

بررسی روند کاهشی باقیمانده قارچ کش اوروگو® (آمتوکترا دین + دایمتومورف) جهت کنترل عامل بیماری سفیدک دروغی (*Phytophthora infestans*) در گوجه فرنگی در استان مازندران

Investigation on the reduction of Orvego® fungicide (Ametoctradin+ Dimethomorph) residue levels used to control tomato downy mildew disease in Mazandaran province

محسن مروتی^{۱*}، عباسعلی روانلو^۲، وحیده مهدوی^۱ و سید علیرضا دلیلی^۳

دریافت: ۱۴۰۳/۳/۱۹

پذیرش: ۱۴۰۳/۵/۳۰

چکیده

به منظور اندازه گیری باقیمانده قارچ کش اوروگو® (آمتوکترا دین + دایمتومورف) با دوز ۸۰ میلی لیتر/۱۰۰ لیتر آب، ۱۵ نمونه از گوجه فرنگی های تیمار شده (۵ نمونه با ۳ تکرار) و یک نمونه شاهد در زمان های ۱، ۲، ۳، ۵ و ۸ روز پس از محلول پاشی جمع آوری شدند. استخراج آفت کش ها با روش کچرز طبق استاندارد ملی ایران با عنوان اندازه گیری باقیمانده آفت کش ها انجام شد. تجزیه آفت کش ها با دستگاه LC-MS/MS انجام و مقادیر محاسبه شده با مرز بیشینه مانده مجاز (MRL) ملی و کدکس مقایسه گردید. نتایج نشان داد یک روز پس از سم پاشی میانگین مانده آمتوکترا دین (۰/۱۱ میلی گرم/کیلوگرم) کمتر از مرز بیشینه مانده مجاز آن (۱/۵ میلی گرم/کیلوگرم- کدکس) بود و میانگین مانده قارچ کش دایمتومورف یک روز بعد از سم پاشی معادل ۰/۰۷۶ میلی گرم/کیلوگرم در نمونه های اندازه گیری شده بود که کمتر از مرز بیشینه مانده مجاز آن (مرز بیشینه مانده مجاز ۳ میلی گرم/کیلوگرم- ملی) می باشد. دوره کارنس اوروگو® (آمتوکترا دین + دایمتومورف) طبق منابع یک روز تعیین شده است و با توجه به مقادیر اندازه گیری شده در نمونه های این پژوهش مورد تأیید می باشد. به این ترتیب قارچ کش اوروگو® با مقدار ۸۰ میلی لیتر در ۱۰۰ لیتر آب با دوره کارنس یک روز قابل توصیه برای کنترل بیماری سفیدک دروغی گوجه فرنگی می باشد.

واژگان کلیدی: اوروگو®، باقیمانده آفت کش ها، کروماتوگرافی مایع-طیف سنجی جرمی، مرز بیشینه مانده آفت کش ها

مقدمه

کشاورزان به منظور محافظت از محصولات کشاورزی در برابر آفات و بیماری ها از آفت کش ها استفاده می کنند و قرار گرفتن در معرض آفت کش ها و یا باقی مانده آنها روی محصولات کشاورزی ممکن است باعث مسمومیت حاد یا مزمن در انسان و موجودات غیر هدف شود (Damalas and Eleftherohorinos, 2011). این معضل می تواند به دلیل عدم رعایت دستورالعمل های لازم در استفاده از آفت کش ها جهت کنترل آفات و نوع، زمان یا دوز مناسب استفاده از آفت کش ها توسط کشاورزان باشد (Jallow et al., 2017). بنابراین، نظارت و پایش میزان باقی مانده آفت کش ها در محصولات کشاورزی اصلی ترین راه برای حمایت از مصرف کنندگان در برابر اثرات مضر آفت کش ها می باشد.

۱- دانشیار، بخش تحقیقات آفت کش ها، مؤسسه تحقیقات گیاه پزشکی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

۲- استادیار، بخش تحقیقات بیماری های گیاهی، مؤسسه تحقیقات گیاه پزشکی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

۳- استادیار، بخش تحقیقات گیاه پزشکی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان مازندران، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، مازندران، ساری، ایران

