 27	1.037435333
Ametrina	3.047274	0.5938853 64	5.207955698
Atrazina	7.472607	4.1217618 42	10.32810125
Diurom	2.554933	0.1694883 34	6.216161493
Glifosato	4.874665	0.4920081 78	13.60059218
Glifosato sal de isopropilamina	1.986129	0.3963033 97	4.772596376
Picloram	7.918748	1.2219895 14	14.60956598

Meta 4.4.2. Cálculo de fatores de extrapolação (fatores de segurança) de toxicidade entre as espécies:

- Cálculos para “tolerância relativa”
- Toxicidade para o anfíbio (aquático) / Toxicidade para uma espécie modelo

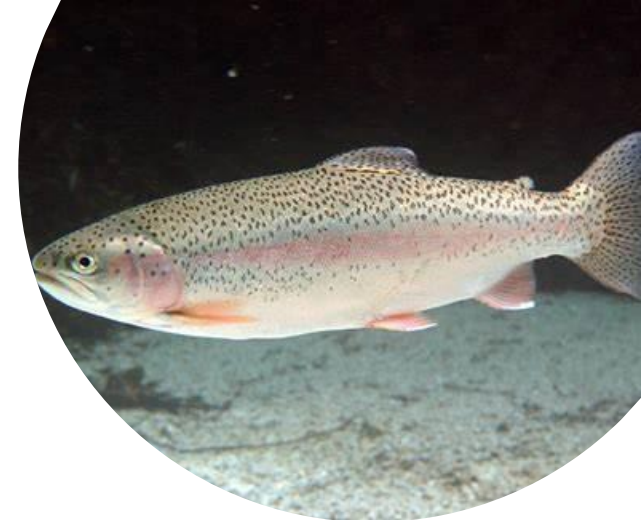
T. Rel. < 1 = maior sensibilidade do anfíbios

*T. Rel. > 1 = maior sensibilidade de *O. mykiss**

- Espécie-modelo eleita: *Oncorhynchus mykiss* (Birge et al. 2000; Ortiz-Santaliestra, 2018; Daam et al., 2019)

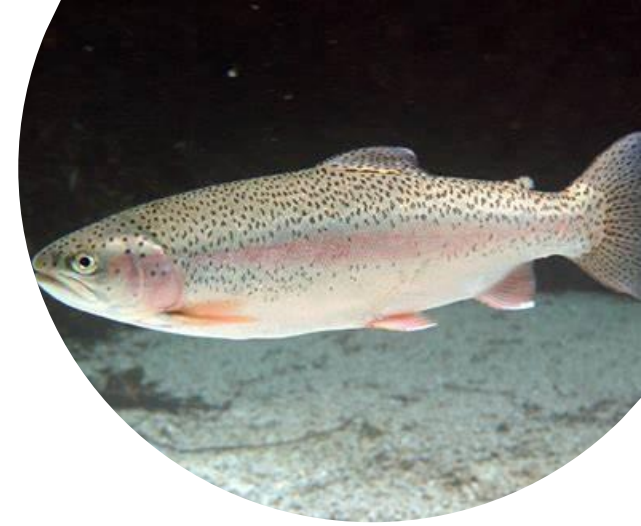
Para os cálculos de tolerância relativa:

- **Toxicidade aguda:** valores de CL50 para 1-4 dias
- **Toxicidade crônica:** NOEC/EC10/LC10 (considerando efeitos sobre a mortalidade, comportamento, morfologia, crescimento e desenvolvimento).



Cálculo de fatores de extrapolação (fatores de segurança) de toxicidade entre as espécies:

- Resultados variados, para ensaios agudos e crônicos
- Para muitos agrotóxicos, *O. mykiss* foi mais sensível
- Para outros, os anfíbios foram mais sensíveis



Para as **13 espécies nativas brasileiras (1.12% das espécies brasileiras)** e **4 espécies modelos:**

Fator de segurança de “100”, que é normalmente aplicado aos valores agudos de CL50 de *O. mykiss* (EFSA, 2013; Daam et al., 2019), pode ser considerado protetivo para os anfíbios (fase aquática) para a maioria dos agroquímicos estudados neste projeto.

Anfíbios já mostraram sensibilidade >100x para algumas subst. (ex. desreguladores da tireoide) (Weltje et al., 2013)

Relevante considerar a **ausência de dados toxicológicos** para **98.89%** das espécies de anfíbios, cujos fatores de segurança podem não ser preventivos.



Produtos com maior sensibilidade para os anfíbios em relação à classe de uso

Tabela 4: Classificação dos agrotóxicos quanto ao modo de ação e destaque dos produtos com maior toxicidade para os anfíbios.

Toxicodinâmica dos Agrotóxicos	
Modo de ação	Nome comum dos compostos
Moduladores de canais de sódio (desregulação nervosa)	Cipermetrina
	Lambda-cialotrina
	Esfenvalerato
Atua vias receptores nicotínicos (desregulação nervosa)	Imidacloprido
	Acetamiprid
	Amitraz
	Clothianidin
	Deltametrina

ou funcionamento de enzimas	Glifosato Glifosato-sal de amônio Glifosato-sal de isopropilamina Glifosato sal de potássio Imazetapir Metolaclo Metsulfuron-methyl Nicossulfurom Sulfometurom-metilico Alaclo Carbendazim Pirimetanil Folpete Propiconazole
Interferentes da síntese de lipídios	Tebuconazol Miclbutanil Triadimenol
Inibição da fotossíntese	Ametrina Atrazine Dibrometo de diquate Diurom, hexazinona
Inibição da cadeia transportadora de elétrons	Prometrina Fludioxonil Piraclostrobina



Estudos de toxicidade com répteis

- “Ecotox Knowledgebase” (US - EPA + artigos)
- Apenas 2 estudos registrando LD50 (imidaclopride e metil tiofanato)



Impossibilidade na realização da meta 4.4.2:
Sensibilidade relativa: Répteis (nativos) x aves (exposição oral)

- Localizamos 70 estudos com Ecotoxicologia de Répteis
- 23 espécies foram testadas:

2 espécies de jacarés

4 quelônios

12 espécies de lagartos

5 espécies de serpentes

Espécie	Nome popular	Habitat/ocorrência
<i>Caiman latirostris</i>	Jacaré-de-papo-amarelo	Brasil, Argentina, sudeste da Bolívia e Paraguai, norte e nordeste do Uruguai.
<i>Alligator mississippiensis</i>	Jacaré-norte-americano	Estados Unidos
<i>Podocnemis unifilis</i>	Cágado de carapaça e pele negra ou tracajá	Venezuela, Guianas e toda a Amazônia do Brasil, além de Colômbia, Peru, Equador e Bolívia.
<i>Trachemys scripta</i>	Tartarugas de água doce	Região Norte Americana
<i>Chelydra serpentina</i>	Tartaruga-mordedora	Habita as Américas, desde o Canadá até o Equador
<i>Graptemys ouachitensis</i>	Tartaruga mapa	Endêmica dos Estados Unidos
<i>Meroles suborbitalis</i>	Lagarto de areia manchado	África do Sul, Namíbia e Botsuana
<i>Podarcis bocagei</i>	Lagartixa-de-bocage	Portugal e Espanha.
<i>Pogona vitticeps</i>	Lagarto dragão barbudo	Endêmico da Austrália
<i>Salvator merianae</i>	Teiú-gigante	Habita grande parte do Brasil e norte da Argentina e Uruguai
<i>Eremias argus</i>	Lagarto	Espécie endêmica da Ásia
<i>Sceloporus occidentalis</i>	Lagarto Norte Americano	Arizona, Novo México, Califórnia, Idaho, Nevada, Oregon, Utah, Washington, norte do México e arredores
<i>Oligosoma polychroma</i>	Lagarto skink	Nova Zelândia
<i>Acanthodactylus dumerili</i>	Lagarto de cotovelo	Saara Ocidental e Central
<i>Pedioplanis namaquensis</i>	Lagarto de areia Namaqua	África do Sul
<i>Podarcis sicula</i>	Lagarto de parede italiano	Nativo da Bósnia e Herzegovina, Croácia, França, Itália, Sérvia, Montenegro, Eslovênia e Suíça
<i>Anolis carolinensis</i>	Lagarto verde	Sudeste dos Estados Unidos e em diversas ilhas do Caribe
<i>Ophisops elegans</i>	Lagarto-de-olho-de-cobra	Endêmica na região do Mediterrâneo e na Ásia Central
<i>Boiga irregularis</i>	Cobra-arbórea-marrom	Nativa no leste e norte da Austrália, Papua-Nova Guiné e em grande número de ilhas a noroeste da Melanésia
<i>Thamnophis marcianus ssp. marcianus</i>	Serpente	Não localizado
<i>Nerodia sipedon</i>	Cobra d'água comum	América do Norte
<i>Nerodia rhombifera</i>	Cobra d'água	Endêmica no centro dos Estados Unidos e no norte do México
<i>Seminatrix pygaea</i>	Cobra do pântano preto	Endêmica no sudeste dos Estados Unidos



Estudos de toxicidade com répteis

Dentre os efeitos mais prevalentes:

- Mortalidade
- Efeitos no desenvolvimento
- Malformações em embriões derivados de ovos expostos aos agrotóxicos
- Genotoxicidade
- Alteração em enzimas antioxidantes
- Parâmetros hematológicos
- Alterações endócrinas
- Danos hepáticos
- Parâmetros imunológicos
- Bioacumulação nos tecidos

Agrotóxicos testados:

28 herbicidas

24 inseticidas

8 fungicidas

1 regulador de crescimento (diflubenzuron)



97.2% dos estudos realizados em laboratório

1 estudo de campo



Estudos de toxicidade com répteis

Tipos de exposição:

- Aplicação por gavagem: 32,78% dos estudos
- Aplicação direta na casca dos ovos: 14,75% dos estudos
- Coleta de ovos em local com a presença de agrotóxicos
- Aplicação dérmica
- Aplicação via alimentação
- Pulverização direta sob os organismos.

PONTOS A CONSIDERAR

Praticamente **todos os estudos** relataram efeitos letais ou subletais nos organismos expostos

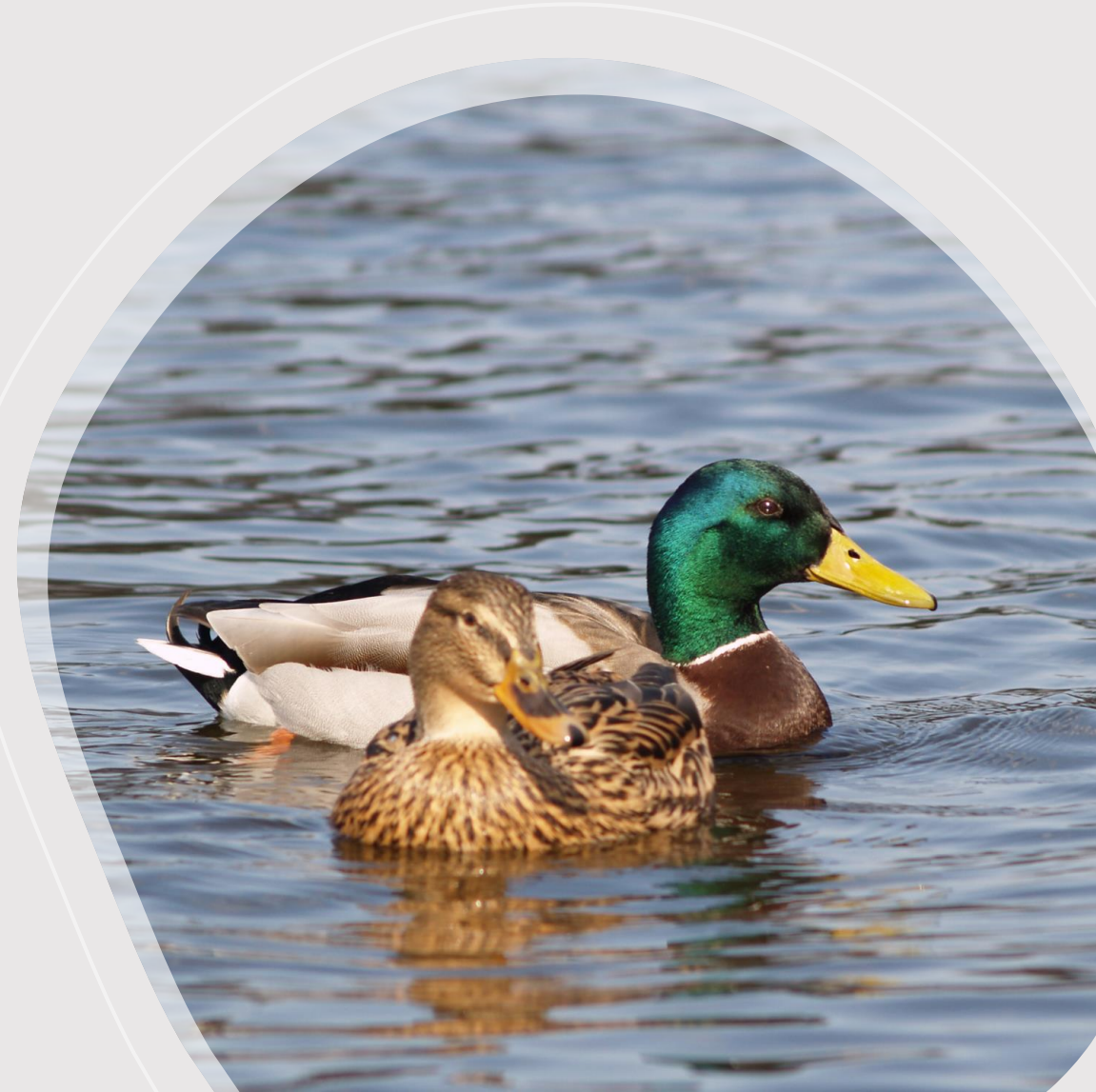
1 estudo: efeito combinado **agrotóxico + temperatura** (Willingham, 2005).

