



Ministerio de Agricultura,
Ganadería y Pesca
Presidencia de la Nación

“2020 – AÑO DEL GENERAL MANUEL BELGRANO”

PERSISTENCIA DE TEBUCONAZOLE APLICADO EN NARANJA VALENCIA LATE DE CONCORDIA, ENTRE RÍOS

Cecilia Kulczycki y Noelia Silva

kulczycki.cecilia@inta.gob.ar

Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria-INTA. Concordia

RESUMEN

Tebuconazole es un fungicida ampliamente utilizado en Argentina en diversos cultivos frutihortícolas y cereales y oleaginosas. Tiene efecto residual para el control de diversas enfermedades y triple modo de acción: preventivo, curativo y erradicante. Pero aún no posee registro de uso en cítricos, autorización estipulada por SENASA, careciendo de Límite Máximo de Residuos (LMR). En los principales destinos de exportación (UE, Fed. De Rusia, Canadá, Brasil, etc.) se encuentra registrado en cítricos con diferentes tolerancias (LMR).

El objetivo de este estudio es generar información sobre la cinética de degradación de tebuconazole, durante 4 meses, cuando es aplicado en naranja de la zona y así conocer el momento óptimo de cosecha, minimizando así los riesgos de excesos a diferentes exigencias de los mercados internacionales en caso de ser aprobado. Para ello se seleccionó un lote de naranja Valencia Late perteneciente a la EEA Concordia del INTA. La aplicación se realizó bajo Buenas Prácticas Agrícolas (BPA) con mochila eléctrica calculando el volumen de caldo a través de la metodología TRV (Tree Row Volume). Se registraron las condiciones meteorológicas de lluvia, velocidad de viento y temperatura. Las muestras de frutas se recolectaron por triplicado a los 7, 14, 21, 28, 42, 56, 89, 124 días posteriores de la aplicación y se transportaron inmediatamente al laboratorio de pesticidas para su procesamiento y extracción por el método europeo QuEChERS citrato. Los análisis de residuos se realizaron mediante cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas UPLC-QqQ-MS/MS. En las muestras de jugo y pulpa (fruta sin cáscara) analizadas durante toda la curva, no se detectaron residuos del fungicida (por debajo del límite de detección LD=0.005 mg/kg). Y en los frutos enteros analizados con cáscara se detecta un valor inicial que no supera los 0,262 mg/kg de residuos de tebuconazole. A la semana la reducción es importante, del 70% del valor inicial y así continúa la degradación, aunque es de resaltar que al final del ensayo, siguen detectándose residuos a valores no menores de 0,017 mg/kg.



INTRODUCCIÓN

La producción de cítricos, al igual que otros cultivos, demanda la continua evaluación de riesgos en el uso de pesticidas, ya sea con respecto al impacto ambiental, el respeto por el operador y más aún por la presencia de residuos provenientes de su aplicación en la fruta a ser consumida. Esto determina una continua búsqueda de alternativas de control igual de efectivas pero menos riesgosas para la salud del consumidor.

Tebuconazole es un fungicida del grupo de los triazoles, tiene efecto residual para el control de diversas enfermedades (sarna, podredumbre morena, oidio, etc.) y triple modo de acción: preventivo, curativo y erradicante. Es muy utilizado en Argentina en diversos cultivos frutales: arándano, manzano, durazno, granada, nectarina y uva de mesa. El Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria (SENASA) es el que estipula los Límites Máximo de Residuos (LMR) que, en estos cultivos, oscilan de 0,05 (granada) a 1 mg/kg (uva de mesa). Pero aún no posee autorización (registro) para uso en cítricos, por lo tanto, carece de LMR (1). En los principales destinos de exportación como la Unión Europea (UE), Fed. de Rusia, Canadá, Brasil, etc. se encuentra registrado con diferentes tolerancias (LMR). Por Reg. 707 y con fecha 7/05/2019 en Diario Of. de la UE (4) se aceptó una prórroga a la expiración de la aprobación hasta el 31/08/2020. El Codex Alimentarius aún no lo tiene aprobado (Ver Cuadro 1)

El objetivo del presente trabajo fue conocer los niveles residuales de tebuconazole cuando se aplica a un cultivo de naranja Valencia Late a una determinada dosis y su persistencia durante 4 meses; y al mismo tiempo determinar el momento óptimo de cosecha para cumplir con las exigencias reglamentarias establecidas a nivel internacional.

