

Falsi positivi di Fosetil-AI correlati all'impiego di fertilizzanti contenenti fosfiti in ambiente risicolo

Lorenzo Rossi*, Ivano Ramon*, Alessandro Costanzo*, Marco Capra*, Massimiliano Amerelli*, Jean Dubois*, Tommaso Lorenzetti*

*Sata S.r.l – Quargnento (AL)

Il Fosetil AI è una sostanza attiva da diversi anni impiegata nella formulazione di diversi prodotti fitosanitari autorizzati per il controllo di Peronospora e Fitoftora su diverse colture (vite, ortaggi a foglia, ortaggi a frutto, patate, diversi fruttiferi). Il prodotto è dotato di proprietà sistemiche e con la liberazione di acido Fosfonico agisce sia inibendo direttamente lo sviluppo dei patogeni sia favorendo lo sviluppo di meccanismi di difesa nella pianta. Per questo la normativa definisce il residuo di Fosetil AI come somma di Fosetil AI e acido Fosfonico. Nella realtà l'acido Fosfonico può provenire da fonti diverse, quali Fosfonato di Potassio, Fosfiti di Potassio (classificati come concimi, liberano nella pianta acido Fosfonico) e secondo diverse fonti anche derivati di alghe impiegabili in agricoltura biologica. La conseguenza è che l'analisi dei residui dei prodotti fitosanitari nelle piante e nelle derrate può riscontrare presenza di acido Fosfonico, non necessariamente derivato da Fosetil AI, ma che in termini di legge come residuo deve comunque essere espresso come Fosetil. Peralto anche laddove è stato realmente impiegato Fosetil, non è certo che l'analisi ne riscontri tracce, dal momento che nel vegetale la sua trasformazione in acido Fosfonico è un processo rapido e completo. Ciclicamente si assiste all'insorgere di non conformità su prodotto riso dovute alla presenza di Fosetil AI, principio attivo non registrato sulla coltura e la cui presenza sembra sia dovuta all'utilizzo di alcuni concimi fogliari comunemente distribuiti in associazione ai trattamenti fungicidi. Per verificare questo fenomeno, si è impostata una prova sperimentale con un protocollo (tabella 1) che prevedeva l'utilizzo di un concime fogliare 0-30-20 applicato a tre dosi crescenti in miscela con un fungicida standard, confrontato con una tesi caratterizzata dal solo fungicida e una tesi che prevedeva l'applicazione del Fosetil-AI. Per verificare la residualità di questi 5 diversi trattamenti, sono stati previsti tre momenti di campionamento: prima della prima applicazione (per verificare eventuali contaminazioni iniziali), 7 giorni dalla seconda applicazione e alla raccolta. I vari trattamenti sono stati sottoposti ad analisi residui per quel che riguarda la presenza di Azoxistrobin e Fosetil AI che come da normativa nel rapporto di prova dell'analisi è stato indicato come Fosetil-AI, come Ac. Fosfonico e come somma di fosetil, acido fosfonico e dei loro sali, espressa in Fosetil (indicato nell'articolo come Fosetil NORM*).

Tabella 1 – Protocollo sperimentale. Epoca di applicazione A: emergenza della pannocchia (BBCH 51), epoca di applicazione B: inizio fioritura (BBCH 61).

Tesi n.	Prodotto commerciale	Sostanza attiva	Formulazione	Dose	u.d.m.	Epoca di applicazione
1	Amistar	Azoxistrobin (250 g/l)	SC	1	l/ha	AB
2	Amistar	Azoxistrobin (250 g/l)	SC	1	l/ha	AB
	Concime fogliare	0-30-20	L	2	l/ha	AB
3	Amistar	Azoxistrobin (250 g/l)	SC	1	l/ha	AB
	Concime fogliare	0-30-20	L	4	l/ha	AB
4	Amistar	Azoxistrobin (250 g/l)	SC	1	l/ha	AB
	Concime fogliare	0-30-20	L	6	l/ha	AB
5	Amistar	Azoxistrobin (250 g/l)	SC	1	l/ha	AB
	Aliette	Fosetil-AI (800 g/kg)	WG	2	kg/ha	AB

SC: sospensione concentrata; L: liquido

I risultati analitici

Come accennato precedentemente, per verificare eventuali contaminazioni iniziali è stato effettuato un primo campionamento precedentemente la prima applicazione (emergenza della pannocchia) (foto 1). Le analisi effettuate sulla pianta di riso non hanno evidenziato alcuna contaminazione di Azoxistrobin e Fosetil-AI.



