

**RESIDUI DI FUNGICIDI ED INSETTICIDI SU FRAGOLA: EFFETTI RELATIVI
ALL'IMPIEGO DI DOSI NORMALI E RIDOTTE DI FITOFARMACI.**

P. FLORI; G. MALUCELLI; P. TENTONI

Centro di Fitofarmacia

Dipartimento di Protezione e Valorizzazione Agroalimentare

Universita' degli studi - Bologna

P. MUSACCI

Centro di Studio per gli Antiparassitari

CNR - Bologna

RIASSUNTO

Si e' studiata la degradazione su fragola dei principi attivi procymidone, vinclozolin, penconazole, triforine, heptenophos, hexythiazox e metamidofos, utilizzati sotto tunnel nella difesa fungicida ed insetticida della coltura. L'indagine ha preso in esame gli effetti residuali di strategie di intervento che prevedevano l'applicazione anticipata dei fitofarmaci a dosi normali e ridotte del 20+50%.

E' emerso come l'applicazione a dosi ridotte di penconazole e triforine, non determini sui frutti alcuna riduzione significativa dei residui e come l'applicazione in pre-fioritura di procymidone, vinclozolin e penconazole determini residui minimi o non rilevabili. Assenti sono risultati sui frutti i residui degli insetticidi heptenophos, hexythiazox e metamidofos. L'indagine evidenzia i positivi effetti che l'impiego anticipato dei fitofarmaci e la loro applicazione a dose ridotta, esercita sulla contaminazione delle fragole prodotte sotto tunnel.

SUMMARY

**FUNGICIDE AND INSECTICIDE RESIDUES ON STRAWBERRY: EFFECTS OF
THE USE OF NORMAL AND REDUCED DOSES**

The degradation of the active ingredients procymidone, vinclozolin, penconazole, triforine, heptenophos, hexythiazox and metamidofos was studied in greenhouse on strawberry leaves and fruits. An evaluation of the residual effects of early treatment with full and 20 to 50% reduced doses of the pesticides was made.

Reduced doses of penconazole and triforine did not significantly reduce the residues on the fruits, while pre-blossoming treatments with procymidone, vinclozolin and penconazole were found to give minimum or negligible residues. No insecticide residues were found on the fruits. The study showed the positive effects which early pesticide treatments, in some cases at reduced doses, have on the contamination of strawberries grown in greenhouse.

PREMESSA

Per la facilita' con cui viene contaminata da residui di fitofarmaci la fragola e' di frequente oggetto di indagini volte a determinare, in campo e sotto tunnel, i tempi di degradazione ed i livelli residuali dei principi attivi piu' comunemente utilizzati nella difesa

Ricerca effettuata con il finanziamento del MINISTERO AGRICOLTURA e FORESTE, nell'ambito del Progetto Finalizzato "Lotta Biologica ed Integrata per la Difesa delle Piante Agrarie e Forestali" - Gruppo Residui.

fungicida ed insetticida (Cesari *et al.* 1974; Brunelli e Brandolini 1974; Pancaldi *et al.* 1975; Vanachter *et al.* 1979; Flori *et al.* 1982; Goodwin *et al.* 1985; Foschi *et al.* 1990).

Indagini di mercato condotte in Italia (Foschi e Ponti 1974) ed in altri paesi (Frank *et al.* 1990) dimostrano come la coltura riveli la presenza di residui spesso superiori ai Residui Massimi Ammessi (RMA).

In considerazione della possibilita' di contenere la contaminazione della coltura effettuando trattamenti a dosi ridotte ed intervenendo anticipatamente con principi attivi diversi (Foschi *et al.* 1990), si e' condotta una ricerca per verificare, nell'ambito dei normali programmi di difesa fungicida ed insetticida della fragola: a) la degradazione e persistenza di alcuni principi attivi poco studiati su questa coltura; b) gli effetti residuali dovuti all'impiego di dosi ridotte di fitofarmaco; c) i residui nella produzione sotto tunnel.