Cuadro 1: Límites máximos de residuos de tebuconazole, actualizado a abril de 2020, en mg/kg

LMR mg/kg	Argentina	UE	Fed. Rusia	Canadá	Brasil	Codex Al.
Naranja	-	0.9	0.9	1	5	-

MATERIALES Y METODO

Características del cultivo

El cultivo elegido para los ensayos fue naranja Valencia Late un lote de plantas sobre pie trifolio de la Estación Experimental INTA Concordia, con una altura de 2 m y una distancia de plantación de 5 x 3 m. rodeado por cortinas de pino y casuarinas. (Ver Fig. 1 y 2)

Fig. 1 y 2- Aspecto gral. del lote y naranja Valencia Late, en la EEA Concordia



Aplicación de tebuconazole

El inicio del ensayo fue el 2/08/2019 considerándose las condiciones óptimas de clima, estado gral. del equipo pulverizador y los elementos de seguridad del operario (BPA). La aplicación se realizó con motomochila calculando el volumen de caldo a través de la metodología TRV (Tree Row Volume). El caldo se preparó adicionando 35 cm³ de formulado comercial al 43% de Tebuconazole cada 100 l de agua y el volumen utilizado fue de 2 l/planta. Se realizaron 3 repeticiones (Rep) formadas por 10 plantas cada una (Ver Fig. 3 y 4). Se registraron las condiciones meteorológicas de lluvia, velocidad y dirección de viento y temperatura desde el inicio hasta el fin del ensayo, el 4/12/2019.

Las muestras de cada repetición se recolectaron (1 muestra/fila considerando todas las plantas) luego de 2 ½ hs. de la aplicación (Inicial) y luego a los 7, 14, 21, 28, 42, 56, 89, 124 días posteriores de la aplicación según el Codex Alimentarius (1999). Se transportaron inmediatamente al “Laboratorio de Pesticidas” de la EEA Concordia, donde se realizaron las mediciones de calidad y diámetro de la fruta, previo a su procesamiento y conservación en freezer a –18 °C hasta su análisis.

Fig. 3 y 4- Pulverización de tebuconazole en naranja Valencia Late de la EEA Concordia del INTA



Análisis de residuos de pesticidas

Se procedió a la validación del método siendo el límite de detección (LD) de 0.005 mg/kg y el límite de cuantificación (LC) de 0.01 mg/kg (3). A continuación, las determinaciones de residuos de tebuconazole se realizaron con la metodología de extracción multirresiduos QuEChERS, 15662 CEN (2) seguido por el análisis mediante un sistema de cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas triplecuadrupolo en tándem (UPLC QqQ-MS/MS).

Registros meteorológicos

Las condiciones climáticas afectan los niveles de concentración de residuos y la cinética de degradación, especialmente durante los primeros días. En cada ensayo se registró la temperatura media diaria (°C) y las precipitaciones (mm) a través de la Estación Agrometeorológica automática “Adcon Telemetry”, ubicada en la EEA Concordia.

