Evaluation of the Residue Levels of New Fungicides Dagonis® 12.5% SC and Affiance® 17% SC in the Control of Tomato Early Blight Disease

M. Morowati[1*], K. Sharifi[2], V. Mahdavi[1]

1- Associate Professor, Pesticides Research Department, Iranian Research Institute of Plant Protection, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Tehran, Iran
2- Assistant Professor, Plant Diseases Research Department, Iranian Research Institute of Plant Protection, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Tehran, Iran
(*- Corresponding author's Email: M_Morowati@yahoo.com)

Received: 00-00-0000
Revised: 00-00-0000
Accepted: 00-00-0000
Available Online: 00-00-0000

How to cite this article:
Morowati, M., Sharifi, K., & Mahdavi, V. (2024). Evaluation of the residue levels of new fungicides Dagonis® 12.5% SC and Affiance® 17% SC in the control of tomato early blight disease. *Iranian Plant Protection Research, 38*(2), (In Persian with English abstract)
https://doi.org/10.22067/jpp.2024.88636.1196

Introduction

Tomato early blight is an important disease in tomato which is caused by *Alternaria alternata*, *A. tenuissima* and *A. solani* species, and occurs in a wide range of weather conditions all around the world. For the chemical control of this disease, the fungicides Dagonis® (fluxapyroxad 75 $g.l^{-1}$ + difenoconazole 50 $g.l^{-1}$) at a rate of 1200 $ml.ha^{-1}$, Affiance® (tetraconazole 75 $g.l^{-1}$ + azoxystrobin 95 $g.l^{-1}$) at a rate of 600 $ml.ha^{-1}$ and Signum® (boscalid 252 $g.l^{-1}$ + pyraclostrobin 128 $g.l^{-1}$) at rate of 500 $g.ha^{-1}$ are used. In order to evaluate residue levels of these fungicides, experiments were carried out under greenhouse conditions in Alborz province during the years 2020 to 2022.

Materials and Methods

In order to investigate the effect of Affiance®, Dagonis® and Signum® fungicides in controlling tomato early blight disease, experiments with 3 treatments and four replications were conducted in Alborz province under greenhouse conditions in the form of a completely randomized design. Control was considered without any spraying of these fungicides**.**

In order to measure the residue levels of these fungicides in the treated tomato fruits, samples were collected at 1, 2, 3, 4 and 5 days after spraying according to the Iran's national standard method no. 8366/2005 entitled "Pesticides- Determination of pesticide residues in crops and livestock- sampling method". Extraction of pesticides were carried out by QuEChERS method and pesticide residue levels were measured by LC-MS/MS and the values were compared with the national and international MRLs. For preparation and extraction, tomato samples were crushed and homogenized. 15 grams of the homogenized and crushed sample was weighed as a laboratory test sample. By adding 15 ml of acetonitrile containing 1% acetic acid, the overall extraction process was performed. Anhydrous magnesium sulfate, sodium chloride and sodium acetate adsorbents were used to complete the extraction process. By centrifugation, the organic phase was separated from the aqueous tissue and 5 ml of the organic phase obtained from this step was used for the cleanup step. For purification, magnesium sulfate adsorbents were used in order to remove excess water in the medium and PSA (Poly Secondary Amine) in order to remove large molecules, organic acids, proteins and other disturbing co-extractives. Finally, after centrifugation, 1 ml of the resulting organic phase was prepared after filtration for evaporation and then injection into the LC-MS/MS.

Calibration of LC-MS/MS

First, by directly injecting the standard solution (1 $\mu g.ml^{-1}$) of each of the pesticides alone to the MS detector, the fragmentation voltage of the parent ion (Precursor Ion) and the collision energy for each of the daughter ions (Daughter Ion) or product ions of each compound were optimized. In other words, at this stage, the best conditions for high-sensitivity detection were determined for each of the compounds.

Validation of the method

According to the Sanco standard, three concentration levels were validated, which were made in acetonitrile solvent and tomato matrix. For this purpose, by diluting the mother solution appropriately, solutions were prepared at three different concentration levels of 0.05, 0.1, and 0.2 $mg.kg^{-1}$ of the mixture of the standards of pesticides under investigation in solvent and tomato matrix. Regarding the linear dynamic range (LDR) for all pesticides the beginning of the range is the same as the limit of quantitation (LOQ). The figures of acceptable merit and recovery in the range of 80.1 to 111% with RSD from 10 to 14.5% indicate the acceptability of the proposed analysis method.