در خصوص اندازه گیری باقیمانده آفت کش ها در محیط زیست و محصولات کشاورزی، تحقیقات زیادی در سایر کشورها و همچنین ایران صورت گرفته است. در تحقیقاتی در قزاقستان ۲۶ نوع آفت کش دارای باقیمانده در ۶۵/۹ درصد از نمونه های گوجه فرنگی آزمایش شده شناسایی شد. علاوه بر این، ۱۴ نمونه دارای باقیمانده آفت کش ها بالاتر از مرز بیشینه مانده مجاز آفت کش ها (MRL= Maximum Residue Limit) در اتحادیه اروپا بود (Lozowicka *et al.*, 2015). همچنین در برزیل، ۱۲ نوع آفت کش در ۶۰٪ از نمونه های گوجه فرنگی تحت آزمایش شناسایی شدند (Andrade *et al.*, 2015). در پرتغال، از هر ۳۰ باقیمانده آفت کش بررسی شده ۶ مورد در ۲۰ نمونه گوجه فرنگی یافت شد؛ هرچند که میزان باقیمانده آفت کش ها در تمامی موارد پایین تر از MRL اتحادیه اروپا بودند (Melo *et al.*, 2012). در یک مطالعه نگران کننده در کویت مشخص گردید که ۸۸٪ از نمونه های گوجه فرنگی مورد تجزیه حاوی باقیمانده چندین آفت کش بودند. در حدود ۱۹٪ از این نمونه ها دارای آلودگی بیش از بیشینه ماده آفت کش های کدکس بودند (Jallow *et al.*, 2017). در دو مطالعه دیگر در کلمبیا باقیمانده آفت کش ها در ۷۳/۱ و ۷۰/۵ درصد از نمونه های گوجه فرنگی آزمایش شده شناسایی شدند (Bojaca *et al.*, 2013; Arias *et al.*, 2014). در تحقیقات دیگری در آلمانی قزاقستان مشخص گردید که بیش از ۱۵ درصد نمونه های گوجه فرنگی تحت آزمایش دارای مقادیر بیش از حد مجاز آفت کش ها بودند (Lozowicka *et al.*, 2015). محققینی از کلمبیا گزارش کردند ۵۷/۶ درصد از نمونه های گوجه فرنگی آزمایش شده دارای باقیمانده آفت کش با مقادیر بیشتر از MRL های اتحادیه اروپا بود (Bojaca *et al.*, 2013). طی مطالعه ای در نپال، در برخی از سبزیجات از جمله گوجه فرنگی وجود باقیمانده چندین آفت کش در تمام نمونه ها مشاهده گردید. علاوه بر این، ۴۴٪ از آفت کش های اندازه گیری شده دارای میزان باقیمانده بیش از بیشینه مانده مجاز اتحادیه اروپا بودند (Bhandari *et al.*, 2019). در عربستان سعودی باقیمانده چندین آفت کش در ۲۷٪ نمونه های تحت مطالعه وجود داشت که ممکن است به دلیل استفاده از چندین آفت کش برای محافظت بهتر از گوجه فرنگی در برابر آفات بوده باشد (Lozowicka *et al.*, 2015). بیشترین گروه آفت کش های شناسایی شده قارچ کش بودند و حشره کش ها در رتبه بعدی قرار داشتند؛ دلیل این امر را می توان به استفاده بیش از حد از قارچ کش برای محصول گوجه فرنگی (با توجه به اینکه این محصول بیشتر در معرض بیماری های قارچی است) نسبت داد. باقیمانده آفت کش های شناسایی شده عمدتاً متعلق به سایپر مترین، کاربندازیم، پیریمتانیل، بوسکالید، بوپرو فنزین، توبوکونازول، ایپرودیون و فلوپندیامید بودند. سایپر مترین در بیشتر نمونه ها تشخیص داده شد در حالی که فلوپندیامید و ایپرودیون در کمترین تعداد نمونه تشخیص داده شدند (Abd-Elhaleem, 2020). در ایران نیز در تحقیقی، باقیمانده آفت کش های اندوسولفان و دیازینون در مزارع خیار و گوجه فرنگی در استان کهگیلویه و بویر احمد طی سال های ۸۲-۱۳۸۱ مورد بررسی قرار گرفت و مشخص گردید که بیشترین میزان باقیمانده مربوط به آفت کش دیازینون در محصول خیار بود که حدود ۳/۵ برابر بیشتر از حد استاندارد جهانی بوده است. همچنین، مقدار باقیمانده آفت کش های دیازینون و اندوسولفان در گوجه فرنگی و خیار در برخی مناطق استان بالاتر از حد مجاز برآورد گردید (صلاحی اردکانی و همکاران، ۱۳۹۱). در تحقیقی به منظور تعیین میزان باقیمانده ۱۰۵ آفت کش در برخی از سبزیجات تازه و گلخانه ای (گوجه فرنگی، خیار گلخانه ای و هویج تازه) روی ۲۵ نمونه، با استفاده از کروماتوگرافی گازی- طیف سنجی جرمی مجهز به آشکارساز تله یونی صورت گرفت. داده ها نشان داد که ۸۰ درصد از نمونه های بررسی شده دارای انواع باقیمانده آفت کش های ایپرودیون، فن ولریت، کلرپیری فوس، فن پروپاترین، پر مترین و تری فلورالین بودند. نتایج مقایسه میانگین باقیمانده آفت کش های شناسایی شده در نمونه ها با میزان حداکثر مجاز توصیه شده کدکس آلیمنتاریوس اختلاف آماری معنی داری را نشان داد و کمتر از مقادیر مجاز اعلام شده بود (هادیان و عزیزی، ۱۳۸۷). وجود باقیمانده غیر مجاز آفت کش ها در انواع محصولات مانند گوجه فرنگی که هم به صورت تازه خوری و هم پخته مصرف می شود، اهمیت ویژه ای دارد. پس از آگاهی از میزان باقیمانده این آفت کش ها و میزان خطر آنها در مقایسه با استانداردهای جهانی بایستی راهکارهای مناسب جهت کاهش باقیمانده خطرناک آفت کش ها ارائه گردد (مروتی و نعمت الهی، ۱۳۹۳). با توجه به این که

قارچ کش اوروگو برای اولین بار در کشور جهت کنترل عامل بیماری سفیدک دروغی (*Phytophthora infestans*) در گوجه فرنگی مورد آزمایش قرار گرفته است، تعیین دوز بهینه جهت کنترل این بیماری و باقیمانده آن روی محصول اهمیت بسزایی دارد. لذا آزمایشات تعیین دوز بهینه طی طرح تحقیقاتی انجام پذیرفت و دوز ۸۰ میلی لیتر/۱۰۰ لیتر آب به عنوان دوز بهینه تعیین گردید و از همین تیمار میزان باقیمانده این قارچ کش در نمونه های تصادفی در زمان های مختلف بررسی گردید.