RESULTADOS

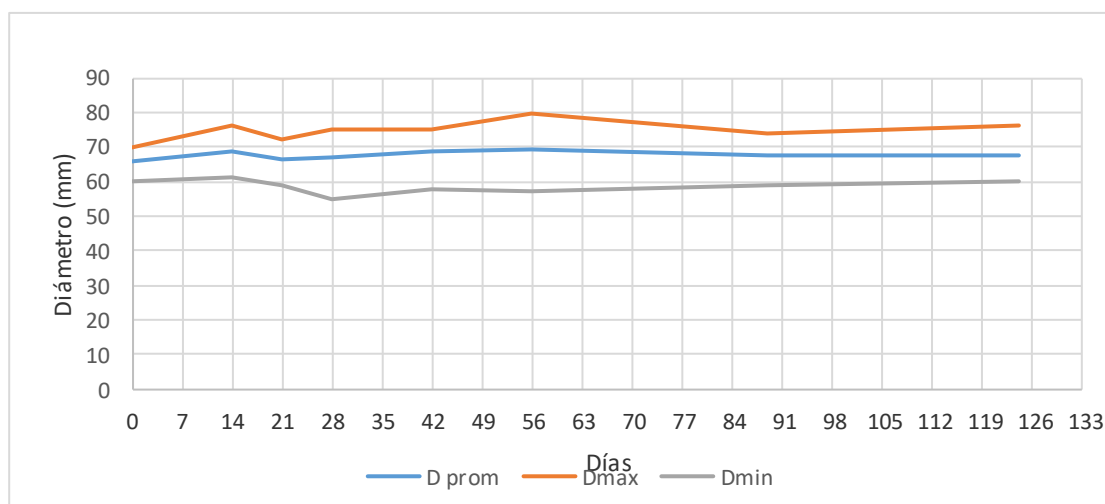
Una de las causas de disminución de residuos es el aumento del diámetro de la fruta, al igual que cambios bruscos internos en el proceso de maduración. Es importante la decisión de cuando comenzar el ensayo ya que el diámetro de la fruta tiene que permanecer constante durante todo el periodo del mismo. A su vez, se consideró la calidad de la fruta cuando llegó al momento de cosecha de acuerdo a normativa SENASA. Los datos de calidad de la fruta iniciales y finales se pueden observar en Cuadro 2. En este se indica el mantenimiento del peso y un leve aumento en el rendimiento del jugo y ratio, esto debido básicamente a disminución de la acidez. De igual manera, el diámetro de la fruta se mantiene constante con valores promedio de casi 70 mm a lo largo de los 124 días de ensayo. (Ver Cuadro 3)



Cuadro 2 - Calidad interna de la fruta al inicio y finalización del ensayo, a 124 días

Calidad	Peso frutas (g)	Peso jugo (g)	Rendim (%)	°Bx (corregido)	Acidez (%p/v)	Ratio
INICIAL - DIA 0	1117,27	508,74	45,53	10,04	1,2	8,4
FINAL - DIA 124	1102,34	592,39	53,74	9,92	1,08	9,14

Cuadro 3. Diámetro de Naranja Valencia Late durante los 124 días del ensayo

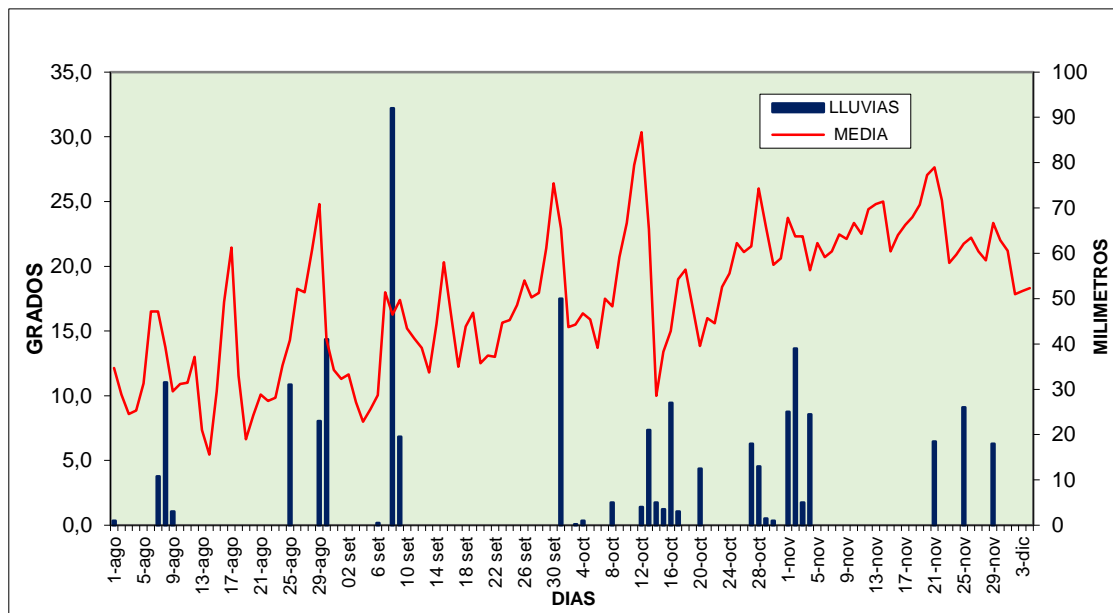


Es indispensable, cuando trabajamos bajo el concepto de BPA, respetar las condiciones ambientales al momento de la aplicación. En el Cuadro 4 se puede observar que las temperaturas están por debajo de 25°C, velocidad del viento no mayor a 7 km/h y sin lluvia. También se puede observar que durante la 1° semana de aplicado el fungicida se acumularon 45,3 mm de lluvia comenzando a partir del día 4. Luego no se presentan lluvias durante las 3 semanas sig., excepto el día 23 con 31 mm. Durante los 124 días existen largos períodos sin precipitaciones y es el mes de octubre el que concentra la mayor cantidad de mm, siendo el total acumulado es de 574 mm (Ver Cuadro 5)