Results and Discussion

The results obtained for the residue levels of Dagonis® fungicide consisting of fluxapyroxad and difenoconazole, showed that according to the MRL of fluxapyroxad (MRL= 0.2 $mg.kg^{-1}$), two days after spraying it was less than the MRL and difenoconazole residue levels was less than the MRL (MRL= 0.6 $mg.kg^{-1}$) one day after spraying. The amount of residue in Affiance® treatment samples, consisting of two fungicides, tetraconazole and azoxystrobin, showed that after 3 days of spraying, the residue of tetraconazole reached the MRL (0.1 $mg.kg^{-1}$) and the residue of the fungicide azoxystrobin was lower than the MRL (3 $mg.kg^{-1}$) one day after spraying. The results of the pesticide residue measured in the samples treated with Signum® consisting of boscalid and pyraclostrobin showed that the pyraclostrobin residue levels were lower that the MRL (1 $mg.kg^{-1}$) two days after spraying this fungicide, and boscalid residue was lower than the MRL (3 $mg.kg^{-1}$) after one day of spraying. In the control samples, the tested fungicides were not detectable.

Conclusions

Therefore, Affiance®, Dagonis® and Signum® fungicides at the rate of 600, 1200 ml and 500 $g.ha^{-1}$, with the pre-harvest intervals of 3, 2 and 2 days respectively, are safe considering the residue levels of them and are recommended to be used to control early blight disease in tomato.

Keywords*:* Affiance®, Chemical control, Dagonis®, MRLs, Signum®

ارزیابی مقدار باقی‌مانده قارچ‌کش‌های جدید داگونیس® SC 12.5% و آفیانس® SC 17% در مهار بیماری لکه موجی گوجه‌فرنگی

محسن مروتی[1*] - کسری شریفی[2] - وحیده مهدوی[1]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۴/۰۳
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۳/۰۶/۲۵
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۷/۰۱

چکیده

بیماری لکه‌موجی یکی از بیماری‌های مهم گوجه‌فرنگی محسوب می‌شود که عوامل آن قارچ‌های *A. alternata*، *A. Tenuissima* و *A. solani* می‌باشند و در شرایط آب‌وهوایی گرم و مرطوب، نیمه‌مرطوب و معتدل ایجاد می‌شود. برای مهار شیمیایی این بیماری، از قارچ‌کش‌های داگونیس® (فلوکساپیروکساد ۷۵ گرم بر لیتر + دیفنوکونازول ۵۰ گرم بر لیتر)، آفیانس® (تتراکونازول ۷۵ گرم بر لیتر + آزوکسی‌استروبین ۹۵ گرم بر لیتر) و سیگنوم® (بوسکالید ۲۵۲ گرم بر لیتر + پیراکلواستروبین ۱۲۸ گرم بر لیتر) به‌ترتیب با مقادیر ۱۲۰۰ میلی‌لیتر، ۶۰۰ میلی‌لیتر و ۵۰۰ گرم در هکتار استفاده می‌شود. به‌منظور بررسی میزان باقی‌مانده این قارچ‌کش‌ها پس از محلول‌پاشی با قارچ‌کش‌های مذکور برای مهار بیماری لکه‌موجی گوجه‌فرنگی، آزمایشات در شرایط گلخانه‌ای واقع در استان البرز روی رقم SV4129 صورت گرفت. نمونه‌برداری از میوه‌ها در زمان‌های یک، دو، سه، چهار و پنج روز پس از محلول‌پاشی انجام شد. استخراج قارچ‌کش‌ها طبق روش‌های استاندارد ملی ایران صورت گرفت. اندازه‌گیری باقی‌مانده آن‌ها با دستگاه کروماتوگرافی مایع مجهز به تجزیه‌گر متوالی جرمی انجام و مقادیر محاسبه شده با مرز بیشینه مانده مجاز ملی و بین‌المللی مقایسه گردید. نتایج به‌دست آمده در مورد قارچ‌کش داگونیس®، نشانگر کاهش میزان باقی‌مانده آن به کمتر از مرز بیشینه مانده مجاز، دو روز پس از سم‌پاشی بود. میزان باقی‌مانده در نمونه‌های تیمار آفیانس®، نشان داد که باقی‌مانده آن پس از گذشت سه روز بعد از سم‌پاشی به‌مقدار برابر با مرز بیشینه مانده مجاز می‌رسد. بررسی باقی‌مانده سیگنوم® مشخص کرد که باقی‌مانده آن دو روز پس از سم‌پاشی به پایین‌تر از مرز بیشینه مانده مجاز می‌رسد. به این ترتیب، قارچ‌کش‌های آفیانس®، داگونیس® و سیگنوم® به‌ترتیب با مقادیر ۶۰۰ و ۱۲۰۰ میلی‌لیتر و ۵۰۰ گرم در هکتار با دوره‌های کارنس به‌ترتیب سه، دو و دو روز با توجه به‌میزان باقی‌مانده قارچ‌کش‌ها ایمن بوده و قابل توصیه برای مهار بیماری لکه‌موجی گوجه‌فرنگی هستند.

واژه‌های کلیدی: آلترناریا، دوره کارنس، قارچ‌کش، مهار شیمیایی، مرز بیشینه مانده مجاز

مقدمه

گوجه‌فرنگی (*Solanum lycopersicum* L.) از گیاهان مهمی است که میوه آن به‌صورت تازه‌خوری و همچنین در صنایع غذایی استفاده می‌شود (Bai & Lindhout, 2007). بنابه گزارش مرکز فناوری اطلاعات و ارتباطات وزارت جهاد کشاورزی، سطح زیر کشت گوجه‌فرنگی در فضای باز و گلخانه به‌ترتیب حدود ۸۰ هزار و ۷۰۰ هکتار و تولید آن در ایران به‌ترتیب حدود ۳،۸۰۰،۰۰۰ و ۴۰۰،۰۰۰ تن در سال زراعی ۱۴۰۰-۱۳۹۹ برآورد شده است (Anonymous, 2022).