مواد و روش ها

تعیین دوز بهینه قارچ کش اوروگو و اندازه گیری باقیمانده آن روی گوجه فرنگی

در طرح جداگانه ای جهت تعیین دوز بهینه قارچ کش اوروگو برای کنترل عامل بیماری سفیدک دروغی (*Phytophthora infestans*) یک مزرعه گوجه فرنگی در استان مازندران که شرایط اقلیمی مساعد برای وقوع بیماری موجود بود، به عنوان مزرعه آزمایشی در نظر گرفته شد. آزمایش در قالب طرح بلوک های کامل تصادفی با ۶ تیمار و چهار تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل قارچ کش اوروگو در دوزهای ۶۰، ۸۰ (دوز پیشنهادی شرکت متقاضی) و ۱۰۰ میلی لیتر در ۱۰۰ لیتر آب، قارچ کش سیازوفامید ۴۰٪ SC با غلظت ۱/۵ در هزار، قارچ کش ریدومیل و شاهد بدون استفاده از قارچ کش در شرایط مزرعه اجرا گردید. هر کرت آزمایشی شامل ۵ ردیف کاشت به طول ۸ متر در نظر گرفته شد. با مشاهده اولین علائم بیماری نسبت به نشانه گذاری و محلول پاشی با سموم مورد نظر اقدام شد. در هر کرت ۵ بوته که علائم اولیه بیماری در آن ها ظاهر شده بود با اتیکت مشخص و سپس اقدام به سمپاشی شد. بوته ها سه روز پس از سمپاشی اول و بعد از آن هر ۷ روز یکبار بررسی و شدت بیماری بر اساس مقیاس ارزیابی انجمن قارچ شناسی بریتانیا نمره دهی و تاریخ های ارزیابی برای هر مشاهده ثبت شد (Anonymous, 1947). سطح زیر نمودار پیشرفت نسبی بیماری (AUDPC) برای هر تکرار محاسبه و داده ها با استفاده از نرم افزار SAS تجزیه واریانس و مقایسه آماری شد (روانلو و همکاران ۱۴۰۲). سپس از تیمار قارچ کش اوروگو® (آمتوکترا دین + دایمتومورف) با دوز ۸۰ میلی لیتر/۱۰۰ لیتر آب که دوز بهینه تشخیص داده شده بود، تعداد ۱۵ نمونه گوجه فرنگی (۵ نمونه با ۳ تکرار) در پنج زمان ۱، ۲، ۳، ۵ و ۸ روز پس از سمپاشی و یک نمونه شاهد (بدون سمپاشی) به صورت تصادفی از استان مازندران گرفته شد. وزن هر نمونه یک کیلوگرم، معادل ۱۰ تا ۱۲ عدد در نظر گرفته شد. نمونه ها پس از نمونه برداری با برچسب مشخصات، داخل کیسه های پلی اتیلن تیره رنگ، با حفظ دمای مناسب در یخ قرار داده شده و سریعاً به آزمایشگاه مرجع باقیمانده سموم در بخش تحقیقات آفت کش های مؤسسه تحقیقات گیاه پزشکی کشور منتقل شد. نمونه برداری طبق استاندارد ملی ایران به شماره ۸۳۶۶ سال ۱۳۸۶ با عنوان آفت کش ها- تعیین باقیمانده در محصولات کشاورزی و دامی- روش های نمونه برداری، انجام گرفت (استاندارد ملی ایران، ۱۳۸۶).

استخراج نمونه ها به منظور اندازه گیری باقیمانده آفت کش ها

در این پروژه از روش کچرز (QuEChERS) برای استخراج باقیمانده آفت کش ها در نمونه های گوجه فرنگی استفاده شد. برای آماده سازی، نمونه های گوجه فرنگی خرد و همگن شدند. ۱۵ گرم از نمونه همگن و خرد شده به عنوان آزمایش از نمونه آزمایشگاهی توزین شد. با افزودن ۱۵ میلی لیتر استونیتریل حاوی ۱٪ استیک اسید فرآیند استخراج کلی انجام شد. برای تکمیل فرآیند استخراج از جاذب های منیزیم سولفات بدون آب، سدیم کلراید و سدیم استات استفاده شد. با سانتریفوژ، فاز آلی از بافت آبی جدا شد و ۵ ml فاز آلی به دست آمده از این مرحله برای مرحله تصفیه استفاده گردید. برای تصفیه از جاذب های منیزیم سولفات به منظور حذف آب اضافی در محیط و پلی آمین ثانوی به منظور حذف مولکول های درشت، اسیدهای آلی، پروتئین ها و سایر هم-استخراج های مزاحم استفاده شد که در نهایت پس از سانتریفوژ ۱ ml از فاز آلی حاصل، پس از عبور از فیلتر سرسرنگی برای تبخیر و سپس تزریق به دستگاه آماده شد (Anastassiades et al., 2003).

آنالیز آفت کش ها با دستگاه کروماتوگرافی مایع-طیف سنج جرمی دوگانه (LC-MS/MS)

دستگاه با قارچ کش اروگو کالیبره شد و بهترین ولتاژ قطعه قطعه شدن (Fragmentation voltage) برای یون های والد (Precursor ion) هر آفت کش، انرژی برخورد (Collision energy)، یون های تولیدی (Product ion) و کمی سازی آفت کش ها نیز بهینه شد و با تنظیم و بهینه سازی شرایط دستگاه LC-MS/MS شناسایی و کمی سازی مقادیر باقیمانده آن انجام گرفت. در نهایت، مقادیر محاسبه شده با MRL های ملی و کدکس (آمتوکترا دین MRL ملی ندارد) مقایسه گردیدند.

- شرایط شویش در دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC): تعیین نوع و درصد فاز متحرک

- برای جداسازی از فازهای متحرک استونیتریل و آب حاوی ۰/۱٪ فرمیک اسید استفاده شد که شرایط شویش طبق جدول ۱ انجام گرفت.

جدول ۱- شرایط شویش استفاده شده در HPLC جهت جداسازی و آنالیز آفت کش های مورد آزمایش

Table 1. Washing conditions used in HPLC for separation and analysis of the pesticides

زمان Time (min)	فاز متحرک (آب) % Mobile Phase (water) %	جریان Flow (ml/min)	حداکثر فشار Max. Pressure (bar)
0.1	90	0.4	400
7	60	0.4	400
13	60	0.4	400
20	90	0.4	400

کالیبره کردن دستگاه LC-MS/MS با استانداردهای آفت کش های مورد مطالعه

نتایج شرایط بهینه در جدول ۲ نشان داده شده است.