Potencial dos agrotóxicos interferirem em aspectos endócrinos em répteis de clima tropical

Anfíbios nativos (fase terrestre) x aves: exposição via oral



- Estudos majoritariamente baseados em exposição aquática ou semi-aquática
- Raros estudos com exposição via oral em anfíbios nativos



Considerando:

- Os distintos mecanismos toxicodinâmicos dos agrotóxicos
- Vias endócrinas da metamorfose em anfíbios (particularidade dentre os vertebrados)
- Grande limitação de dados toxicológicos para as espécies de anfíbios e répteis nativos

Conclui-se:

- Necessidade de ampliação do conhecimento da toxicidade dos agrotóxicos em anfíbios e répteis (cenário mais realístico)
- Dificuldade em definir fatores de extrapolação seguros para os diferentes agrotóxicos com base nos seus modos de ação e efeitos subletais
- Base de dados muito limitada para assumirmos fatores seguros





1º WORKSHOP SOBRE BASES TÉCNICO-CIENTÍFICAS DA AVALIAÇÃO DE RISCO AMBIENTAL DE AGROTÓXICOS

Apoio:



MINISTÉRIO DA
JUSTIÇA E
SEGURANÇA PÚBLICA





Avaliação de Risco Ambiental de Agrotóxicos para Anfíbios e Répteis

Ester Obrecht Bensadon

Analista Ambiental da Coordenação de Avaliação Ambiental de
Substâncias e Produtos Perigosos (COASP) – CGASQ/DIQUA -
IBAMA

ester.bensadon@ibama.gov.br

diqua.projetos@ibama.gov.br

Início do trabalho – Questões:

2

- 1) Anfíbios e Répteis podem estar presentes nas áreas de cultivo durante a aplicação de agrotóxicos?
- 2) Há espécies que podem ser representativas para a ARA?
- 3) Quais os objetivos de proteção?
- 4) Quais rotas de exposição seriam relevantes?
 - Fase Terrestre (Anfíbios) e Répteis
 - Fase aquática (Anfíbios)
- 4) Como estimar/calcular a exposição em cada uma das rotas?
- 5) Como obter os dados de toxicidade?
- 6) Podemos utilizar espécies substitutas?
- 7) Como estabelecer os níveis de preocupação?
- 8) Como refinar a ARA?

Início do trabalho – Questões:

2

“Como a Avaliação de Risco Ambiental é feita atualmente em outros países?”

US-EPA

Exposição aquática

(anfíbios fase aquática) = **peixes**

US-EPA

exposição via dieta

(anfíbios fase terrestre e répteis) = **aves**

SCIENTIFIC OPINION



ADOPTED: 22 November 2017

doi: 10.2903/j.efsa.2018.5125

Scientific Opinion on the state of the science on pesticide risk assessment for amphibians and reptiles

EFSA Panel on Plant Protection Products and their Residues (PPR),
Colin Ockleford, Paulien Adriaanse, Philippe Berny, Theodorus Brock, Sabine Duquesne,
Sandro Grilli, Antonio F Hernandez-Jerez, Susanne Hougaard Bennekou, Michael Klein,
Thomas Kuhl, Ryszard Laskowski, Kyriaki Machera, Olavi Pelkonen, Silvia Pieper,
Michael Stemmer, Ingvar Sundh, Ivana Teodorovic, Aaldrik Tiktak, Chris J Topping,
Gerrit Wolterink, Annette Aldrich, Cecilia Berg, Manuel Ortiz-Santaliestra, Scott Weir,
Franz Streissl and Robert H Smith

Parceria IBAMA x FINATEC via Termo de Colaboração n° 3/2021 (12099721), Convênio 919478/2021 na Plataforma +Brasil

1

- Atividades executadas pela FINATEC:

4.1 Elaborar relatório técnico, a partir de dados bibliográficos, sobre espécies de répteis e anfíbios nativos da fauna brasileira com ocorrência nas áreas de produção agrícola.

4.2 Elaborar relatório técnico, a partir de dados bibliográficos, sobre a indicação de espécies que possam ser consideradas representativas (espécies focais) para fins de avaliação de risco de anfíbios e répteis, presentes nas áreas de produção agrícola brasileiras, por região ou bioma de ocorrência.

4.3 Elaborar relatório técnico, a partir de dados bibliográficos, sobre a caracterização de corpos hídricos representativos para a reprodução e fase aquática de anfíbios, com indicação das dimensões e ocorrência em áreas agrícolas ou adjacentes.

4.4 Elaborar relatório técnico, a partir de dados bibliográficos, sobre ecotoxicidade de agrotóxicos para anfíbios e répteis (nativos e espécies padrão de testes de laboratório); levantamento da sensibilidade relativa para a construção curvas de distribuição de sensibilidade de espécies (SSD) e cálculo de fatores de extrapolação (fatores de segurança) de toxicidade entre espécies; identificação de grupos de produtos agrotóxicos com similaridade no potencial tóxico para répteis e anfíbios em função de classe de uso (inseticida, fungicida, etc), grupo químico, modo de ação, etc.

Anfíbios e Répteis

2

- **Objetivos de proteção específicos (OPEs)** - Abordagem da EFSA: associa a definição dos objetivos de proteção específicos (OPEs) ao conceito de “serviços ecossistêmicos”.

“Proteção da biodiversidade, juntamente com a proteção dos serviços ecossistêmicos”

- Serviços ecossistêmicos fornecidos por anfíbios e répteis:

1) Recursos genéticos, biodiversidade (provisão e apoio).

2) Educação e inspiração, valores estéticos e diversidade cultural (cultural).

3) Recursos farmacêuticos (provisão).

4) Alimentos (provisão).

5) Ciclagem de nutrientes (suporte).

6) Formação da estrutura do solo (suporte).

7) Controle de surtos de pragas e doenças (regulação).

8) Resistência à invasão (regulação).

9) Provisão de alimentos, suporte da teia alimentar (suporte).