بیماری لکه‌موجی[2] گوجه‌فرنگی که عوامل آن قارچ‌های *Alternaria solani*، *A. alternata* و *A. tenuissima* می‌باشند از بیماری‌های مهم گوجه‌فرنگی است که در شرایط آب‌وهوایی گرم و

۱- دانشیار، بخش تحقیقات آفت‌کش‌ها، مؤسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران
۲- استادیار، بخش تحقیقات بیماری‌های گیاهی، مؤسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران
(*- نویسنده مسئول: M_Morowati@yahoo.com
(Email:

https://doi.org/10.22067/jpp.2024.88636.1196

۲- Early blight disease

نسخه پیش انتشار

مرطوب، نیمه‌مرطوب و معتدل حادث می‌شود (Stammler*et al.*, 2014). اگر اقدامات لازم برای مهار آن انجام نشود، شاخسار و اندام‌های سبز گیاه را تخریب و خسارت زیادی را به محصول وارد می‌کند. بیماری لکه‌موجی گوجه‌فرنگی از اکثر مناطق کشت گوجه‌فرنگی کشور گزارش شده است (Ershad, 1998). این بیماری در دنیا به‌خصوص در مناطق گرم و مرطوب و نیمه مرطوب با تشکیل شبنم‌های صبحگاهی، آلودگی ایجاد می‌کند. میانگین خسارت ناشی از این بیماری در دنیا حدود ۳۰ درصد برآورد شده است که اهمیت این بیماری را نشان می‌دهد (Chaerani *et al.*, 2007; El-Tanany *et al.*, 2018). عوامل بیماری در گوجه‌فرنگی، بادمجان (*Solanum melongena* L.) و سیب‌زمینی (*Solanum tuberosum* L.) شیوع دارد و گونه‌های مختلفی به‌عنوان عوامل بیماری لکه‌موجی گوجه‌فرنگی از جمله قارچ‌های *Alternaria solani*، *A. alternata* و *A. tenuissima* معرفی شده‌اند (Saleem & El-Shahir, 2022; Stammler*et al.*, 2014). خسارت بیماری در ارقام گوجه‌فرنگی زودرس به‌خصوص در مناطق کشت در بندرعباس، میناب و جیرفت فوق‌العاده زیاد و مهم است (Ahmadinejad & Doodabi, 1986). میزان آلودگی در مناطق جیرفت وکهنوج حدوداً بین ۹۰-۶۰ درصد گزارش شده است (Jaliani, 1991). این بیماری در سال‌های اخیر باعث بروز خسارت قابل توجهی در مناطق جنوبی ایران شده است. علائم بیماری در میوه و برگ شبیه بوده و به‌صورت لکه‌های گرد تا بیضی و به‌رنگ قهوه‌ای با حلقه‌های متحدالمرکز تیره می‌باشند (Hansen, 2000). ازآن‌جایی‌که بدون استفاده به‌هنگام از برنامه‌های زمان‌بندی شده سم‌پاشی با قارچ‌کش‌های مؤثر، امکان مهار بیماری وجود ندارد، به‌کارگیری قارچ‌کش‌های کم‌خطر و مؤثرتر برای پیش‌گیری از آلودگی و توسعه این بیماری از اهیت فراوانی برخوردار است (Hansen, 2000).

برای مهار بیماری لکه‌موجی اغلب از قارچ‌کش‌های شیمیایی استفاده می‌شود و در برخی از مناطق کشت گوجه‌فرنگی به‌ویژه در مناطق جنوبی کشور به‌دلیل وجود رطوبت بالا و دمای معتدل به‌دلیل گسترش سریع آلودگی، سم‌پاشی به دفعات تکرار می‌شود.. از جمله قارچ‌کش‌های مورد استفاده برای مهار بیماری لکه‌موجی می‌توان به پروپیکونازول، اپیرودیون + کاربندازیم، دیتیوکاربامات‌ها، کلروتالونیل، آزوکسی استروبین، پیراکسی استروبین و بیکربنات پتاسیم اشاره کرد (Dillard *et al.*, 1995; Baimani *et al.*, 2002).