جدول ۲- شرایط بهینه برای به دست آوردن حداکثر حساسیت جرمی نسبت به آفت کش های مورد مطالعه

Table 2. Optimum conditions to obtain maximum mass sensitivity to the studied pesticides

آفت کش Pesticide	زمان بازداری Retention Time (min)	ولتاژ قطعه قطعه شدن Fragmentation Voltage (V)	یون کیفی Qualitative ion (collision energy) (eV)	یون کمی Qualitative ion (collision energy) (eV)	Dwell time (ms)
آمتوکترا دین Ametoctradin	8.5	276	176 (20)	149 (20)	70
دیمتومورف Dimethomorph	9.0	388	301 (15)	165 (10)	70

روش اعتبار سنجی

اعتبار سنجی طبق استاندارد سانکو در سه سطح غلظتی انجام گرفت که در حلال استونیتریل و ماتریس گوجه فرنگی ساخته شدند. به این منظور با رقیق سازی مناسب محلول مادر، محلول هایی در سه سطح غلظتی متفاوت با غلظت های ۰/۰۵، ۰/۱ و ۰/۲ میلی گرم در لیتر از مخلوط آفت کش های مورد مطالعه در حلال و ماتریس تهیه شد. در مورد محدوده دینامیکی خطی (Linear Dynamic Range=LDR) برای همه آفت کش های موجود در جدول ابتدای محدوده دینامیکی خطی همان حد اندازه گیری کمی (Limit of Quantification=LOQ) است که در جدول ۳ نشان داده شده است. ارقام شایستگی قابل قبول و بازایی در محدوده ۸۰/۱ تا ۱۱۱ درصد با انحراف استاندارد نسبی (Relative Standard Deviation=RSD) از ۱۰ تا ۱۴/۵ درصد، نشان از قابل قبول بودن روش آنالیز پیشنهادی می باشد (Mahdavi et al., 2021 and 2022; Eslami et al., 2021).

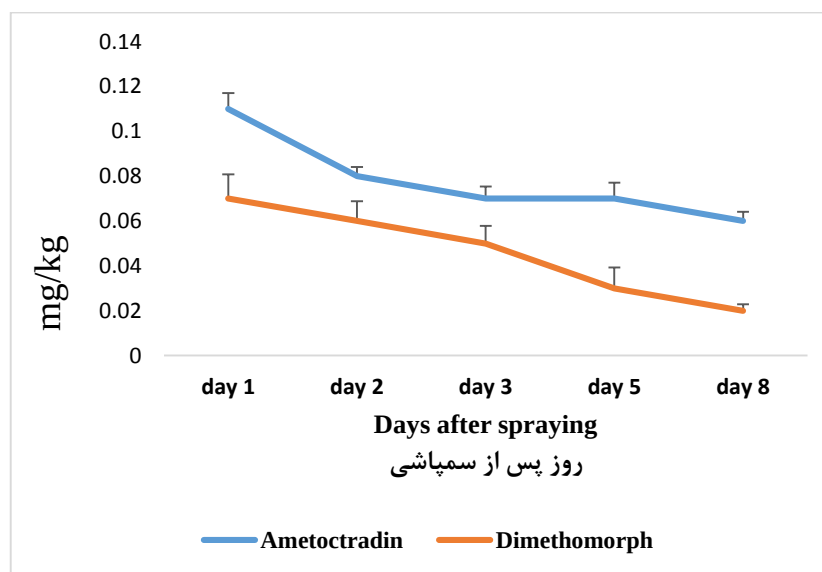
جدول ۳- ارزیابی عملکرد روش های استخراج و آنالیز از نظر محدوده دینامیکی خطی، حد کمی (میلی گرم/لیتر)

Table 3. Evaluation of the performance of sample treatment procedures in terms of calibration curve equation, LOQ (mg kg⁻¹), linear dynamic range

آفت کش Pesticide	Linear matrix-matched equation	R ²	RSD %	LOQ
آمتوکترا دین Ametoctradin	y = 628.88x - 113.56	0.999	14.5	0.01
دیمتومورف Dimethomorph	y = 1677093x + 328.25	0.998	10.0	0.01

نتایج

نتایج به دست آمده از آزمایشات اندازه گیری باقیمانده قارچ کش اوروگو (آمتوکترا دین و دایمتومورف) در شکل ۱ نشان داده شده است. با توجه به مرز بیشینه مانده مجاز قارچ کش آمتوکترا دین که معادل ۱/۵ میلی گرم بر کیلوگرم می باشد، میزان باقیمانده آن در نمونه ها یک روز پس از سمپاشی کمتر از مرز بیشینه مانده مجاز بود. دیمتومورف دارای مرز بیشینه مانده ۳ میلی گرم بر کیلوگرم می باشد و از یک روز بعد از سمپاشی با میزان اندازه گیری شده ۰/۰۷۶ میلی گرم بر کیلوگرم در نمونه شناسایی شده که کمتر از مرز بیشینه مانده مجاز می باشد و قابل مصرف است. بنابراین اوروگو از روز اول پس از سمپاشی میزان باقیمانده در حد مجاز را دارا می باشد. در نمونه های شاهد باقیمانده قارچ کش های تحت آزمایش در حد قابل تشخیص و اندازه گیری یافت نگردید (شکل ۱).