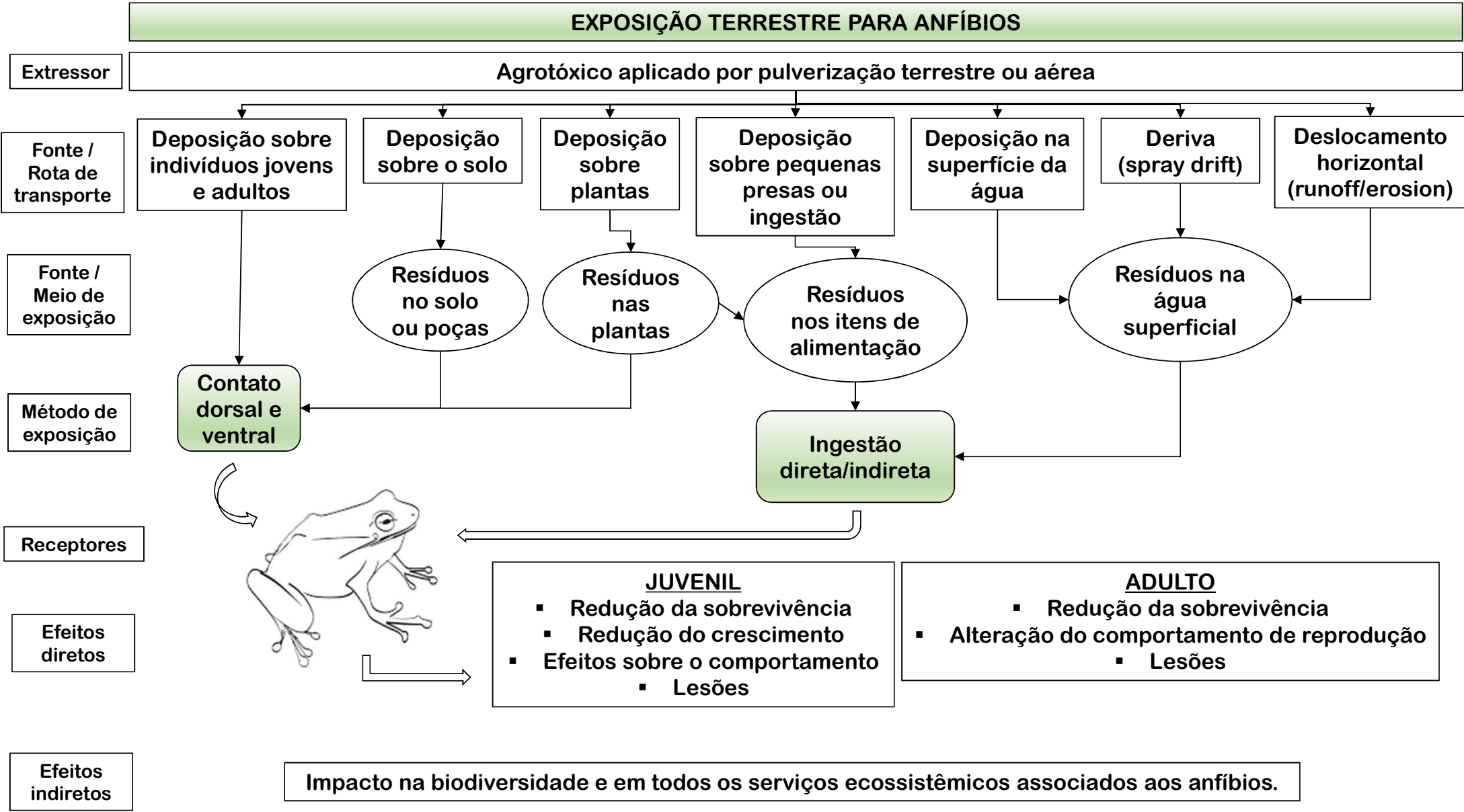
Anfíbios e Répteis

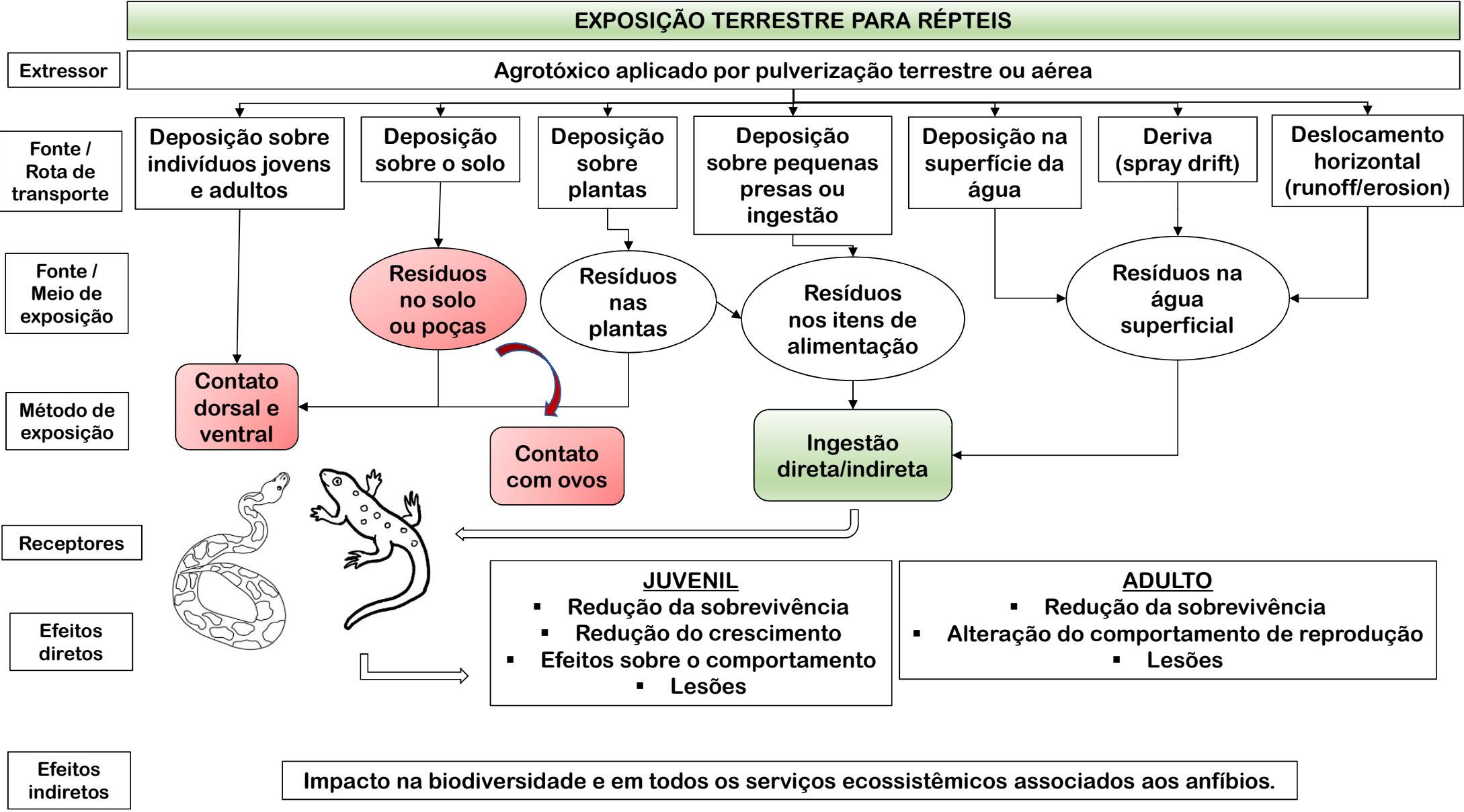
2

São consideradas **dimensões de um objetivo de proteção específico** (OPE):

- a **ENTIDADE ECOLÓGICA** a ser protegida [indivíduos, (meta)populações, grupos funcionais ou ecossistemas],
- o(s) **ATRIBUTO**(s) dessa entidade que devem ser protegidas (comportamento, sobrevivência/crescimento,...),
- a **MAGNITUDE** do efeito que pode ser tolerado pelos atributos a serem medidos (escala biológica),
- a **ESCALA TEMPORAL** do efeito,
- a **ESCALA ESPACIAL** do efeito (dentro ou fora da área tratada, borda do campo,...).