قارچ‌کش آفیانس®[1] SC18% متشکل از ۸۰ گرم در لیتر تتراکونازول و ۱۰۰ گرم در لیتر آزوکسی استروبین است. تتراکونازول بازدارنده دمتیلاسیون[2] بوده و از ساخت استرول‌های غشاء سلولی جلوگیری می‌کند[3] و محل اثر آن C14- دمتیلاز در زیست‌ساخت[4] استرول مربوط به پروتئین (Erg11) CYP51[5] می‌باشد (Rosenzweig *et al.*, 2019). آزوکسی استروبین از بازدارنده‌های خارجی کوئینون‌ها[6] است و از طریق تأثیر بر زنجیره تنفس میتوکندریایی نقش بازدارندگی در جوانه‌زنی اسپور و رشد میسلیوم دارد (Anonymous, 2022). آزوکسی استروبین ممکن است برخی از ریزموجودات مفید را که آنتاگونیست بیمارگرها هستند را از بین ببرد (Macar, 2022). همچنین دارای ریسک بالا به بروز مقاومت معرفی شده است (Fishel & Dewdney, 2012).

قارچ‌کش داگونیس®[7] SC 12.5% از دو جزء فلوکساپیروکساد[8] (۷۵ گرم در لیتر) و دیفنوکونازول[9] (۵۰ گرم در لیتر) تشکیل شده است. دیفنکونازول از بازدارنده‌های دمتیلاسیون محسوب می‌شود و خطر مقاومت نسبت به آن در قارچ‌های بیمارگر متوسط است (Anonymous, 2022). قارچ‌کش مذکور به‌صورت سیستمیک و محافظتی عمل نموده و دارای دامنه وسیع با خاصیت پیشگیری و معالجه‌کنندگی می‌باشد. دیفنوکونازول دارای طیف وسیع قارچ‌کشی بوده و به‌صورت محلول‌پاشی روی اندام‌های هوایی و یا به‌صورت ضدعفونی بذر برای مهار بیماری‌های بذرزاد و حفاظت از بذر در مقابل تهاجم قارچ‌ها استفاده می‌شود (Fishel & Dewdney, 2012). دیگر ماده مؤثره داگونیس، فلوکساپیروکساد یک مهارکننده سوکسینات دهیدروژناز[10] (SDHI) است. این ماده در برخی از مراحل مهم چرخه زندگی قارچ از جمله جوانه‌زنی اسپور، رشد لوله جوانه‌زنی، تشکیل آپرسوریا و رشد میسلیوم دخالت کرده و با مهار آنزیم سوکسینات دهیدروژناز مانع از رشد قارچ می‌شود (Strathmann *et al.*, 2011).

قارچ‌کش سیگنوم® از جمله قارچ‌کش‌های جدید متشکل از دو ماده مؤثر بوسکالید[11] و پیراکلواستربین[12] به‌ترتیب از گروه قارچ‌کش‌های آنیلید[13] و استروبیلورین[14] است که ضمن محافظت، موجب مهار تکثیر عامل بیماری در گیاه می‌گردد. نحوه اثر پیراکلوستروبین از طریق ممانعت از تنفس میتوکندریایی و نحوه اثر کاربوکسامید از طریق ممانعت از تشکیل آنزیم میتوکندریال سوکسینات دهیروژناز می‌باشد. این قارچ‌کش به‌عنوان پیشگیری‌کننده

1- Affiance
2- Demethylation

3- Sterol demethylase inhibitors
4- Biosynthesis
5- Sterol 14α-Demethylase
6- Quinone outside inhibitors (QoI)
7- Dagonis
8- Fluxapyroxad
9- Difenoconazole
10- Succinate- dehydrogenase inhibitors
11- Boscalid
12- Pyraclostrobin
13- Anilide
14- Strobilurine

و درمان‌کننده عمل می‌نماید و بیماری‌های زنگ[۱]، سفیدک پودری[۲]، لکه برگی و بلایت[۳] را مهار می‌کند (Gentili *et al.*, 2006).

مواد و روش‌ها

بررسی حاضر به‌منظور اندازه‌گیری میزان باقی‌مانده قارچ‌کش‌های آفیانس®، داگونیس® و سیگنوم® که برای مهار بیماری لکه‌موجی گوجه‌فرنگی در آزمایش‌های متفاوت در استان البرز در شرایط گلخانه طی سال‌های ۱۴۰۱-۱۴۰۰ مورد ارزیابی قرار گرفته بودند، صورت گرفت تا دوره کارنس این قارچ‌کش‌ها در گوجه‌فرنگی تعیین شود. برای این منظور، رقم گوجه‌فرنگی SV4129 در شرایط گلخانه هیدروپونیک در ایستگاه تحقیقات گیاه‌پزشکی کرج واقع در استان البرز کاشت شد. آزمایش‌ها در گلخانه با دمای ۲۲-۲۷ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۵ ± ۷۰ درصد صورت گرفت.