شکل ۱- میانگین (± SE) باقیمانده قارچ کش اوروگو® (آمتوکترا دین + دیمتومورف) در میوه گوجه فرنگی در روزهای ۱ تا ۸ روز پس از محلول پاشی (Ametoctradin Codex MRL= 1.5 mg/kg, Dimethomorph National MRL= 3 mg/kg)

Fig. 1. Mean (± SE) residue of Orvego® (Ametoctradin+ Dimethomorph) in tomato from 1 to 8 days after the treatment (Ametoctradin Codex MRL= 1.5 mg/kg, Dimethomorph National MRL= 3 mg/kg)

قارچ کش اوروگو® متشکل از دو قارچ کش آمتوکترا دین و دایمتومورف می باشد، هر دو مورد در نمونه های جمع آوری شده گوجه فرنگی که در روزهای اول، دوم، سوم، پنجم و هشتم پس از سمپاشی جمع آوری شده بود اندازه گیری شد. با توجه به مرز بیشینه مانده مجاز قارچ کش آمتوکترا دین که معادل ۱/۵ میلی گرم بر کیلوگرم (کدکس) می باشد، نمونه یک روز پس از سمپاشی کمتر از مرز بیشینه مانده مجاز، باقیمانده دارد و همین طور قارچ کش دایمتومورف که دارای مرز بیشینه مانده مجاز ۳ میلی گرم بر کیلوگرم (ملی) می باشد، از یک روز بعد از سمپاشی با میزان اندازه گیری شده ۰/۰۷۶ میلی گرم بر کیلوگرم در

نمونه یافت شده که کمتر از مرز بیشینه مانده مجاز بوده و قابل مصرف می باشد. بنابراین اوروگو در مجموع از روز اول پس از سمپاشی میزان باقیمانده در حد مجاز را دارا می باشد. با توجه به دوره کارنس اعلام شده از طرف شرکت تولیدکننده و دیگر منابع که یک روز می باشد، در آزمایشات فعلی نیز این دوره مورد تأیید قرار می گیرد.

بحث

در پژوهشی توسط مروتی و همکاران، ۴۳ نمونه گوجه فرنگی تولید شده در گلخانه های استان همدان مورد بررسی و پایش باقیمانده ۵۵ آفت کش قرار گرفت. در این مطالعه باقیمانده هشت آفت کش شناسایی شد که در ۷٪ از نمونه ها این مقدار بیش از حد مجاز، در ۳۳٪ از آنها مقدار باقیمانده کمتر و یا برابر با حد مجاز و در ۶۰٪ از نمونه ها هیچ گونه آفت کشی یافت نگردید و در ارزیابی ریسک انجام شده خوشبختانه خطری برای کودکان و بزرگسالان مشاهده نگردید (Morowati et al., 2024). دیون و همکاران در بورکینوفاسو، ۶۵۶ نمونه گوجه فرنگی از ۲۶ میدان تره بار در سطح شهر اوگادوگو جمع آوری کرده و جهت بررسی ۶ آفت کش رایج در آفریقای غربی شامل استامی پراید، کلرپیریفوس، لامبدا سایهالوترین، دلتامترین، د.د.ت و پرمترین مورد آزمایش قرار دادند. نتایج نشانگر آلودگی ۶۲/۲٪ نمونه ها به حداقل یک آفت کش شامل استامی پراید، لامبدا سایهالوترین و د.د.ت بود و دلتامترین و پرمترین در هیچکدام از نمونه ها دیده نشد. بیشترین میزان آلودگی به د.د.ت، استامی پراید، لامبدا سایهالوترین و کلرپیریفوس مشاهده شد که ۲۱/۳٪ آنها بیش از حد استاندارد مجاز اتحادیه اروپا بود. در ۲۷/۷٪ از نمونه ها حداقل چهار آفت کش شناسایی گردید. پیشنهاد این محققین پایش مداوم محصولات تولیدی و جایگزینی روش های فعلی کنترل آفات با روش های جایگزین و کم خطر می باشد (Dione et al., 2023). در دو شهرستان مورانگا و کیامبو در کنیا نیز مطالعاتی روی باقیمانده چند آفت کش در گوجه فرنگی انجام گرفت. مقادیر اندازه گیری آفت کش های مورد بررسی با اینکه در برخی از نمونه ها موجود بوده اما کلاً کمتر از حد مجاز استانداردهای اتحادیه اروپا بود (Kipkemoi et al., 2020). در مطالعاتی که در جمهوری چک روی ۱۶ نمونه انگور و ۳۳ نمونه شراب انجام شد، باقیمانده ۴۰۶ آفت کش از جمله آمتوکترا دین و دایمتومورف اندازه گیری شد که صرفاً در دو نمونه انگور آمتوکترا دین کمتر از MRL بود و در نمونه های شراب یافت نشد. اما دایمتومورف به مقدار ناچیز در چهار نمونه انگور و شش نمونه شراب یافت شد که در کل کمتر از مرز بیشینه مانده مجاز این قارچ کش بود. دلیل عدم وجود و مقدار ناچیز این قارچ کش ها در شراب اثر فرآوری انگور در تجزیه آنها ذکر گردیده است (Schusterova et al., 2021). در منطقه آگه آن ترکیه، محققین تعداد ۱۴۲۳ نمونه میوه و سبزیجات جمع آوری کرده و اقدام به اندازه گیری و پایش باقیمانده ۱۸۶ آفت کش نمودند و به این نتیجه رسیدند که کلیه نمونه های انار، گل کلم و کلم عاری از هرگونه آفت کش بودند و ۷۵۴ نمونه از محصولات دارای باقیمانده قابل اندازه گیری برخی از آفت کش ها بودند که شامل ۴۸ نمونه میوه و ۸۳ نمونه سبزیجات با باقیمانده بیش از بیشینه مانده مجاز بودند. این محصولات شامل انگور، شاهی، خیار، لیمو بودند. در میان آفت کش های پایش شده دایمتومورف نیز موجود بوده که صرفاً در چند نمونه خیار مقدار آن بیش از مرز بیشینه مانده مجاز بوده است. این محققین مقدار یافت شده آفت کش های مورد مطالعه را اندک دانسته و پیشنهاد کردند برای کاهش آنها از روش هایی مانند شست و شو، پوست گیری و پخت و پز استفاده گردد (Bakirci et al., 2014). در مطالعات دیگری در ترکیه که روی سبزیجات برگی جمع آوری شده از بازار عمده فروشی، مغازه ها و گلخانه ها انجام پذیرفت، باقیمانده ۲۶۰ آفت کش توسط دستگاه LC-MS/MS پایش گردید. باقیمانده آفت کش ها در ۵۷/۶٪ شناسایی شد که فقط در ۵ نمونه باقیمانده آنها بیش از حد مجاز بود. در این بررسی که آفت کش های آمتوکترا دین و دایمتومورف نیز بررسی شده بودند، فقط در یک نمونه کاهو و یک نمونه شاهی آمتوکترا دین با مقدار کمتر از مرز بیشینه مجاز مشاهده شد که پس از ارزیابی خطر، این مقدار باقیمانده بدون خطر گزارش شده است (Balkan and Yilmaz, 2022). در تحقیقات دیگری توسط بالکان و کاراگاکلی تعداد ۳۰۱ آفت کش در ۴۸ میوه استوایی مورد بررسی و پایش قرار گرفت که در هیچکدام از نمونه ها