Grupo de organismos	Entidade ecológica/Atributo	Magnitude e duração dos efeitos	
		Opção: abaixo do limite	Opção: no limite
Anfíbios e Répteis			
Adultos e jovens	Indivíduo/mortalidade	Efeito negligenciável	Efeito negligenciável
Todos os estágios de vida	População/mudanças na abundância, distribuição, taxa de crescimento da população	Efeito negligenciável Pequeno efeito de até semanas	Pequeno efeito de até meses





Anfíbios (fase terrestre) e Répteis – Exposição oral

2

EXPOSIÇÃO ORAL – ANFÍBIOS (fase terrestre) e RÉPTEIS: “Ingestão de alimentos contaminados (pequenos artrópodes) na área tratada”

Modelo US-EPA: T-REX (Terrestrial Residue Exposure)(Versão 1.5.2)(EPA, 2013): calcula os resíduos de agrotóxicos em itens alimentares (grama baixa, grama alta, plantas de folha larga e frutos/sementes/vagens e **artrópodes**) e o RQ com base na toxicidade oral para aves.

Quociente de Risco (RQ) = $\frac{\text{Exposição (CAE)}}{\text{Toxicidade}}$

ARA de aves pode cobrir a ARA para anfíbios (fase terrestre) e répteis com os seguintes níveis de preocupação:

- ✓ LOC 0,1 (agudo)(espécies ameaçadas de aves)
- ✓ LOC 1,0 (crônico)



Caso esses gatilhos sejam excedidos, a ARA segue para o T-HERPS

Utiliza equação de consumo alimentar de aves = maior taxa de ingestão alimentar

Anfíbios (fase terrestre) e Répteis – Exposição oral

2

Modelo US-EPA: T-HERPS Versão 1.0 (2008) - Exposição dietética

US-EPA T-HERPS: Avaliação da exposição e do risco para o **Sapo de patas vermelhas da Califórnia** [California red-legged frog (CRLF) (*Rana aurora draytonii*)] e para anfíbios (fase terrestre) e répteis com **comportamento dietético similar a este**.

A US-EPA usa dados de toxicidade para **aves** como substitutas para anfíbios (fase terrestre) e répteis.

Alterações no T-REX para permitir a estimativa da ingestão de alimentos para anfíbios (fase terrestre) e répteis

1) Equação alométrica da ingestão de alimentos:

$$FI = 0.013(Wt)^{0.773}$$

FI = ingestão alimentar (*food ingestion*) [g/day].



(Rã-touro)

**“Pesos corporais podem ser alterados” –
Espécies representativas**

A equação usa dados de um **réptil (iguanídeo insetívoro)**, mas foi também validada para um anfíbio fase-terrestre (rã-touro), somente **insetívoros**.

Anfíbios (fase terrestre) e Répteis – Exposição oral

2

Adição de **pequenos mamíferos e anfíbios** como itens potenciais da dieta

Algumas espécies de répteis e anfíbios fase-terrestre consomem pequenos mamíferos e outros anfíbios.

Como os CRLFs maiores podem suprir até aproximadamente metade de sua dieta com o consumo de presas maiores (vertebrados), a exposição potencial dessas fontes de alimentos precisa ser avaliada.

EECs do consumo de presa-herpetofauna

O peso da presa foi baseado nos dados da **Rã-arborícola-do-pacífico (Pacific tree frog)(*Pseudacris regilla*)**, que foi reportado como um item dietético do CRLF. **O usuário pode alterar o peso do anfíbio presa, conforme necessário para avaliações específicas da espécie.**



CONCENTRAÇÃO DO PESTICIDA NO ITEM
PRESA HERPETOFAUNA =
CONCENTRAÇÃO DE EXPOSIÇÃO NA
DIETA

Rã-arborícola-do-pacífico (Pacific
tree frog)(*Pseudacris regilla*)

*Conhecer os hábitos alimentares das nossas espécies eleitas como
representativas. Conhecer suas possíveis presas...*

EECs do consumo de presas-mamíferos

O avaliador pode escolher o peso corporal do item presa consumido pelas espécies avaliadas. Para o CRLF, assume-se que os mamíferos presas sejam de **35 gramas**, que é o maior peso final de um camundongo (U.S. EPA, 1993). **No entanto, pesos corporais alternativos podem ser inseridos.**

Anfíbios (fase terrestre) – Exposição dérmica

2

Chemosphere 189 (2017) 619–626

Contents lists available at ScienceDirect

Chemosphere

journal homepage: www.elsevier.com/locate/chemosphere



An interspecies correlation model to predict acute dermal toxicity of plant protection products to terrestrial life stages of amphibians using fish acute toxicity and bioconcentration data



Lennart Weltje ^{a,*}, Philipp Janz ^a, Peter Sowig ^b

^a BASF SE, Crop Protection – Ecotoxicology, Speyerer-Strasse 2, D-67117 Limburgerhof, Germany