MATERIALI E METODI

Esecuzione della prova di campo

L'indagine e' stata effettuata su fragole cv. Addie prodotte, presso un'azienda agricola romagnola, in un tunnel di m. 138 x 6, suddiviso all'interno in 10 parcelle (4 tesi + 1 testimone ripetuti 2 volte) delle dimensioni di m. 12 x 6, disposte longitudinalmente e distanziate tra loro da una zona di rispetto di m 2. Lo studio ha interessato il comportamento residuale dei fungicidi antibotritici ed antioidici vinclozolin, procymidone, penconazole e triforine e degli insetticidi metamidofos, heptenophos ed hexythiazox, utilizzati nella difesa acaricida (Tab.1). I preparati fungicidi sono stati applicati sulle 4 tesi sia in miscela che singolarmente; metamidofos e' stato applicato su tutte le tesi e ripetizioni dell'intera prova, mentre heptenophos ed hexythiazox sono stati applicati singolarmente, ciascuno ad una delle due serie di ripetizioni.

Ad intervalli regolari di tempo si e' provveduto alla raccolta ed analisi di campioni di foglie e frutti di fragola per l'esame dei residui.

Determinazione dei residui di vinclozolin, procymidone, penconazole, metamidofos ed heptenophos

Estrazione da foglie e frutti

La tecnica adottata si ispira al metodo di Ambrus e coll. (1981), al quale si sono apportate le varianti di seguito descritte. 30 g di matrice sono omogeneizzati per 3 minuti con 100 ml di acetone distillato. Si filtra sotto leggero vuoto e si trasferisce il filtrato in imbuto separatore da 500 ml. Si aggiungono 5 g di sodio cloruro, 100 ml di una miscela etere di petrolio/metilene cloruro 1:1 (v:v) e si agita per 2 minuti.

Si raccoglie l'estratto organico in beuta da 500 ml passando su sodio solfato anidro e si riestrae il residuo acquoso con 30 ml di metilene cloruro. Si riuniscono gli estratti organici passando su sodio solfato anidro, si concentra a secco mediante rotavapor e si riprende con un volume noto di acetone. L'estratto cosi' ottenuto e' portato all'analisi gascromatografica per la determinazione quali-quantitativa dei residui.

Determinazione gascromatografica dei residui di vinclozolin, procymidone e penconazole

Sono stati determinati mediante detector a cattura di elettroni (ECD- Ni 63) operando alle seguenti condizioni strumentali:

Tab. 1 - Dosì ed epoche di applicazione dei fitofarmaci.

Principio Attivo	Nome Commerciale	% di p.a.	Dose di impiego (g/ha)		Riduzione % della dose(1)	Data del trattamento	Epoca
			f.c.	p.a.			
Procymidone + Penconazole	F Sumiclox Topas 10EC	50	80	30	-40	8 / 3 / '90	Pre-fioritura
Vinclozolin + Penconazole	F Ronilan Topas 10EC	50	60	30	-40	8 / 3 / '90	Pre-fioritura
Penconazole	F Topas 10EC	10.52	35	3,68	-20	8 / 3 / '90	Pre-fioritura
Triforine	F Saproil	18	120	21,6	-20	14 / 4 / '90	10 gg. dalla raccolta
Triforine	F Saproil	18	150	27	--	14 / 4 / '90	10 gg. dalla raccolta
Metamidophos	I Tomaron	19,5	200	39	--	1 / 3 / '90	Pre-fioritura
Heptenophos	I Hostaquick	50	80	40	--	28 / 3 / '90	20 gg. dalla raccolta
Hexythiazox	I Motacar	10	40	4	--	5 / 3 / '90	20 gg. dalla raccolta

(1) = Rispetto alla normale di campo.