Cuadro 4 - Condiciones ambientales al momento de la aplicación de tebuconazole en Naranja Valencia Late

DIAS	Hora	Temp. Media (°C)	Precipitación (mm)	Velocidad Viento (km/h)
2/8/2019	9	7,4	0,0	0,2
2/8/2019	10	10,5	0,0	0,2

Cuadro 5 - Condiciones ambientales durante 124 días del ensayo de tebuconazole en Naranja Valencia Late



El análisis de residuos de tebuconazole se realizó en muestras de fruta entera y fruta sin cáscara en paralelo, como exige la metodología del Codex (5), UE y el resto de los destinos; y la Fed. de Rusia, respectivamente.

En el caso de fruta sin cáscara, la legislación estipula LMR muy bajos y que los residuos se determinen en la parte interna de la fruta (6). En este caso, y para un LD 0,005 mg/kg y un LC 0,001 mg/kg., no se detectan residuos de tebuconazole en ninguna muestra, desde el inicio al final del ensayo (ND). Esto implica que la penetración del fungicida en la superficie (luego de la aplicación a su medio interno) no es percibida a estas dosis (Véase Cuadro 6).

Cuando se analizan los residuos de tebuconazole en fruta entera se detectan niveles iniciales que no superan las 0,262mg/kg, esto es, la concentración del depósito inicial sobre la superficie de la fruta está lejos de cualquier LMR estipulados por los diferentes destinos de exportación (en caso de registrarse para naranja).

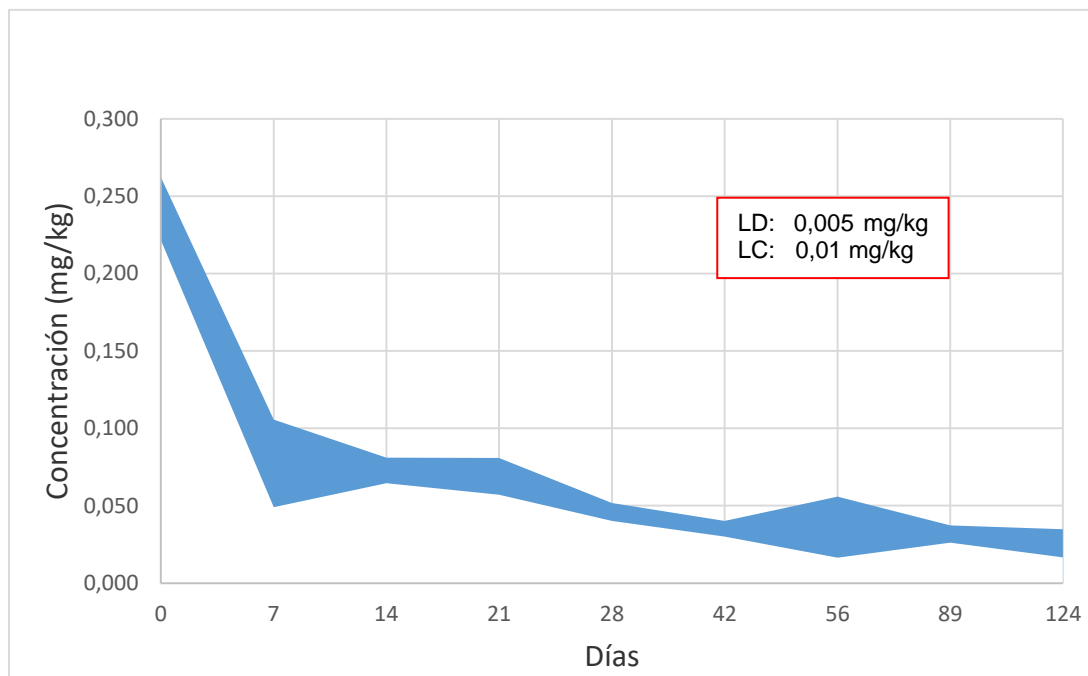
A los 7 días se observa una caída brusca de la concentración inicial, de alrededor del 70% y esto se debe, en parte, al efecto de erosión de la lluvia acaecida a partir del 4° día. Así, los niveles se reducen con mayor lentitud, de 80% a los 28 días y casi del 90% hasta alcanzar el final del ensayo. Esto indica que, si bien los residuos disminuyeron con respecto al valor inicial, persisten aunque hayan transcurrido 4 meses de haber sido aplicado. Es importante considerar este resultado ya que el riesgo puede aumentar en caso de utilizar dosis más elevadas. (Véase Cuadro 6 y 7)