^b Bayer CropScience AG, Industriepark Höchst, D-65926 Frankfurt-Höchst, Germany

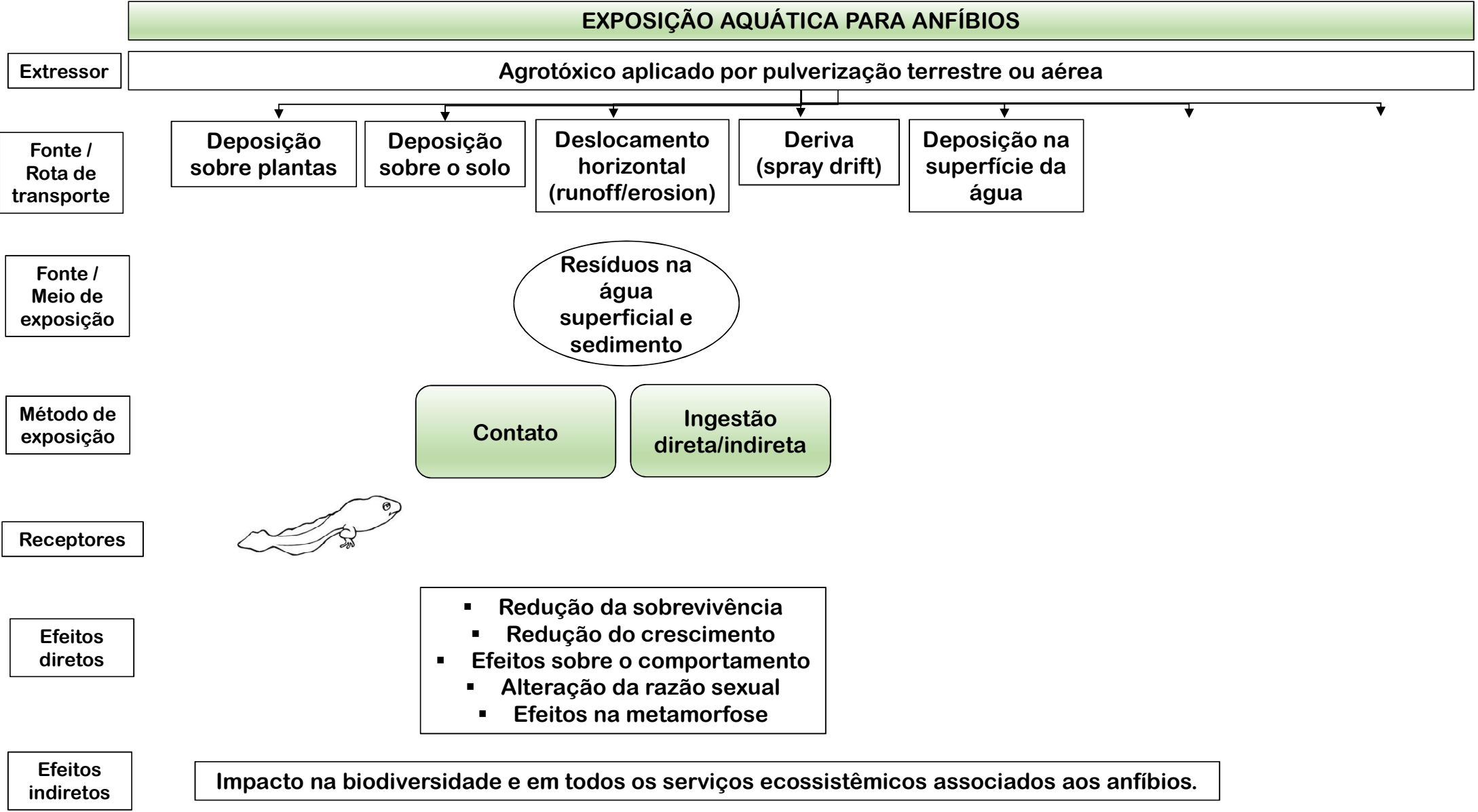
Toxicidade dérmica aguda para anfíbios – Exposição terrestre – (Seleção de outros ingredientes ativos para testes de toxicidade dérmica com a finalidade de validar o modelo) – busca de novos recursos de financiamento



Exposição: terrestre “in crop” para anfíbios fase terrestre

“via contato – aplicação foliar ou no solo (terrestre ou aérea)”





Exposição de anfíbios - fase aquática:

Pesticide Water Calculator (PWC)

Estima as concentrações de agrotóxicos em corpos d'água a partir de aplicações em campo.

US-EPA e PMRA Health Canada

Corpo de água personalizado:

definido com dimensões específicas, incluindo a área do campo [m²], área do corpo d'água [m²], profundidade inicial [m], profundidade máxima [m] e comprimento hidráulico [m].

Ajuste: “Corpos d’água representativos para a reprodução de anfíbios” - Validação necessária a partir de simulações”

Pesticide Water Calculator (PWC), Version 2.001

File Scenario Help

Chemical Applications Land Crop Runoff Watershed Batch Runs More Options Out: Pond Out: Reservoir Out: Custom Out: GW Advanced

Simulation Type

☐ EPA Pond

☐ EPA Reservoir

☐ Use Flow Averaging (days)

☐ Ground Water

User-Defined Surface Water Body
(Choose one or none):

☐ Varying Volume & Flowthrough

☒ Constant Volume No Flowthrough

☐ Constant Volume with Flowthrough
Flow Averaging (days)

☐ No Water Body (PRZM Only)

Sediment Accounting

☐ Sediment Disappears

☒ Sediment Mass Balance

Distribution of Eroded Pesticide

☒ Varying

☐ Constant Fraction
Delivered to Benthos

Watershed and Water Body Dimensions

	EPA Pond	EPA Reservoir	User Defined
Field Area (m ²)	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Water Body Area (m ²)	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Initial Depth (m)	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Max Depth (m)	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Hydraulic Length (m)	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Cropped Area Fraction	<input type="text" value="1.0"/>	<input type="text" value="1.0"/>	<input type="text" value="1.0"/>
Base Flow (m ³ /s)	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text" value="0.0"/>

Water Body Physical Parameters

☐ USEPA/OPP defaults

Water Column Parameters		Benthic Parameters	
DFAC	<input type="text" value="1.19"/>	Benthic Depth (m)	<input type="text" value="0.05"/>
Water ColumnSS (mg/L)	<input type="text" value="30"/>	Benthic Porosity	<input type="text" value="0.50"/>
Chlorophyll (mg/L)	<input type="text" value="0.005"/>	Bulk Density (g/cm ³)	<input type="text" value="1.35"/>
Water Column foc	<input type="text" value="0.04"/>	Benthic foc	<input type="text" value="0.04"/>
Water Column DOC (mg/L)	<input type="text" value="5.0"/>	Benthic DOC (mg/L)	<input type="text" value="5.0"/>
Water Column Biomass (mg/L)	<input type="text" value="0.4"/>	Benthic Biomass (g/m ²)	<input type="text" value="0.006"/>
		Mass Xfer Coeff. (m/s)	<input type="text" value="1e-8"/>

Ready...

Working Directory: Working Directory: Not yet specified. Use save or retrieve.

IO Family Name: File name not yet determined. Use Save or retrieve.

Run

Toxicidade para anfíbios - fase aquática:

2

ARA para Anfíbios – fase aquática:

- **Fase 1:** Utilização da toxicidade para peixes (fator de segurança a ser estabelecido, se necessário)

Outros procedimentos em estudo:

- **FETAX, the Frog Embryo Teratogenesis Assay – Xenopus** (Bantle et al., 1990) standardised by the American Society of Testing and Materials (ASTM test no. E1439-12) pode ser utilizado para:

- ARA – Anfíbios (fase aquática)
- Identificar efeitos na metamorfose

Obrigada pela atenção!!