F = Fungicida

I = Insetticida

Gascromatografo: Fisons mod. 6000 serie Vega;
 Colonna: in silice fusa a base di OV 17; lungh. m. 15; d.i. mm 0,32; film 0,25 µm;
 Iniettore: split/splitless;
 Temperatura iniettore: 240°C;
 Temperatura detector: 300°C;
 Programma d'analisi: 1' a 140°C; da 140 a 280°C a 10°C/min; 10 min a 280°C;
 Carrier gas (elio): velocita' 30 cm/sec;
 Integratore: Carlo Erba serie Mega;
 Volume iniettato: 1 µl
 Alle condizioni riportate i limiti di rilevabilita' analitica sono risultati di 3 µg/kg.

Determinazione gascromatografica dei residui di metamidofos ed heptenophos

Si e' operato, utilizzando il detector a fiamma selettiva (NPD), alle seguenti condizioni strumentali:

Gascromatografo: HRGC Fisons mod 5300 serie Mega;
 Colonna: in silice fusa a base di OV 17; lungh. m 15; d.i. mm 0,32; film 0,25 µm;
 Iniettore: split/splitless;
 Temperatura iniettore: 240°C;
 Temperatura detector: 280°C;
 Programma d'analisi: 1' a 90°C; da 90 a 220°C a 15°C/min.; 10' a 220°C;
 Carrier gas (elio): velocita' 30 cm/sec;
 Integratore: Spectra Physics DP 700;
 Volume iniettato: 1 µl
 Alle condizioni citate i limiti di rilevabilita' analitica sono risultati di 7 µg/kg.

Determinazione dei residui di triforine

Si e' proceduto applicando il metodo di Darskus ed Eichler (1978), che prevede: l'omogeneizzazione del vegetale con acetone; l'estrazione dei residui di triforine dal residuo acquoso con toluene; la loro trasformazione in cloralio idrato per riscaldamento con acido solforico; la distillazione in corrente di azoto del cloralio idrato; la sua estrazione con formiato di etile ed infine la determinazione gascromatografica con detector a cattura di elettroni. Il limite di rilevabilita' e' risultato, alle condizioni sopra riportate, di 5 µg/kg.

Determinazione dei residui di hexythiazox

Dopo estrazione del campione come descritto al punto 1 e ripresa dell'estratto finale con acetonitrile, l'hexythiazox e' stato determinato tramite cromatografia liquida ad alta pressione (HPLC) (Galantini e Laffi 1991) utilizzando una colonna RP 18 lunga cm 25 e d.i. mm 4. Quale fase mobile era adottata una miscela acqua:acetonitrile:metanolo 27:62:11 (v:v:v), con flusso di 1 ml/min. La rivelazione era condotta a 256 nm con un limite di sensibilita' analitica di 10 µg/kg.

Determinazione dei tempi di semivita

Dei principi attivi e' stata calcolata la semivita su foglie e frutti di fragola (Tab.4). Questa era determinata effettuando l'analisi della regressione dei dati sperimentali secondo il modello lineare $y = a + bx$, elaborati applicando la procedura dei minimi quadrati con l'ausilio del programma di elaborazione "Statgraphics".

RISULTATI

Degradazione dei fungicidi antioidici ed antibiotritici (Tab. 2)

L'applicazione in pre-floritura degli antibiotritici procymidone e vinclozolin e dell'antioidico penconazole determina elevate concentrazioni dei prodotti sulle foglie.

Dopo 28 giorni, alla formazione delle prime fragole, si riscontrano sui frutti residui dell'ordine di 0,1÷0,5 ppm, i quali decadono a bassi livelli con lo sviluppo e maturazione delle fragole. Dopo 51÷58 giorni, epoca nella quale i frutti risultano maturi e pronti per il consumo, si hanno nelle diverse tesi 0,07÷0,08 ppm di procymidone; 0,005 ppm di vinclozolin ed un massimo di 0,04 ppm di penconazole. Quest'ultimo, applicato a dose ridotta del 50%, mostra di non provocare sui frutti residui rilevabili.