آمتوکترا دین و دایمتومورف یافت نشد و مقادیر آفت کش های شناسایی شده پایین تر از حد مجاز اتحادیه اروپا بودند، اگرچه محققین این مطالعه پیشنهاد کردند که کلیه میوه های وارداتی می بایستی به طور معمول پایش شوند (Balkan and Karaagacli, 2023). تولید سس با محصولات کشاورزی مورد پایش چهار آفت کش شامل استامی پراید، آمتوکترا دین، ایمازالیل سولفات و متالاکسیل قرار گرفت که در کلیه نمونه ها باقیمانده این چهار آفت کش به دلیل فرآوری محصول اولیه، کمتر از مرز بیشینه مانده مجاز آنها بودند (Balkan and Kara, 2023). از دیگر تحقیقاتی که اثر فرآوری در کاهش باقیمانده سموم در گوجه فرنگی را به اثبات می رساند، می توان به پژوهش کاستا و همکاران در برزیل اشاره نمود که ضمن مطالعه روی ۱۵ نمونه عصاره، سس و کچاپ گوجه فرنگی، تنها در یک نمونه آلودگی به آفت کش مشاهده گردید که پایین تر از حد مجاز بود. به عقیده این محققین دلیل عاری بودن محصولات از باقیمانده آفت کش ها اثرات فرآوری در تولید صنعتی می باشد (Costa et al., 2023). در چهار تحقیقی که توسط مرجع سلامت غذای اروپا (European Food Safety Authority- EFSA) بررسی گردید، باقیمانده آمتوکترا دین در گوجه فرنگی خام و انواع فرآوری شده آن کمتر از حد اندازه گیری کمی آن گزارش شده است (Anastassiadou et al., 2019). در ایتالیا، باقیمانده ۱۱۶ آفت کش شامل آمتوکترا دین و دایمتومورف روی ۷۵۹ نمونه گوجه فرنگی خام، گوجه فرنگی آسیاب شده (Fine pulp)، رب سه بار تغلیظ شده (Triple concentrated paste)، پوره گوجه فرنگی (Tomato puree) و گوجه فرنگی نگینی شده (Diced tomato) ارزیابی گردید و نشان داده شد که در هیچکدام از نمونه ها باقیمانده این دو قارچ کش یافت نگردید و دلیل آن عملیات های فرآوری بعد از برداشت ذکر گردیده است (Corrias et al., 2020). در مطالعه ای توسط سانکار و همکاران در استانبول ترکیه روی ۱۰۰ نمونه میوه و سبزیجات شامل گوجه فرنگی، فلفل، خیار، توت فرنگی و سیب، ۳۹۳ آفت کش بررسی گردید. در این بررسی در ۴۳٪ از نمونه ها باقیمانده آفت کش های مختلف شناسایی شد که ۷٪ از آنها دارای باقیمانده بیش از حد مجاز و ۳۶٪ از آنها کمتر از حد مجاز در گوجه فرنگی، توت فرنگی و خیار بودند. در ۵۷٪ از نمونه ها (فلفل و سیب) باقیمانده آفت کشی مشاهده نگردید. در این محصولات باقیمانده ۴۲ آفت کش شناسایی شد که بیشترین آنها متعلق به استامی پراید، پرمیکارب، تبوکونازول، پرمیفوس متیل، پیریداین و فورت سولفون بودند. باقیمانده آمتوکترا دین و دایمتومورف در نمونه های بررسی شده کمتر از حد مجاز بود. این محققین برای سلامت محصولات و مصرف کنندگان آن پیشنهاد استفاده از نهاده های ایمن و بیولوژیک کشاورزی را دادند (Sancar et al., 2022).

نتیجه گیری

با توجه به این که آزمایش فعلی زیر نظر محققین گیاه پزشکی جهت بررسی کارایی و تعیین دوز بهینه اوروگو بوده و تمامی اصول سم پاشی و دوره کارنس طبق دستورالعمل گپ انجام پذیرفته است، میزان باقیمانده قارچ کش های بررسی شده کمتر از مرز بیشینه مانده بود و بنابراین قارچ کش اوروگو® با مقدار مصرف ۸۰ میلی لیتر/۱۰۰ لیتر آب با توجه به کارایی این مقدار در کنترل بیماری سفیدک دروغی گوجه فرنگی و دارا بودن دوره کارنس یک روزه، قابل توصیه در مدیریت این بیماری می باشد. شایان ذکر است در صورت استفاده به موقع با اصول صحیح سم پاشی می توان دوره کارنس را رعایت کرده و محصول عاری از باقیمانده سموم را تولید نمود. در این مطالعه با توجه به این که مرز بیشینه مانده مجاز ملی برای آمتوکترا دین موجود نبود، از کدکس (Codex Alimentarius, 2023) و برای دایمتومورف از مرز بیشینه مانده مجاز ملی (مروتی و همکاران، ۱۳۹۷) استفاده گردید.

References

منابع

استاندارد ملی ایران. ۱۳۸۶. آفت کش ها- تعیین باقیمانده در محصولات کشاورزی و دامی- روش های نمونه برداری. مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، شماره ۸۳۶۶، چاپ اول.

