

Determinação do inseticida fipronil e seus efeitos tóxicos em doses subletais na abelha sem ferrão *Scaptotrigona postica*

Priscila Zem Rezende Camargo

Lucas de Andrade Calixto

Eny Maria Vieira

IQSC/USP

prizem@usp.br

Objetivos

Determinação cromatográfica do fipronil em amostras de tecidos da abelha *Scaptotrigona postica* e analisar os efeitos de doses letais após exposição oral aguda.

Métodos e Procedimentos

Este trabalho pode ser dividido em duas etapas principais: A etapa analítica e a ecotoxicológica. Para a etapa analítica foi realizada a validação do método, na qual foi feita extração otimizada de pesticidas dos tecidos das abelhas utilizando o método QuEChERS (do inglês, Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, Safe).

A etapa de determinação analítica foi feita utilizando cromatografia líquida de alta eficiência com detector de arranjo de diodos, sob as seguintes condições cromatográficas: Coluna: C18 (fase reversa); Método: Isocrático: 70:30 (H₂O/Acetonitrila); Temperatura da coluna: 30°C; Fluxo: 1mL/min; Injeção: 20µL de amostra. Comprimento de onda utilizado: 200nm.

Para a validação do método foi necessária a construção de uma curva analítica do padrão de fipronil em solvente (acetoneitrila), a construção de uma curva analítica do fipronil na matriz (tecidos da abelha *Scaptotrigona postica* após extração) e também testes para a recuperação do método. Para ambas as curvas analítica

foram utilizadas as concentrações de 50; 100; 150 ;200; 300; 400; 500 e 600 µg.L⁻¹. Para os testes de recuperação foram escolhidos os níveis de concentração 100; 300 e 600 µg.L⁻¹.

A etapa ecotoxicológica consistiu de um teste de exposição oral aguda para a determinação da CL₅₀ do fipronil para a espécie *Scaptotrigona postica*, seguindo as diretrizes da OECD. A coleta foi realizada no Meliponário Experimental do CRHEA, e para tal foram utilizadas gaiolas plásticas com perfurações. Os alimentadores foram preparados com uma solução sacarose:água 50% (m/v), embebendo o algodão em seu interior com a solução, e para os alimentadores contaminados foram utilizados padrão de fipronil nas concentrações 6,04.10⁻⁹, 5,2.10⁻⁹, 4,37.10⁻⁹, 4,87.10⁻⁹, 3,98.10⁻⁹, 3,48.10⁻⁹ g. L⁻¹ de fipronil.

A contagem do número de abelhas mortas foi feita em um intervalo de 6, 24, 48, 72, 96 horas.

Resultados

Para a curva do solvente foram obtidos bons resultados para os parâmetros de validação: A linearidade foi muito alta com coeficiente de correlação de 0,9996, sem pontos fora do intervalo de confiança. Os limites de detecção e de quantificação obtidos, respectivamente de 1,091 µg.L⁻¹ e 3,306 µg.L⁻¹ são bons já que a faixa de trabalho está seguramente acima desses limites.

Para a curva da matriz também foram obtidos bons resultados para os parâmetros de validação. A linearidade foi muito alta com coeficiente de correlação de 0,9990, sem pontos fora do intervalo de confiança. Os limites de detecção e de quantificação obtidos, respectivamente de $0,108 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ e $0,328 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ são bons já que a faixa de trabalho está seguramente acima desses limites.

Além disso obteve-se uma recuperação de 78,14% para o nível de concentração mais alto, sendo portanto uma boa recuperação.

O efeito matriz encontrado nesse estudo pode ser verificado no gráfico 1. É possível observar as curvas do solvente e da matriz e constatar que a diferença entre as inclinações entre as curvas é pequena, de -27,35%, ou seja, o efeito matriz não foi significativo para resultar em uma supressão do sinal analítico.

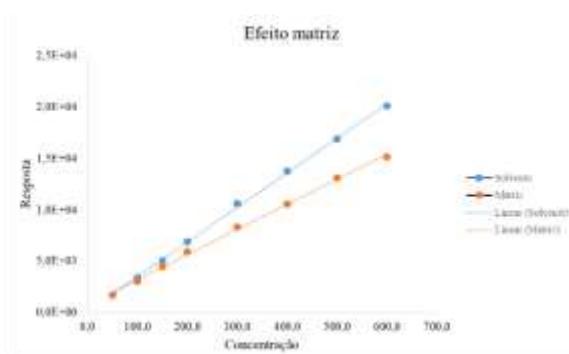


Gráfico 1: Diferença das inclinações das curvas da matriz e do solvente demonstrando o efeito matriz

O teste de exposição oral aguda permitiu o acompanhamento da mortalidade ao longo do tempo em função da concentração de fipronil aplicada. É possível visualizar que a mortalidade demora mais tempo para atingir porcentagens maiores, tendo um crescimento muito maior e mais brusco inicialmente comparando-se com as concentrações mais altas, de acordo com o gráfico 2.

A CL_{50} para o período das 6h foi de $3,47 \cdot 10^{-9} \text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ e ao longo do experimento essa concentração diminuiu até $2,02 \cdot 10^{-9} \text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ no período de 48h, que foi a menor CL_{50} calculada ao longo do experimento. Esse é um valor de concentração letal muito menor comparado as outras abelhas nativas ou a abelha *Apis mellifera*, ou seja, a *Scaptotrigona postica* tem uma sensibilidade

muito maior ao fipronil do que outras abelhas na literatura.

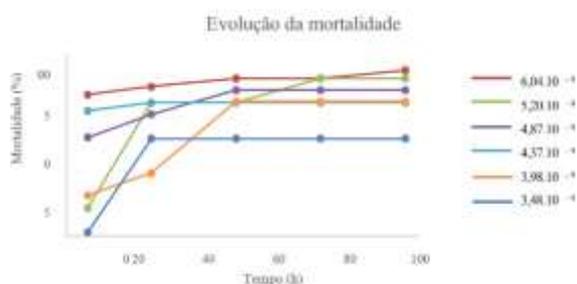


Gráfico 2: Evolução da mortalidade em função do tempo para cada concentração

Conclusões

O método QuEChERS proposto para a realização da extração para matrizes complexas demonstrou ser um método eficiente no que se propõe.

A validação do método de extração associado a análise cromatográfica demonstra que o método escolhido atende aos parâmetros avaliados, e, portanto o método escolhido para a análise do fipronil nos tecidos da abelha *Scaptotrigona postica* foi um método adequado para essa análise e corretamente validado

A CL_{50} - 48h calculada foi de $2,02 \text{ng}\cdot\mu\text{L}^{-1}\cdot 10^{-6}$, um valor muito mais baixo do que o esperado comparando-se com outros estudos envolvendo abelhas nativas. A *Scaptotrigona postica* portanto apresenta uma sensibilidade muito grande ao fipronil comparada com outras abelhas nativas e a *Apis mellifera*.

Devido ao papel fundamental que as abelhas desempenham dentro do cenário da produção mundial de alimentos e produtividade de culturas, o mais adequado é a busca pelo manejo adequado de terras e práticas de cultivo que não ameacem esses polinizadores. É essencial que abelhas nativas estejam incluídas em todas as metodologias de avaliação de risco de agrotóxicos para polinizadores já que são espécies especialmente sensíveis e ameaçadas.