Foto 1: Primo campionamento svolto per la valutazione iniziale dello stato delle parcelle (a sinistra). Evidenza dello stadio di sviluppo della pianta, dove si nota la fase di botticella-emissione della pannocchia (a destra).

Il secondo campionamento è stato effettuato a 7 giorni dalla seconda applicazione (inizio fioritura) (foto 2) e dai risultati delle analisi residui effettuate sulla pannocchia (grafico 1) è molto evidente e significativo l'effetto dose del concime fogliare sul residuo Fosetil NORM*, che rappresenta la somma di Fosetil, acido Fosfonico e loro sali, espressa in Fosetil (come da normativa). Nei trattamenti caratterizzati dal concime 0-30-20 applicato a 4 l/ha e 6 l/ha il residuo di Fosetil NORM* è addirittura più elevato del trattamento caratterizzato dall'applicazione di Aliette (Fosetil-AI 800 g/kg). Il Fosetil-AI non è stato rilevato in nessun campione: questo conferma che la sua trasformazione in acido Fosfonico nel vegetale è un processo rapido e completo.



Foto 2: Focus della pianta in fioritura prima della seconda applicazione (a sinistra). Nebulizzazione delle parcelle svolta durante la fase di fioritura (a destra).

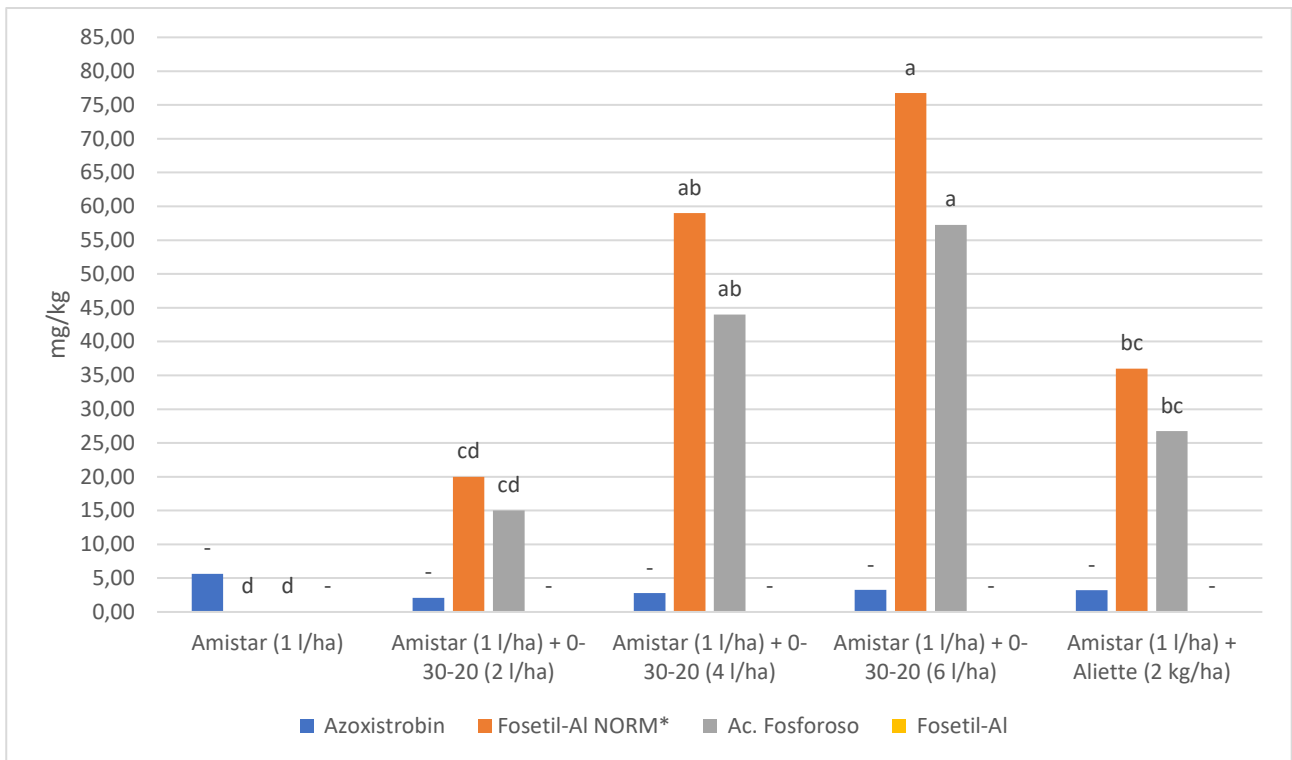


Grafico 1 - Risultati analitici dei diversi trattamenti a 7 giorni dall'ultima applicazione (pannocchie di riso). Fosetil-Al NORM* rappresenta la somma di fosetil, acido Fosfonico e dei loro sali, espressa in Fosetil). A lettere diverse corrispondono valori statisticamente differenti per $p \leq 0.05$ (test di Tukey HSD)

Il terzo campionamento è stato effettuato alla raccolta e nonostante i livelli dei vari residui siano diminuiti, le analisi residuali, effettuate sul risone, hanno riconfermato i risultati ottenuti già a 7 giorni dall'applicazione (grafico 2).