- روانلو، ع. ع.، مروتی، م.، مدرس نجف آبادی، س.، دلیلی، ع. ر. و داودی، ع. ۱۴۰۲. ارزیابی کارایی قارچ کش اوروگو (SC ۵۲۵) (آمتوکترا دین + دایمتومورف) علیه *Phytophthora infestans* عامل بیماری سفیدک دروغی و بررسی میزان باقیمانده آن روی گوجه فرنگی در استان های هرمزگان، قزوین و مازندران. گزارش نهایی، مؤسسه تحقیقات گیاه پزشکی کشور.
- صلاحی اردکانی، ع.، مروتی، م. و انتصاری، م. ۱۳۹۱. باقیمانده آفت کش های اندوسولفان و دیازینون در مزارع گوجه فرنگی و خیار سبز استان کهگیلویه و بویراحمد. مهندسی ژنتیک و ایمنی زیستی ۱(۲): ۱۱۳-۱۲۰.
- مروتی، م. و نعمت الهی، م. ر. ۱۳۹۳. بررسی میزان باقیمانده چهار نوع حشره کش در خیار گلخانه ای استان اصفهان. مجله آفات و بیماری های گیاهی ۱۲(۱): ۱۱-۲۳.
- مروتی، م.، مهدوی، و.، حیدری، ا.، نوربخش، ر.، فرآورده، ل. و حیدری علیزاده، ب. ۱۳۹۷. باقیمانده آفت کش ها در محصولات کشاورزی (مخاطرات، مقررات و حدود مجاز آنها). انتشارات مؤسسه تحقیقات گیاه پزشکی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، ۲۶۷ صفحه.
- هادیان، ز. و عزیزی، م. ح. ۱۳۸۷. تعیین میزان باقی مانده انواع آفت کش ها در برخی از سبزیجات تازه و گلخانه ای. مجله علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی ۱۲(۴۳): ۱۹۵-۲۰۴.
- Abd-Elhaleem, A. 2020.** Pesticides residues in tomato and tomato products marketed in Majmaah province, KSA, and their impact on human health. *Environmental Science and Pollution Research International* 27(8): 8526-8534. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-07573-x>.
- Anonymous. 1947.** The measurement of potato blight. *Trans British Mycological Society*. 36: 267.
- Anastassiades, M., Lehotay, S.J., Stajnbaher, D. and Schenck, F.J. 2003.** Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction partitioning and dispersive solid-phase extraction for the determination of pesticide residues in product. *Journal of AOAC International* 86(2): 412-431.
- Anastassiadou, M., Giovanni, B., Alba, B., Carrasco Cabrera, L., Greco, L., Jarrah, S., Kazocina, A., Leuschner, R., Magrans, J.O., Miron, I., Nave, S., Pedersen, R., Reich, H., Rojas, A., Sacchi, A., Santos, M., Stanek, A., Theobald, A., Vagenende, B. and Verani, A. 2019.** Review of the existing maximum residue levels for Ametoctradin according to Article 12 of Regulation (EC) No 396/2005, European Food Safety Authority (EFSA).
- Andrade, G.C., Monteiro, S. H., Francisco, J. G., Figueiredo, L. A., Botelho, R.G, and Tornisielo, V.L. 2015.** Liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry and dynamic multiple reaction monitoring method for determining multiple pesticide residues in tomato. *Food Chemistry* 175: 57-65. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.11.105>.
- Arias, L.A., Bojacá, C.R., Ahumada, D.A. and Schrevens, E. 2014.** Monitoring of pesticide residues in tomato marketed in Bogota, Colombia. *Food Control* 35(1): 213-217. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2013.06.046>.
- Bakırcı, G.T., Acai, D.B Y., Bakırcı, F., and Ötleş, S. 2014.** Pesticide residues in fruits and vegetables from the Aegean Region, Turkey. *Food Chemistry* 160: 379-92. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.02.051>.
- Balkan, T. and Karaagacılı, O. 2023.** Determination of 301 pesticide residues in tropical fruits imported to Turkey using LC-MS/MS and GC-MS. *Food Control* 147: 109576. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2022.109576>.
- Balkan, T. and Kara, K. 2023.** Pesticide residues in sauce manufactured from agricultural products. *International Journal of Agriculture, Environment and Food Sciences* 7(1): 131-135. <https://doi.org/10.31015/jaefs.2023.1.16>.
- Balkan, T. and Yilmaz, O. 2022.** Method validation, residue and risk assessment of 260 pesticides in some leafy vegetables using liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry. *Food chemistry* 384: 132516. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132516>.
- Bhandari, G., Zomer, P., Atreya, K., Mol, H.G.J, Yang, X. and Geissen, V. 2019.** Pesticide residues in Nepalese vegetables and potential health risks. *Environment Research* 172: 511-521. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2019.03.002>.
- Bojaca, C.R., Arias, L.A., Ahumada, D.A., Casilimas, H.A. and Schrevens, E. 2013.** Evaluation of pesticide residues in open field and greenhouse tomatoes from Colombia. *Food Control* 30(2): 400-403. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.08.015>.