Per triforine il trattamento in presenza dei frutti determina sulle fragole mature residui di 0,02÷0,2 ppm. Non si rileva alcuna differenza significativa nei valori residuali determinati dalla dose normale e dalla dose ridotta del 20%.

La semivita dei principi attivi su foglie e su frutti di fragola (Tab.4), evidenzia una differente velocita' di degradazione del triforine, che scompare lentamente sulle foglie (semivita di 14÷16 giorni) e molto piu' rapidamente sui frutti (semivita di 2 giorni).

Identica appare la semivita di vinclozolin su foglie e su frutti (4 e 7 giorni), mentre procymidone si mostra piu' persistente sui frutti (semivita di 12 giorni) che non sulle foglie (6 giorni).

Penconazole infine evidenzia sulla coltura una certa variabilita' nella velocita' di scomparsa (semivita di 3÷14 giorni), conseguenza della variabilita' dei residui.

Tab. 2 - Degradazione dei fungicidi antioideici ed antibiotici su foglie e frutti di fragola.

Giorni dal trattamento	Residui (mq./Kg o p.p.m.) (1)											
	Procymidone (40%) + Penconazole (20%)				Vinclozolin (40%) + Penconazole (50%)				Triflorine (20%)			
	foglia	frutti	foglia	frutti	foglia	frutti	foglia	frutti	foglia	frutti	foglia	frutti
1	132,100	n.a.	13,700	n.a.	12,700	n.a.	14,230	n.a.	126,300	10,400	222,270	11,850
4	48,800	n.a.	4,950	n.a.	3,000	n.a.	4,890	n.a.	-	-	-	-
5	-	-	-	-	-	-	-	-	88,800	2,000	220,300	3,210
7	26,110	n.a.	4,820	n.a.	3,030	n.a.	4,820	n.a.	94,940	0,335	214,010	0,413
14	26,170	n.a.	3,480	n.a.	0,530	n.a.	2,180	n.a.	60,960	0,212(*)	114,110	0,270(*)
21	16,190	n.a.	2,170	n.a.	0,480	n.a.	1,000	n.a.	47,270	0,020(*)	97,200	0,022(*)
28	11,600	0,540	2,180	0,130	0,490	0,130	0,660	0,180	-	-	-	-
35	7,300	0,160	1,410	0,036	0,730	0,025	0,490	0,100	-	-	-	-
42	1,520	0,120	0,380	0,080	0,110	0,010	0,220	0,038	-	-	-	-
51	0,110	0,060(*)	0,008	0,040(*)	0,080	0,005(*)	0,080	0,018(*)	-	-	-	-
59	0,120	0,070(*)	0,004	0,020(*)	0,003	n.r.(*)	0,030	0,010(*)	-	-	-	-

(1) = Media matematica di 6 dati analitici (2 ripetizioni di campo per 3 ripetizioni di laboratorio).
n.a. = "non analizzato" per assenza di frutti.
n.r. = "non rilevabile" in quanto inferiore al limite di sensibilità analitica del metodo (vedi test).
(*) = frutti maturi disponibili per il consumo.

Tab. 3 - Degradazione dei principi attivi insetticidi su foglie e frutti di fragola.

Tempo del trattamento	Residui (mg/kg o ppm)					
	Heptenophos		Hexythiazox		Metamidophos	
	foglie	frutti	foglie	frutti	foglie	frutti
20 min.	--	--	--	--	13,710	--
90 min.	--	--	--	--	12,490	--
1 gg.	4,810	0,412	10,710	0,912	8,199	--
3 gg.	--	--	--	--	3,760	--
5 gg.	--	--	--	--	1,237	--
7 gg.	n.r.	n.r.	1,800	0,123	0,155	--
14 gg.	--	--	--	--	0,097	--
15 gg.	n.r.	n.r.(1)	0,117	n.r.(1)	--	--
21 gg.	--	--	--	--	0,082	--
23 gg.	n.r.	n.r.(2)	0,031	n.r.(2)	--	--
28 gg.	--	--	--	--	0,080	--
35 gg.	--	--	--	--	0,062	n.r.(1)
42 gg.	--	--	--	--	0,008	n.r.(1)
49 gg.	--	--	--	--	n.r.	n.r.(2)
54 gg.	--	--	--	--	n.r.	n.r.(2)

n.r. = "non rilevabile" in quanto inferiore al limite di sensibilità analitica del metodo (vedi testo).