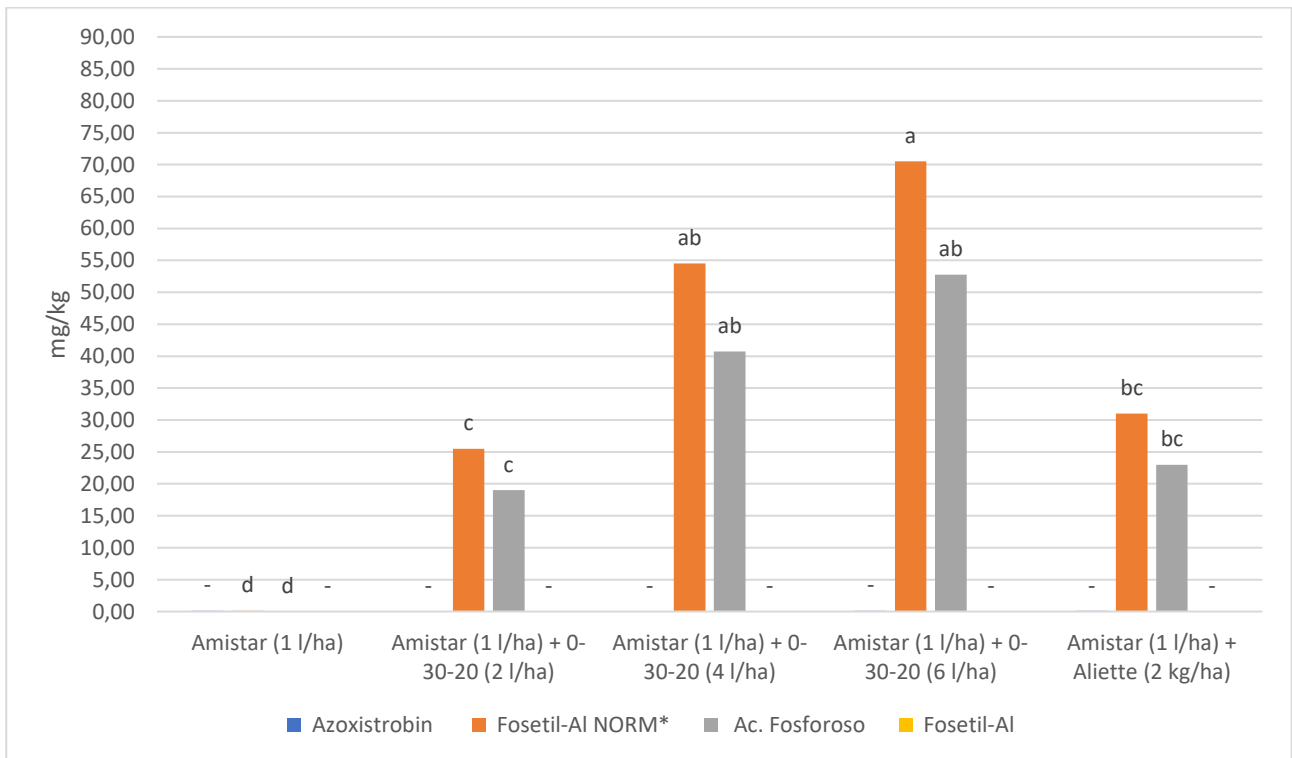


Grafico 2 - Risultati analitici dei diversi trattamenti alla raccolta (risone). Fosetil-Al NORM* rappresenta la somma di fosetil, acido Fosfonico e dei loro sali, espressa in Fosetil). A lettere diverse corrispondono valori statisticamente differenti per $p \leq 0.05$ (test di Tukey HSD)

Verifica della residualità del Fosetil AI come tale

Per verificare la presenza di Fosetil AI come tale a seguito di un'applicazione effettiva di Fosetil-AI, si è voluto ripetere un'applicazione di Aliette (2 kg/ha) su due nuove parcelle ricavate all'interno del campo. I campionamenti e le analisi residui sul risone sono state effettuate a 1 e 3 giorni dall'applicazione. Come si può vedere dalla tabella 2, che riassume i risultati, a 1 e 3 giorni dall'applicazione il residuo di Fosetil-AI effettivo è ancora visibile e si vede già una parziale trasformazione dello stesso in Ac. Fosfonico.

Tabella 2 – Risultati delle analisi effettuate a 1 giorno e a tre giorni dall'applicazione di Aliette a 2 kg/ha. U1: Incertezza calcolata secondo l'assioma di Horwitz con fattore di copertura $k=2$. U2: Incertezza calcolata secondo l'assioma di Thompson con fattore di copertura $k=2$.