- Codex Alimentarius. 2023.** International Food Standards. <https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/codex-texts/list-standards/en/>.
- Corrias, F., Atzei, A., Lai, C., Dedola, F., Ibba, E., Zedda, G., Canu, F. and Angioni, A. 2020.** Effects of industrial processing on pesticide multiresidues transfer from raw tomatoes to processed products. *Foods* 9: 1497. <https://doi.org/10.3390/foods9101497>.
- Costa, F.R.S., Maia, P.L., da Siva, F.S., Nobre, C.A., Silva, R.O. and Milhome, A.L. 2023.** Analysis of residues of pesticides in tomato processed foods. *Journal of Brazilian Chemical Society* 34(11): 1734-1742. <https://dx.doi.org/10.21577/0103-5053.20230140>.
- Damalas, C.A. and Eleftherohorinos, I.G. 2011.** Pesticide exposure, safety issues and risk assessment indicators. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 8: 1402–1419. <https://doi.org/10.3390/ijerph8051402>.
- Dione, M.M., Djouaka, R., Mbokou, S.F., Ilboudo, G.S., Ouedraogo, A.A., Dinede, G., Roesel, K., Grace, D. and Knight-Jones, T.J.D. 2023.** Detection and quantification of pesticide residues in tomatoes sold in urban markets of Ouagadougou, Burkina Faso. *Frontiers in Sustainable Food Systems*. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2023.1213085>.
- Eslami, Z., Mahdavi, V. and Tajdar-Oranj, B. 2021.** Probabilistic health risk assessment based on Monte Carlo simulation for pesticide residues in date fruits of Iran. *Environmental Science and Pollution Research* 28(31): 42037-42050. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-13542-0>.
- Jallow, M.F.A., Awadh, D.G., Albaho, M.S., Devi, V.Y. and Thomas, B.M. 2017.** Pesticide knowledge and safety practices among farm workers in Kuwait: results of a survey. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 14(4): 340. <https://doi.org/10.3390/ijerph14040340>.
- Kipkemoi, E., Andayi, W.A., Njagi, E.C. and Ptoon, B. 2020.** Analysis of pesticide residues in tomatoes and French beans from Murang'a and Kiambu Counties, Kenya. *European Journal of Nutrition and Food Safety* 12(11): 121-132. <https://doi.org/10.9734/EJNFS/2020/v12i1130328>.
- Lozowicka, B., Abzeitova, E., Sagitov, A., Kaczynski, P., Toleubayev, K. and Li, A. 2015.** Studies of pesticide residues in tomatoes and cucumbers from Kazakhstan and the associated health risks. *Environment Monitoring Assessment* 187(10):609. <https://doi.org/10.1007/s10661-015-4818-6>.
- Mahdavi, V., Eslami, Z., Gordan, H., Ramezani, S., Peivasteh-roudsari, L., Ma'mani, L. and Mousavi Khaneghah, A. 2022.** Pesticide residues in green-house cucumber, cantaloupe and melon samples from Iran: A risk assessment by Monte Carlo Simulation. *Environmental Research* 15(206): 112563. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2021.112563>.
- Mahdavi, V., Heris, M.E.S., Dastranj, M., Eslami, Z. and Aboul-Enein, H.Y. 2021.** Assessment of pesticide residues in soils using a QuEChERS extraction procedure and LC-MS/MS. *Water, Air and Soil Pollution* 232(4): 159. <https://doi.org/10.1007/s11270-021-05104-4>.
- Melo, A., Cunha, S.C., Mansilha, C., Aguiar, A., Pinho, O. and Ferreira, I. 2012.** Monitoring pesticide residues in greenhouse tomato by combining acetonitrile-based extraction with dispersive liquid-liquid micro extraction followed by gas chromatography-mass spectrometry. *Food Chemistry* 135(3): 1071–1077. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.05.112>.
- Morowati, M., Nikan, J. and Mahdavi, V. 2024.** Residue levels of frequently used pesticides in greenhouse grown tomato from Hamadan province and assessment of potential health risks to consumers. *Journal of Crop Protection* 13(4): 399-409.
- Sancar, B.C., Akhan, M., Ozturk, M. and Ergun, O. 2022.** Pesticide residues in vegetables and fruits from Istanbul by LC-MS/MS. *Harran Tanım ve Gıda Derg* 26(3): 303-315. <https://doi.org/10.29050/harranziraat.1063811>.
- Schusterova, D., Hajslova, J., Kocourek, V. and Pulkrabova, J. 2021.** Pesticide residues and their metabolites in grapes and wine from conventional and organic farming system. *Foods* 10(2): 307. <https://doi.org/10.3390/foods10020307>.

Investigation on the reduction of Orvego® fungicide (Ametoctradin+ Dimethomorph) residue levels used to control tomato downy mildew disease in Mazandaran province

M. Morowati^{1*}, A.A. Ravanlou², V. Mahdavi¹ and S. A. Dalili³

Received: 8 Jun., 2024

Accepted: 20 Aug., 2024

ABSTRACT

In order to measure the residue of Orvego® fungicide (Ametoctradin+Dimethomorph) the recommended dose of 80 ml/100 liters of water (by the producing company) was used and 15 samples of treated tomatoes (5 samples in 3 replications) and one control sample were collected at 1, 2, 3, 5 and 8 days after spraying. Extraction of pesticides was carried out according to the national standard of Iran "measurement of pesticide residues" which recommends to use QuEChERS method of extraction. Samples were analyzed by LC-MS/MS and the determined values were compared with the national and Codex MRLs. The results showed that according to the MRL of Ametoctradin, which is 1.5 mg/kg (Codex), the mean residue detected in the samples was less than the MRL one day after spraying. Dimethomorph has a MRL of 3 mg/kg (National), and the mean residue detected in the samples was 0.076 mg/kg, one day after spraying which is less than the MRL. According to the recommendation of the manufacturer of Orvego® and the references studied the pre-harvest interval (PHI) of Orvego® (Ametoctradin+Dimethomorph) is 1 day, which is confirmed in the present research. Therefore, Orvego® used at a rate of 80 ml/100 liters with the PHI of one day could be recommended to control tomato downy mildew disease.

Key words: Chemical control, LC-MS/MS, MRL, Orvego®, Pesticide residues

-
1. Associate Professor, Pesticides Research Department. Iranian Research Institute of Plant Protection (IRIPP), Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran
 2. Assistant Professor, Plant Diseases Research Department, Iranian Research Institute of Plant Protection, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Tehran, Iran
 3. Assistant Professor, Plant Protection Research Department, Agricultural and Natural Resources Research Centre of Mazandaran Province, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Mazandaran, Sari, Iran
- Corresponding author:** m_morowati@yahoo.com