(1) = frutti acerbi.

(2) = frutti maturi.

Tab. 4 - Residui insetticidi e fungicidi rilevati alla raccolta e loro semivita (in giorni) su foglie e frutti di fragola.

Principi Attivi	Per. di sicur. (gg)	R.M.A. (mg/kg)	Riduz. % della dose	Residui alla raccolta	Foglie		Frutti	
					Semivita (\pm E.S)	r	Semivita (\pm E.S)	r
Vinclozolin	21	1,5	-40	0,005	4,7 (0,4)	-0,97	4,7 (0,5)	-0,98
Procymidone	14	1,5	-40	0,08	6,0 (0,7)	-0,95	12,4 (4,9)	-0,83
Penconazolo	14	0,1	-20(*)	0,040	5,5 (0,9)	-0,91	14,6 (5,8)	-0,83
Penconazolo	14	0,1	-20(**)	0,018	7,3 (0,5)	-0,99	6,7 (0,5)	-0,99
Penconazolo	14	0,1	-50	n.r.	9,9 (2,0)	-0,88	3,4 (0,7)	-0,96
Triforino	7	0,5	-20	0,220-0,020	15,8 (3,9)	-0,92	2,4 (0,4)	-0,96
Triforino	7	0,5	--	0,270-0,02	14,4 (2,7)	-0,95	2,4 (0,4)	-0,96
Metamidophos	21	0,15	--	n.r.	4,4 (0,5)	-0,95	--	--
Heptenophos	3	0,2	--	n.r.	--	--	--	--
Hexythiazox	7	0,5	--	n.r.	--	--	--	--

r = Coefficiente di Correlazione.

(*) = In miscela con procymidone.

(**) = Utilizzate singolarmente.

n.r. = "non rilevabile" in quanto inferiore al limite di sensibilità analitica del metodo (vedi testo).

n.d. = "non determinabile".

R.M.A. = Residuo Massimo Ammesso (O.M. del 18/06/90).

Degradazione dei principi attivi insetticidi (Tab.3)

L' utilizzo di metamidofos in pre-fioritura conferma, come in precedenti indagini (Foschi *et al.* 1990), la totale degradazione dell'insetticida, che alla raccolta dei frutti maturi non risulta rilevabile ne' sulle foglie ne' sui frutti. E' evidente la rapida scomparsa del prodotto gia' nei primi giorni dal trattamento.

Heptenophos rivela un limitato effetto residuale sia sulle foglie che sui frutti acerbi, tale per cui i suoi residui risultano determinabili solo al primo controllo dopo 1 giorno dal trattamento.

Per hexythiazox infine la degradazione risulta molto rapida. I suoi residui non sono rilevabili sulle fragole mature, bensì sulle foglie (0,03÷1,8 ppm) e sui frutti acerbi (0,12 ppm).

Per gli insetticidi la semivita e' risultata determinabile unicamente nel caso di metamidofos su foglie (4,4 giorni).

CONCLUSIONI

L'applicazione in pre-fioritura degli antibiotritici procymidone e vinclozolin e dell'antioidico penconazole, applicati a dosi ridotte del 20÷50% rispetto al pieno campo, consente di ottenere bassi residui sulle fragole mature. Per l'assenza di frutti al momento del trattamento la strategia si rivela particolarmente efficace nel contenimento dei residui, che alla raccolta dei frutti maturi risultano presenti in tracce o nettamente inferiori al 50% del RMA (Tab.4). Sui frutti i residui si giustificano sia per la traslocazione dei principi attivi dalle foglie, che presumibilmente per la loro ricaduta dopo evaporazione. Quest'ultimo comportamento, gia' rilevato per triadimefon (Pancaldi *et al.* 1990), risulta particolarmente significativo nell'ambiente di serra.