Campionamento	Prodotto commerciale	Fosetil AI NORM* (mg/kg)	Ac. Fosfonico (mg/kg)	Fosetil-AI (mg/kg)
+1 giorno da applicazione	Aliette (2 kg/ha)	24± 5 (U1)	8 ±1,9 (U1)	13 ±3 (U1)
+3 giorni da applicazione	Aliette (2 kg/ha)	21±4 (U1)	13±3 (U1)	3.6±0,9 (U1)

Conclusioni e considerazioni

Si può affermare che l'impiego di concimi fogliari contenenti fosfiti, tipicamente impiegati nel riso in miscela con i fungicidi per la difesa della pannocchia, possono favorire l'accumulo di acido Fosfonico nel prodotto finale. Tutto ciò è molto evidente dai risultati ottenuti dalle analisi residui effettuate sulle pannocchie (a 7 giorni dall'ultima applicazione) e sul risone (alla raccolta) dei campioni prelevati dalle parcelle trattate con il concime fogliare 0-30-20 alle dosi di 4 e 6 l/ha. Questo fenomeno causa una reale falsa rilevazione di Fosetil-AI sul prodotto finale, che non essendo una molecola ammessa sulla coltura del riso può provocare problemi ad intere partite di prodotto. Per tale motivo è consigliabile porre molta attenzione riguardo alla tipologia di concimi fogliari/biostimolanti da utilizzare in miscela durante i trattamenti di difesa della coltura.