برای ایجاد بیماری از روش محلول‌پاشی با ۱×۱۰^{۵} اسپور زنده در هر میلی‌لیتر از زادمایه قارچ *A. solani* و با استفاده از آب‌پاش دستی در دو مرحله و با فاصله ۱۵ روز در مرحله میوه‌دهی گیاه استفاده شد. برای تکثیر قارچ از قطعات کوچکی از پرگنه ۱۰ روزه در تشتک‌های پتری حاوی محیط کشت سیب‌زمینی-هویج-آگار کشت داده و به‌مدت ۱۵ روز در دمای ۲۱ درجه سلسیوس نگهداری شد. برای تهیه زادمایه، حدود ۱۰ میلی لیتر آب مقطر سترون حاوی توئین ۲۰ (زیگما آلدریچ) با غلظت نهایی ۰/۰۱ درصد به تشتک پتری حاوی پرگنه قارچ اضافه و سطح پرگنه با استفاده از اسکالپل به‌آرامی خراش داده شد. سپس با استفاده از لام هموسیتومتر[۴] محلول حاوی ۱×۱۰^{۵} اسپور در میلی لیتر به‌مقدار کافی تهیه شد. بوته‌های گوجه‌فرنگی سالم و دارای ۱۰-۸ برگ مرکب با ارتفاع تقریباً یکسان انتخاب و با ۱۰ میلی لیتر از محلول حاوی اسپور از جدایه انتخابی محلول‌پاشی شد. شاهد با آب مقطر سترون محلول‌پاشی شد. برای استقرار عامل بیماری، بوته‌های تیمار شده به‌مدت ۴۸ ساعت در دمای ۲۳-۲۱ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی حدود ۸۰ درصد در شرایط گلخانه نگهداری شدند (Foolad *et al.*, 2000). هم‌زمان با استقرار عامل بیماری، سم‌پاشی‌ها در سه نوبت با فاصله زمانی هفت روز انجام شد. شاهد بدون هیچ‌گونه سم‌پاشی بررسی گردید.

اندازه‌گیری باقی‌مانده آفت‌کش‌ها

تعداد ۱۶ نمونه میوه گوجه‌فرنگی به‌مقدار یک کیلوگرم هر نمونه (پنج نمونه از تیمار داگونیس با دوز ۱۲۰۰ میلی‌لیتر، پنج نمونه از تیمار آفیانس با دوز ۶۰۰ میلی‌لیتر و پنج نمونه از تیمار سیگنوم با دوز ۵۰۰ گرم در هکتار، در پنج زمان یک، دو، سه، چهار و پنج روز پس از محلول‌پاشی و یک نمونه شاهد بدون محلول‌پاشی) از بوته‌های گوجه‌فرنگی جمع‌آوری شد. پس از نمونه‌برداری، با زدن برچسب، داخل کیسه‌های پلی‌اتیلن تیره رنگ گذاشته شده و با حفظ دمای مناسب با قرار دادن نمونه‌ها در یخ، سریعاً به آزمایشگاه تعیین باقی‌مانده آفت‌کش‌های کشاورزی در بخش تحقیقات آفت‌کش‌های مؤسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور منتقل شدند. نمونه‌برداری طبق استاندارد ملی ایران به شماره ۸۳۶۶ سال ۱۳۸۴ با عنوان "آفت‌کش ها- تعیین باقی‌مانده در محصولات زراعی و دامی- روش‌های نمونه برداری" انجام شد. به‌منظور تکرارپذیری، آزمایش‌های اندازه‌گیری باقی‌مانده برای هر نمونه سه بار تکرار شد.

استخراج نمونه‌ها به‌منظور اندازه‌گیری باقی‌مانده آفت‌کش‌ها

جهت استخراج آفت‌کش‌های تحت آزمایش از روش کچرز[۵] طبق دستورالعمل ۲۰۰۸ اتحادیه اروپا (British Standard 2008) و استاندارد ملی ایران با عنوان "اندازه‌گیری باقی‌مانده آفت‌کش‌ها به‌روش کچرز" مصوب سال ۱۳۹۲ به شماره ۱۷۰۲۶ در نمونه‌های گوجه‌فرنگی استفاده شد. برای آماده‌سازی، نمونه‌های گوجه‌فرنگی خرد و همگن شدند. ۱۵ گرم از نمونه همگن و خرد شده به‌عنوان آزمایه از نمونه آزمایشگاهی توزین شد. با افزودن ۱۵ میلی‌لیتر استونیتریل[۶] حاوی یک درصد اسید استیک[۷] فرآیند استخراج کلی انجام شد. برای تکمیل فرآیند استخراج از جاذب‌های منیزیم سولفات بدون آب[۸]، سدیم کلراید[۹] و سدیم استات[۱۰] استفاده شد. با استفاده از سانتریفوژ، فاز آلی از بافت آبی جدا شد و پنج میلی‌لیتر فاز آلی به‌دست آمده از این مرحله برای مرحله تصفیه[۱۱] استفاده گردید. برای تصفیه از جاذب‌های منیزیم سولفات به‌منظور حذف آب اضافی در محیط و پی‌اس‌ای[۱۲] به‌منظور حذف مولکول‌های درشت، اسیدهای آلی، پروتئین‌ها و سایر هم‌استخراج‌های[۱۳] غیر نیاز و مانع استفاده شد که در نهایت، پس از سانتریفوژ یک میلی‌لیتر از فاز آلی حاصل پس از عبور از فیلتر سرسرنگی برای تبخیر و سپس تزریق به دستگاه آماده شد