Cuadro 6: Residuos de tebuconazole detectados en naranja Valencia Late, en mg/kg

Fruta sin cáscara				Fruta entera			
Día	Rep 1	Rep 2	Rep 3	Rep 1	Rep 2	Rep 3	% Degradación
0	ND	ND	ND	0,262	0,222	0,244	
7	ND	ND	ND	0,106	0,049	0,060	70,37
14	ND	ND	ND	0,081	0,065	0,078	69,55
21	ND	ND	ND	0,057	0,059	0,081	72,84
28	ND	ND	ND	0,052	0,040	0,050	80,66
42	ND	ND	ND	0,030	0,040	0,033	86,01
56	ND	ND	ND	0,017	0,056	0,037	84,77
89	ND	ND	ND	0,026	0,027	0,037	87,65
124	ND	ND	ND	0,028	0,017	0,035	89,30

Cuadro 7- Curvas de residuos de tebuconazole, máxima y mínima, durante 124 días en naranja Valencia Late, expresado en mg/kg



Bibliografía:

- (1) Servicio Nacional Sanidad y Calidad Agroalimentaria. 2010. Res 934/2010. Boletín Oficial de República Argentina, Nº 32064. <http://www.senasa.gob.ar/normativas/resolucion-934-2010-senasa-servicio-nacional-de-sanidad-y-calidad-agroalimentaria>
- (2) Standard Method EN 15662. Evaluation of interferences between matrix-analyte for the correct identification of the pesticides by GC-QqQ-MS/MS and LC-QqQ-MS/MS. Web. [http://www.eurl-pesticides.eu/userfiles/file//Report Interferences.pdf](http://www.eurl-pesticides.eu/userfiles/file//Report%20Interferences.pdf)



Ministerio de Agricultura,
Ganadería y Pesca
Presidencia de la Nación

“2020 – AÑO DEL GENERAL MANUEL BELGRANO”

- (3) Guidance document on analytical quality control and method validation procedures for pesticides residues analysis in food and feed. SANTE/11813/2017. Web. https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/plant/docs/pesticides_mrl_guidelines_wrkdoc_2017-11813.pdf
- (4) 2019. Diario Of. de la UE. “REGLAMENTO DE EJECUCIÓN (UE) 2019/707 DE LA COMISIÓN” L 120/16. 8.5.2019. file:///C:/Users/kulczycki.cecilia/AppData/Local/Microsoft/Windows/INetCache/Content.Outlook/EBD7659E/CELEX_32019R0707_ES_TXT%20tebuconazole%20prorroga%20aprobacion.pdf
- (5) Codex Alimentarius. 1993. “Métodos recomendados de muestreo para la determinación de residuos de plaguicidas”. Vol. 2-Sección 3. 387-391.
- (6) Servicio Federal para el Control en el Ámbito de la Protección de los Derechos de los Consumidores y el Bienestar de la persona. 2010. Suplemento Nº 14. Normas Higiénicas GN 1.2.1323-03. Contenido de Pesticidas en objetos del Medio Ambiente. Listado Normas Higiénicas 1.2.2617-10. Federación de Rusia.

Agradecimientos: Ariel Bertran y Rubén Garín de la EEA Concordia y a la Lic. María Michela Ciucio por su participación en todo el ensayo.

Fuente de financiamiento: Proy. I147 “Inocuidad de los alimentos para consumo humano y animal” y Convenio AT INTA-Coca Cola.