COME È STATA IMPOSTATA LA PROVA

La prova è stata effettuata a Borgo San Martino (AL) su Riso varietà CL388 seminata il 22 aprile 2022 e condotto secondo le tecniche agronomiche della zona. La prova è stata condotta seguendo lo schema sperimentale a "blocchi randomizzati" con parcelle di 21 m² ripetute 4 volte. Le applicazioni sono state effettuate con barra sperimentale ad aria compressa utilizzando un volume di applicazione di 400 l/ha e una pressione di 3 bar. Le applicazioni sono state effettuate all'inizio dell'emissione della pannocchia (BBCH 51 – 28/07/2022) e ad inizio fioritura (BBCH 61 – 05/08/2022). Per la determinazione dei residui dei diversi trattamenti sono stati effettuati 3 campionamenti:

- 1. Precedentemente alla prima applicazione** prelevando 500 g di piante di riso tramite un campionamento a croce di 4 punti (evitando i bordi) da ciascuna parcella e creando il coacervo delle 4 replicazioni di ogni tesi (analisi effettuata sul coacervo delle 4 replicazioni di ogni tesi);
- 2. A 7 giorni dalla seconda applicazione** prelevando 1 kg di pannocchie di riso tramite un campionamento a croce di 4 punti (evitando i bordi) da ciascuna parcella (analisi effettuata sulle singole parcelle);

3. **Alla raccolta** prelevando 1kg di risone tramite un campionamento a croce di 4 punti (evitando i bordi) da ciascuna parcella (analisi effettuata sulle singole parcelle).

Per verificare la residualità del Fosetil AI come tale, il trattamento con solo Aliette alla dose di 2 kg/ha è stato effettuato su 2 nuove parcelle della superficie di 21 m² (19/09/2022 – BBCH 89). Il campione per l'analisi residui è stato effettuato a 1 e 3 giorni dall'applicazione, prelevando 500 g di risone tramite un campionamento a croce di 4 punti (evitando i bordi) da ciascuna parcella e creando il coacervo delle 2 parcelle stesse (analisi effettuata sul coacervo delle 2 parcelle trattate).

L'analisi residui è stata effettuata seguendo la metodica definita dal EURL-SRM dal nome "Quick Method for the Analysis of numerous Highly Polar Pesticides in Foods of Plant Origin via LC-MS/MS involving Simultaneous Extraction with Methanol (QuPPE-Method) - Version 12 di luglio 2021.

I risultati delle analisi relativi al campionamento a 7 giorni dalla seconda applicazione e del campionamento alla raccolta sono stati sottoposti all'analisi della varianza e al test di Tukey con $p \leq 0,05$.

Indice delle tabelle

- Tabella 1 – Protocollo sperimentale. Epoca di applicazione A: emergenza della pannocchia (BBCH 51), epoca di applicazione B: inizio fioritura (BBCH 61). 1
- Tabella 2 – Risultati delle analisi effettuate a 1 giorno e a tre giorni dall'applicazione di Aliette a 2 kg/ha. U1: Incertezza calcolata secondo l'assioma di Horwitz con fattore di copertura $k=2$. U2: Incertezza calcolata secondo l'assioma di Thompson con fattore di copertura $k=2$ 4

Indice dei grafici

- Grafico 1 - Risultati analitici dei diversi trattamenti a 7 giorni dall'ultima applicazione (pannocchie di riso). Fosetil-AI NORM* rappresenta la somma di fosetil, acido fosfonico e dei loro sali, espressa in Fosetil). A lettere diverse corrispondono valori statisticamente differenti per $p \leq 0.05$ (test di Tukey HSD)..... 3
- Grafico 2 - Risultati analitici dei diversi trattamenti alla raccolta (risone). Fosetil-AI NORM* rappresenta la somma di fosetil, acido fosfonico e dei loro sali, espressa in Fosetil). A lettere diverse corrispondono valori statisticamente differenti per $p \leq 0.05$ (test di Tukey HSD) 3

Indice delle foto

- Foto 1: Primo campionamento svolto per la valutazione iniziale dello stato delle parcelle (a sinistra). Evidenza dello stadio di sviluppo della pianta, dove si nota la fase di botticella-emissione della pannocchia (a destra).
- Foto 2: Focus della pianta in fioritura prima della seconda applicazione (a sinistra). Nebulizzazione delle parcelle svolta durante la fase di fioritura (a destra).