1- Rust
2- Powdery mildew
3- Blight
4- Haematocytometer

5- QuEChERS (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe)
6- Acetonitrile
7- Acetic acid
8- Anhydrous magnesium sulfate
9- Sodium chloride
10- Sodium acetate
11- Clean up
12- PSA (poly secondary amine)
13- Co-extractive

.(British Standard, 2008)

واکاوی و اندازه‌گیری آفت‌کش‌ها با دستگاه کروماتوگرافی مایع مجهز به تجزیه‌گر متوالی جرمی[1]

شرایط شویش در کروماتوگرافی مایع با کارآیی بالا[2] از شرکت Agilent مدل ۶۴۱۰ مجهز به آنالایزر triple quadrupole استفاده شد. جداسازی در LC مدل ۱۲۰۰ شرکت Agilent انجام شد. از ستون SB-C18, Zorbax Eclipse با مشخصات (۵۰/۰ mm ×۳/۰ و ۱/۸ µm) که در محفظه مجهز به ترموستات، در دمای °C ۲۵ ثابت تنظیم شده بود، استفاده شد و تعیین نوع و درصد فاز متحرک: برای جداسازی از فازهای متحرک، استونیتریل و آب حاوی ۰/۱٪ اسید فرمیک [3] استفاده شد و شرایط شویش طبق جدول ۱ انجام گرفت.

1- Liquid Chromatography-Mass/Mass
2- High Performance Liquid Chromatography
3- Formic acid

جدول ۱- شرایط شویش استفاده شده در HPLC جهت استخراج قارچ‌کش‌های مورد مطالعه

Table 1- Washing conditions used in HPLC to extract the studied analyte

Time (min)	% Mobile phase (water)	Flow ($ml.min^{-1}$)	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 کروماتوگرافی مایع مجهز به تجزیه‌گر متوالی جرمی با استانداردهای آفت‌کش‌های مورد مطالعه

ابتدا با تزریق مستقیم محلول استاندارد یک میکروگرم بر میلی‌لیتر هر یک از آفت‌کش‌ها به‌تنهایی به آشکارساز MS، ولتاژ قطعه قطعه شدن[1] یون والد[2] و انرژی برخورد برای هر یک از یون‌های دختر[3] یا یون‌های تولیدی[4] هر یک از ترکیبات بهینه شد. به عبارتی، در این مرحله بهترین شرایط برای تشخیص با حساسیت بالا برای هر یک از ترکیبات تعیین شد که اطلاعات شرایط بهینه در جدول ۲ نشان داده شده است.

جدول ۲- شرایط بهینه برای به‌دست آوردن حداکثر حساسیت نسبت به قارچ‌کش‌های مورد مطالعه

Table 2- Optimum conditions to obtain maximum sensitivity to the studied pesticides

Compound ترکیب	**Retention time (min) زمان بازداری**	**Parent ion ($m.z^{-1}$) یون مادر**	**Product ion ($m.z^{-1}$) یون محصول**	**Collision energy انرژی برخورد**
Fluxapyroxad فلوکساپیروکساد	7.5	383 (42)	314 (20)	342 (20)
Difenoconazole دیفنکونازول	8.3	407 (100)	337 (15)	251 (10)
Tetraconazole تتراکونازول	7.5	373 (110)	70 (20)	159 (20)
Azoxystrobin آزوکسی‌استروبین	7.4	405 (144)	372 (20)	344 (20)
Boscalid بوسکالید	7.6	344 (95)	140 (20)	307 (20)
Pyraclostrobin پیراکلواستروبین	8.9	389 (155)	133 (20)	163 (20)

1- Fragmentation voltage
2- Precursor ion
3- Daughter ion
4- Product ion

اعتبارسنجی روش

طبق استاندارد سانکو، اعتبارسنجی در سه سطح غلظتی انجام گرفت که در حلال استونیتریل و ماتریس گوجه‌فرنگی ساخته شدند. به این منظور، با رقیق‌سازی مناسب محلول مادر، محلول‌هایی در سه سطح غلظتی متفاوت با غلظت‌های ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۲، میلی‌گرم در کیلوگرم از مخلوط آفت‌کش‌های مورد مطالعه در حلال و ماتریس تهیه شد. در مورد محدوده دینامیک خطی[1] برای همه آفت‌کش‌ها موجود در جدول ابتدای محدوده دینامیک خطی همان حد کمّی[2] است که در جدول ۳ نشان داده شده است. ارقام شایستگی قابل قبول و بازیابی در محدوده ۸۰/۱ تا ۱۱۱ درصد با انحراف استاندارد نسبی[3] از ۱۰ تا ۱۴/۵ درصد، نشان از قابل قبول بودن روش واکاوی پیشنهادی می‌باشد (Eslami *et al*., 2021; Mahdavi *et al*., 2022; Mahdavi *et al*., 2021).