1º Workshop sobre bases técnico- científicas da ARA

Répteis & Anfíbios

Dr. Veríssimo G. M. de Sá
Corteva Agriscience

14 de fevereiro de 2023



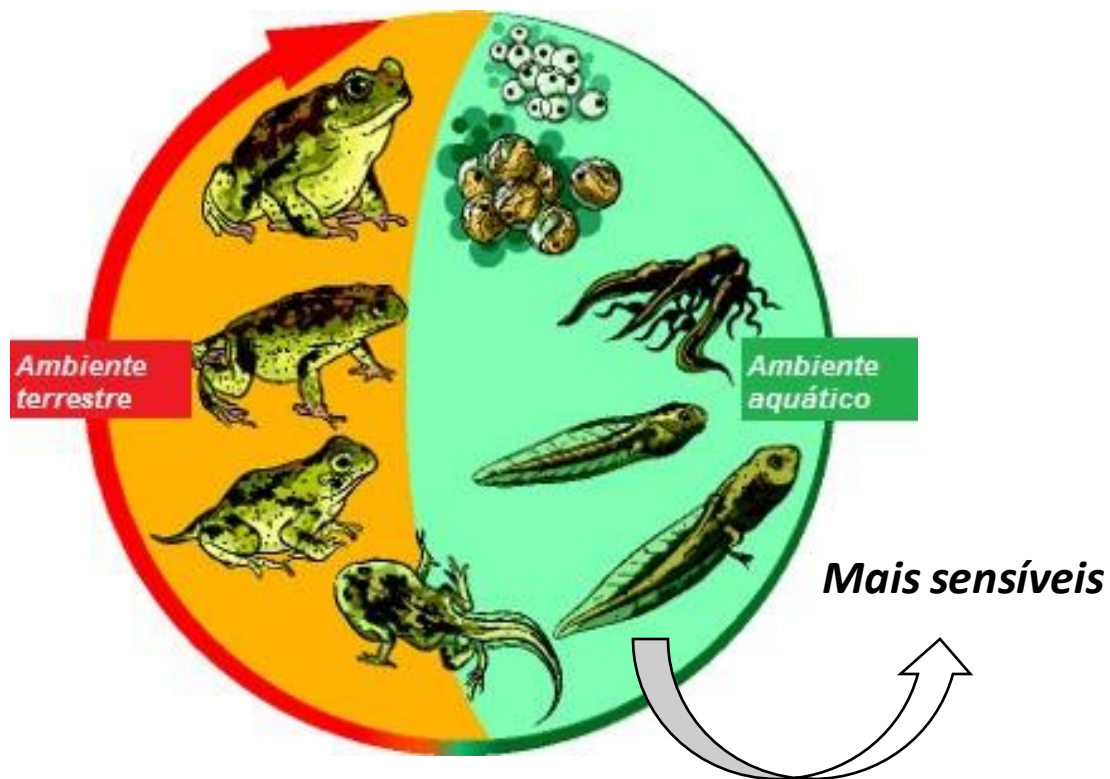
- Ainda não existe avaliação de risco específica para anfíbios e répteis para tomada de decisão ao redor do mundo.
- Anfíbios e répteis terrestres atualmente são representados por aves e mamíferos na avaliação do risco via princípio de “substituição” (“*surrogacy*” como descrito pelo USEPA).
- As fases aquáticas são consideradas cobertas pela avaliação de risco de peixes*
- Há preocupações de que os organismos “substitutos” não sejam protetivos em todos os casos, já que a exposição dérmica não é considerada e esta é especialmente relevante para anfíbios. Portanto, os esforços devem se concentrar na exposição dérmica.

* Weltje et al. 2013. Comparative acute and chronic sensitivity of fish and amphibians: a critical review of data. Environ Toxicol Chem 32(5):984-94.

* Ortiz-Santaliestra et al. 2018. Validity of fish, birds and mammals as surrogates for amphibians and reptiles in pesticide toxicity assessment. Ecotoxicology 27, 819-833.

* Aldrich et al. 2016. Amphibians and plant-protection products: what research and action is needed? Environmental Sciences Europe 28, 17.

* Glaberman et al. 2019. Evaluating the role of fish as surrogates for amphibians in pesticide ecological risk assessment. Chemosphere 235, 952-958



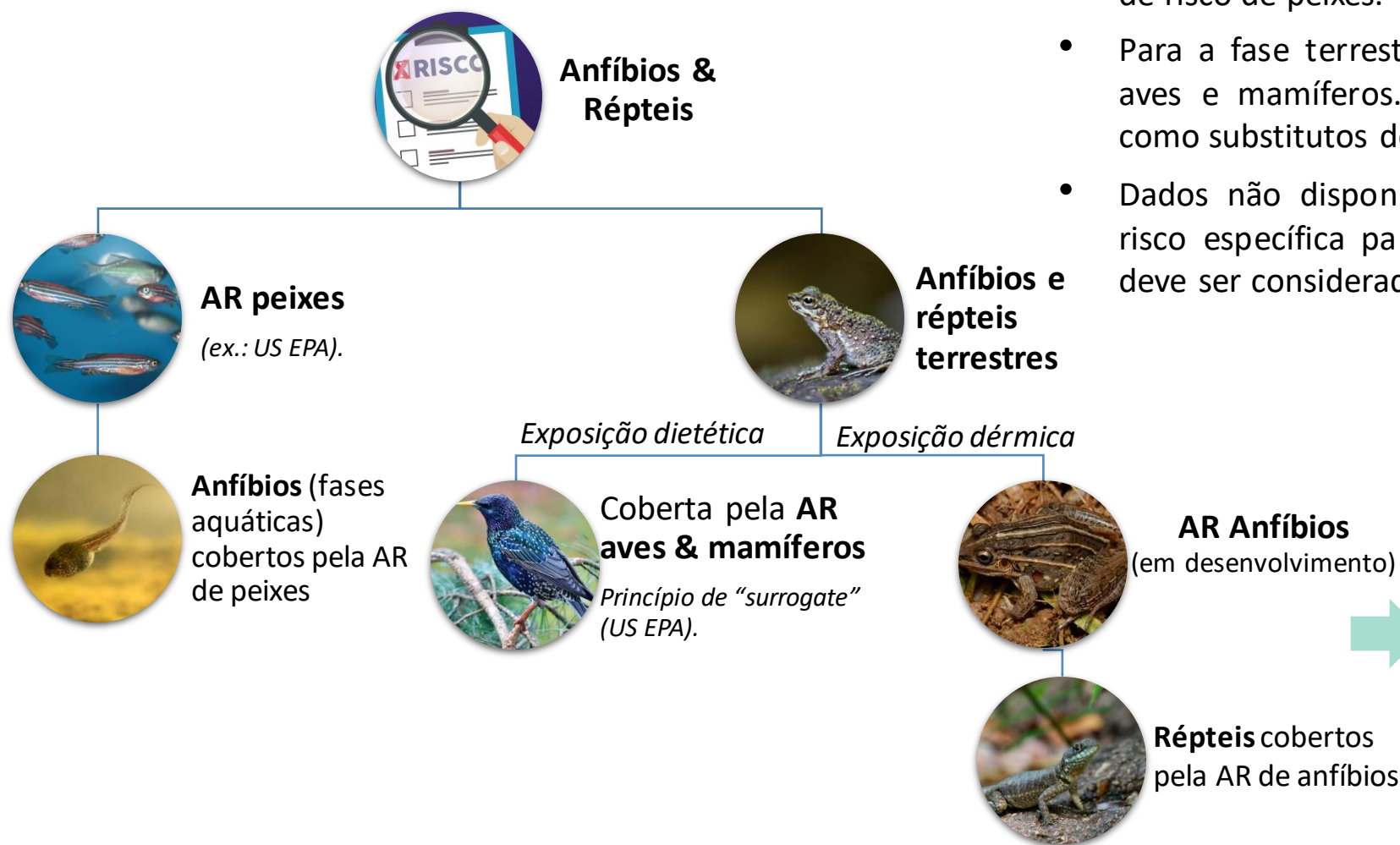
- Dados toxicológicos disponíveis principalmente para estágios larvais de anfíbios. Os girinos (larvas) podem ser considerados igualmente ou mais sensíveis do que os anfíbios adultos.
- Múltiplas análises disponíveis comparando a sensibilidade aguda e crônica de peixes e anfíbios (girinos) a vários produtos químicos/pesticidas. Os resultados mostram que os anfíbios são cobertos por desfechos (*endpoint*) de toxicidade de peixes seguindo a prática de avaliação de risco existente (UE, EUA).