L'applicazione di triforine determina sulle fragole residui di 0,02÷0,2 ppm. L'antioidico degrada piu' rapidamente sui frutti che non sulle foglie ed i suoi residui risultano della medesima entita' sia a dose intera che ridotta.

Gli insetticidi metamidofos, heptenophos ed hexythiazox risultano infine poco persistenti, anche se nell'indagine i tempi intercorsi tra trattamento e raccolta erano superiori a quelli di sicurezza. Come evidenziato in una precedente indagine (Foschi *et al.* 1990) l'applicazione a dosi ridotte ed in lontananza dalla raccolta dei principi attivi utilizzati nella difesa della fragola, consente una sostanziale riduzione dei residui sui frutti maturi, conseguendo nel contempo un efficace controllo dei parassiti e dei patogeni.

RINGRAZIAMENTI

Si ringrazia il Consorzio Fruttadoro di Romagna per la collaborazione prestata nella esecuzione della ricerca.

LAVORI CITATI

- AMBRUS A., LANTOS J., VISI E., CSATLOS I., SARVARI L. (1981). General method for determination of pesticide residues in samples of plant origin, soil and water. I - Extraction and cleanup. *J. of A.O.A.C.*; 64, 733-742.
- BRUNELLI A., BRANDOLINI V. (1974). Verifica dei "tempi di sicurezza" di insetticidi e acaricidi. *Annali Accademia Nazionale di Agricoltura*; 1, 41-48.
- CESARI A., PONTI L., DE GIOVANNI G. (1974). La persistenza dei preparati antibiotritici. *Annali Accademia Nazionale di Agricoltura*; 1, 29-39.

- DARSKUS R., EICHLER D. (1978). *Analytical methods for pesticides and plant growth regulators*. Vol X, 248-251. Ed. G. Zweig, Academic Press, Inc.
- FLORI P., STANZANI R., MUSACCI P., MALUCELLI G. (1982). Degradazione e persistenza di fungicidi antibotritici impiegati sulla fragola. *Atti Giornate Fitopatologiche*; 2, 23-32.
- FOSCHI S., PONTI I. (1974). Indagine sui residui di antiparassitari nelle fragole prodotte dal "Consorzio del Fragolone". *Annali Accademia Nazionale di Agricoltura*; 1, 49-58.
- FOSCHI S., FLORI P., TENTONI P. (1990). Studio del contenimento dei residui nella difesa fitosanitaria di fragole prodotte sotto tunnel. *Atti Giornate Fitopatologiche*; 2, 391-396.
- FRANK R., BRAUN H.E., RIPLEY B.D. (1990). Residues of insecticides, and fungicides in fruit produced in Ontario, Canada 1986-1988. *Food Additives and Contaminants*; 7, 637-648.
- GALANTINI G., LAFFIR (1991). Esitiazox in alimenti zootecnici. *Laboratorio 2000*; 3, 38-39.
- GOODWIN S., AHMAD N., NEWELL G. (1985). Dimethoate Spray Residues in Strawberries. *Pesticide Science*; 16, 143-146.
- PANCALDI D., VISMARA C., LUGARESI C. (1975). Verifica dei "tempi di sicurezza" di alcuni fitofarmaci impiegati nella difesa della fragola. *Informatore Fitopatologico*; 7, 15-20.
- PANCALDI D., TENTONI P., FLORI P. (1990). Studio della traslocazione in fase di vapore del triadimefon. *Atti Giornate Fitopatologiche*; 2, 335-344.
- VANACHTER A., VAN WAMBEKE E., VAN ASSCHE C. (1979). Control of *Botrytis cinerea* on green house tomatoes by repeated spraying with vinclozolin, iprodione and imazalil and its influence on residue levels. *Proceedings of British Crop Protection Conference - Pests and Diseases*; 447-452.