جدول ۳- ارزیابی عملکرد روش‌های استخراج و آنالیز از نظر محدوده دینامیکی خطی و حد کمّی

Table 3- Performance evaluation of extraction and analysis methods in terms of linear dynamic range, LOQ ($mg.kg^{-1}$) in LC-MS/MS

Compound ترکیب	Calibration curve equation معادله منحنی کالیبراسیون	LOQ حد کمّی	LDR محدوده دینامیکی خطی	% Matrix effect ٪ اثرات ماتریس
Fluxapyroxad فلوکساپیروکساد	y = 52059x + 32533	0.05	0.05-1	-20
Difenoconazole دیفنکونازول	y = 57342x + 14017	0.01	0.01-1	-21
Tetraconazole تتراکونازول	y = 17005x + 47809	0.01	0.01-1	-24
Azoxystrobin آزوکسی‌استروبین	y = 62834x + 74864	0.01	0.01-1	-25
Boscalid بوسکالید	y = 77571x + 74113	0.05	0.05-1	-17
Pyraclostrobin پیراکلواستروبین	y = 62682x + 3281.8	0.05	0.05-1	-18

1- Linear Dynamic Ranges (LDR)
2- Limit of Quantitation (LOQ)
3- Relative Standard Deviation (RSD)

نتایج

نتایج به‌دست آمده از آزمایشات اندازه‌گیری باقی‌مانده قارچ‌کش‌های آفیانس® ، داگونیس® و سیگنوم® در جداول ۴ تا ۶ آورده شده است. قارچ‌کش داگونیس® متشکل از دو جزء قارچ‌کش فلوکساپیروکساد و دیفنوکونازول می‌باشد، هر دو قارچ‌کش در نمونه میوه‌های گوجه‌فرنگی که در روزهای اول تا پنجم پس از سم‌پاشی جمع‌آوری شده بود، اندازه‌گیری شد. میانگین باقی‌مانده فلوکساپیروکساد در روز اول پس از محلول‌پاشی معادل ۱/۲۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم اندازه‌گیری شد و با توجه به بیشینه مانده مجاز قارچ‌کش فلوکساپیروکساد که معادل ۰/۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم می‌باشد، نمونه یک روز پس از سم‌پاشی بیش از حد مجاز باقی‌مانده دارد، اگر چه از روز دوم به بعد میزان باقی‌مانده این قارچ‌کش پایین‌تر از حد کمّی دستگاه بوده و عملاً کمتر از بیشینه مانده مجاز این قارچ‌کش می‌باشد. حال اینکه قارچ‌کش دیفنوکونازول که دارای بیشینه مجاز ۰/۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم می‌باشد، از یک روز بعد از سم‌پاشی با میانگین ۰/۰۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم در نمونه‌ها اندازه‌گیری شد که کمتر از بیشینه مجاز بوده و قابل مصرف می‌باشد. بنابراین داگونیس® در مجموع از روز دوم پس از سم‌پاشی، میزان باقی‌مانده در حد مجاز را دارا می‌باشد (جدول ۴). در نمونه‌های گوجه‌فرنگی جمع‌آوری شده مربوط به تیمار آفیانس® هم باقی‌مانده دو قارچ‌کش تتراکونازول و آزوکسی‌استروبین، قارچ‌کش‌های تشکیل‌دهنده آن اندازه‌گیری شد. میانگین باقی‌مانده تتراکونازول در روزهای اول و دوم بعد از محلول‌پاشی به‌ترتیب ۰/۱۶ و ۰/۱۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم بود که در روز سوم این مقدار برابر با بیشینه مجاز این قارچ‌کش (۰/۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم) رسید و سپس سیر کاهشی را تا روز پنجم نشان داد. قارچ‌کش آزوکسی‌استروبین از روز اول پس از سم‌پاشی میزانی پایین‌تر از بیشینه مانده مجاز آن (سه میلی‌گرم بر کیلوگرم) را دارا بود که این میزان قابل قبول می‌باشد. بنابراین، با توجه به رسیدن میزان باقی‌مانده تتراکونازول در روز سوم پس از سم‌پاشی به بیشینه مجاز آن در گوجه‌فرنگی، پیشنهاد می‌گردد که این محصول سه روز بعد از سم‌پاشی برداشت شود (جدول ۵). نمونه‌های تیمار سیگنوم® که شامل دو جزء قارچ‌کش بوسکالید و پیراکلواستروبین است هم پس از اندازه‌گیری باقی‌مانده آن‌ها مشخص شد که میانگین باقی‌مانده پیراکلواستروبین یک روز پس از محلول‌پاشی معادل ۱/۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم که بیش از حد مجاز می‌باشد و دو روز پس از سم‌پاشی این مقدار به پایین‌تر از بیشینه مانده مجاز این قارچ‌کش (یک میلی‌گرم بر کیلوگرم) رسید، هرچند که میانگین باقی‌مانده بوسکالید از همان روز اول پس از سم‌پاشی پایین‌تر از بیشینه مجاز این قارچ‌کش (سه میلی‌گرم بر کیلوگرم) بود. بنابراین، از روز دوم سم‌پاشی محصول قابل برداشت و مصرف می‌باشد (جدول ۶). در نمونه‌های شاهد باقی‌مانده قارچ‌کش‌های تحت آزمایش یافت نگردید.