- As revisões de literatura sugerem o potencial do uso de **modelos de correlação** para **toxicidade**, mas são **limitados** pela **disponibilidade de dados**.
- Foco na **toxicidade aguda**, pois há dados disponíveis. A avaliação de risco crônico dependerá do desenvolvimento de novos estudos.
- A **exposição alimentar** é considerada **coberta por aves e mamíferos**, devido às suas maiores exigências energéticas (homeotermia vs. pecilotermia) e maior taxa de ingestão alimentar.
 - Modelos T-REX e T-HERPS (US EPA).
 - Outros modelos podem ser utilizados para derivar a taxa de ingestão de alimentos e estimar as cargas corporais resultantes, se necessário*.

* Scott et al. 2010. Ecological risk of anthropogenic pollutants to reptiles: Evaluating assumptions of sensitivity and exposure. Environmental Pollution xxx (2010) 1-11.

* Fryday & Thompson. 2009. Exposure of reptiles to plant protection products - A Report to EFSA. CFT/EFSA/PPR/2008/01. 357p.

- **AR** focada na **exposição dérmica**, especialmente **para anfíbios**, devido à sua **pele altamente permeável**.
- Os dados de répteis são ainda mais limitados do que os de anfíbios (portanto, provavelmente seriam baseados quase exclusivamente em extrapolação). No entanto, as rotas de exposição e a fisiologia da herpetofauna são consideradas semelhantes.
- **A absorção dérmica em répteis é menor que nos anfíbios** devido às propriedades da pele. Dadas as muitas semelhanças entre os grupos (poiquilotermia, estilo de vida, nível trófico, necessidades de energia, etc.), a **exposição dérmica de anfíbios** representa o pior cenário e pode **cobrir a exposição dérmica de répteis**.
- Não há dados disponíveis de toxicidade e exposição para avaliar o risco em ovos. A prioridade deveria ser o desenvolvimento de metodologias para exposição dérmica.



- As fases aquáticas são consideradas cobertas pela avaliação de risco de peixes.
- Para a fase terrestre, a exposição alimentar é coberta por aves e mamíferos. Foco na exposição dérmica à anfíbios, como substitutos dos répteis.
- Dados não disponíveis para estabelecer uma avaliação de risco específica para répteis. No entanto, a AR de anfíbios deve ser considerada representativa para répteis

Construir modelos adequados de correlação de toxicidade e desenvolver opções de refinamento devem ser os primeiros passos para a avaliação de risco de anfíbios e répteis.

- **Ainda não existe AR específica para anfíbios e répteis para tomada de decisão regulatória globalmente.**
- **Fatores de extrapolação:** devem ser evitados. Essa abordagem será superconservadora e aumentará a taxa de falso positivo.
- **Modelagem:** considerar o uso de modelagem TKTD para estabelecer doses a serem utilizadas na AR na ausência de dados de herpetofauna.
- **Refinamentos:** como refinar se um risco inaceitável é indicado? As opções de refinamento devem ser claramente propostas em um esquema de avaliação de risco. Existem métodos disponíveis?
- **Mitigações:**
 - ✓ A presença da herpetofauna na paisagem (agrícola) é determinada pela disponibilidade de habitats adequados* e sua presença pode, portanto, ser influenciada pela criação de habitats atraentes.
 - ✓ A mitigação deve considerar padrões temporais, por ex. fenologia ao longo das estações, padrões diurnos de aplicação em comparação com a presença e comportamento de esconderijo dos animais.

A análise de risco-benefício deve ser considerada na decisão na etapa final do gerenciamento de risco

* Moor et al. 2022. Bending the curve: Simple but massive conservation action leads to landscape-scale recovery of amphibians. PNAS 119:42.



Obrigado!



- Weltje et al. 2013. Comparative acute and chronic sensitivity of fish and amphibians: a critical review of data. Environ Toxicol Chem 32(5):984-94. Disponível em: <https://setac.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/etc.2149>
- Ortiz-Santaliestra et al. 2018. Validity of fish, birds and mammals as surrogates for amphibians and reptiles in pesticide toxicity assessment. Ecotoxicology 27, 819-833. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10646-018-1911-y>
- Aldrich et al. 2016. Amphibians and plant-protection products: what research and action is needed? Environmental Sciences Europe 28, 17. Disponível em: <https://enveurope.springeropen.com/articles/10.1186/s12302-016-0085-6>
- Glaberman et al. 2019. Evaluating the role of fish as surrogates for amphibians in pesticide ecological risk assessment. Chemosphere 235, 952-958. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0045653519314079?via%3Dihub>
- Scott et al. 2010. Ecological risk of anthropogenic pollutants to reptiles: Evaluating assumptions of sensitivity and exposure. Environmental Pollution xxx (2010) 1-11. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/46380657_Ecological_risk_of_anthropogenic_pollutants_to_reptiles_Evaluating_assumptions_of_sensitivity_and_exposure
- Fryday & Thompson. 2009. Exposure of reptiles to plant protection products - A Report to EFSA. CFT/EFSA/PPR/2008/01. 357p. Disponível em: <https://www.efsa.europa.eu/fr/supporting/pub/en-13?multilink=switch>
- Moor et al. 2022. Bending the curve: Simple but massive conservation action leads to landscape-scale recovery of amphibians. PNAS 119:42. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/364307172_Bending_the_curve_Simple_but_massive_conservation_action_leads_to_landscape-scale_recovery_of_amphibians

Imagens: Shutterstock.

1. Retrato de rosto de grandes anfíbios no habitat natural. Animal na floresta tropical. Referência: 1138251083.
2. The common frog (Rana temporaria). Referência: 1529748152.
3. Lizard Tropidurus sp. Referência: 1350287951.
4. Red-Eyed Amazon Tree Frog on Large Palm Leaf/Red-Eyed Amazon Tree Frog/Red-Eyed Amazon Tree Frog (Agalychnis Callidryas). Referência: 253580635.
5. Frog life cycle. Referência: 170930891.
6. Frog in the Atlantic Rainforest of Serra dos Orgaos National Park, Guapimirim Sector, Rio de Janeiro, Brazil. Referência: 419508337.
7. Zebrafish (Danio rerio) aquarium fish. Referência: 212364877.
8. Close up and detailed single colourful tadpole swimming downwards, clean background for copy space or text overlay. Referência: 1710781345.
9. Common starling (Sturnus vulgaris), also known as the European starling. Referência: 1111808834
10. Brazilian frog of Cerrado biome. Referência: 1920568601