جدول ٤- باقی‌مانده قارچ‌کش داگونیس (فلوکساپیروکساد + دیفنوکونازول) در گوجه‌فرنگی در روزهای یک تا پنج پس از محلول‌پاشی

Table 4- Residue levels of Dagonis (fluxapyroxad + difenoconazole) in tomato on days 1 to 5 after spraying

Samples نمونه‌ها	Dagonis® (1200 ml.ha^{-1}) داگونیس (۱۲۰۰ میلی‌لیتر/هکتار)									
	Fluxapyroxad (Codex MRL= 0.2 mg.kg^{-1}) فلوکساپیروکساد (حد مجاز کدکس ۰/۲ میلی‌گرم/کیلوگرم)					Difenoconazole (National MRL= 0.6 mg.kg^{-1}) دیفنکونازول (حد مجاز ملی ۰/٦ میلی‌گرم/کیلوگرم)				
	Concentrations (mg.kg^{-1}) غلظت (میلی‌گرم/کیلوگرم)			Mean میانگین	±SD	Concentrations (mg.kg^{-1}) غلظت (میلی‌گرم/کیلوگرم)			Mean میانگین	±SD
Day 1	1.0	1.25	1.44	1.23	0.18	0.04	0.03	0.05	0.04	0.008
Day 2	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Day 3	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Day 4	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Day 5	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Control	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

.Limit of Quantitation (LOQ), Not Detected (ND)

جدول ٥- باقی‌مانده قارچ‌کش آفیانس (تتراکونازول + آزوکسی استروبین) در گوجه‌فرنگی در روزهای یک تا پنج پس از محلول‌پاشی

Table 5- Residue levels of Affiance (tetraconazole + azoxystrobin) in tomatoes on days 1 to 5 after spraying

Samples نمونه‌ها	Affiance® (600 ml/ha^{-1}) آفیانس (٦۰۰ میلی‌لیتر/هکتار)	
	Tetraconazole (EU MRL= 0.1 mg.kg^{-1}) تتراکونازول (حد مجاز اروپا ۰/۱ میلی‌گرم/کیلوگرم)	Azoxystrobin (National MRL= 3 mg.kg^{-1}) آزوکسی‌استروبین (حد مجاز ملی ۳ میلی‌گرم/کیلوگرم)

	Concentrations (mg.kg^{-1}) غلظت (میلی‌گرم/کیلوگرم)			Mean میانگین	±SD	Concentrations (mg.kg^{-1}) غلظت (میلی‌گرم/کیلوگرم)			Mean میانگین	±SD
Day 1	0.14	0.18	0.16	0.16	0.016	1.55	1.36	1.78	1.56	0.17
Day 2	0.14	0.15	0.16	0.15	0.008	1.05	1.1	1.22	1.12	0.071
Day 3	0.08	0.09	0.13	0.1	0.021	1.01	0.9	1.21	1.04	0.128
Day 4	0.04	0.06	0.08	0.06	0.016	0.85	0.5	1.13	0.82	0.26
Day 5	0.04	0.02	0.06	0.04	0.016	0.07	0.08	0.088	0.08	0.007
Control	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

European Union Maximum Residue Limits (EU), no national MRL

جدول ٦- باقی‌مانده قارچ‌کش سیگنوم (بوسکالید + پیراکلواستروبین) در گوجه‌فرنگی در روزهای یک تا پنج پس از سم‌پاشی

Table 6- Residue levels of Signum (boscalid + pyraclostrobin) in tomatoes on days 1 to 5 after spraying

Samples نمونه‌ها	Signum® (500 gm.ha^{-1}) سیگنوم (۵۰۰ میلی‌لیتر/هکتار)									
	Boscalid (EU MRL= 3 mg.kg^{-1}) بوسکالید (حد مجاز اروپا ۳ میلی‌گرم/کیلوگرم)					Pyraclostrobin (National MRL= 1 mg.kg^{-1}) پیراکلواستروبین (حد مجاز ملی ۱ میلی‌گرم/کیلوگرم)				
	Concentrations (mg/kg^{-1}) غلظت (میلی‌گرم/کیلوگرم)			Mean میانگین	±SD	Concentrations (mg.kg^{-1}) غلظت (میلی‌گرم/کیلوگرم)			Mean میانگین	±SD
Day 1	1.02	0.75	1.03	0.93	0.129	2.1	1.6	1.7	1.8	0.216
Day 2	0.95	0.75	0.65	0.78	0.124	0.42	0.28	0.35	0.35	0.057
Day 3	0.8	0.75	0.6	0.7	0.084	0.3	0.28	0.33	0.30	0.02
Day 4	0.5	0.7	0.6	0.6	0.081	ND	ND	ND	ND	ND
Day 5	0.4	0.68	0.53	0.54	0.11	ND	ND	ND	ND	ND
Control	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

European Union Maximum Residue Limits (EU), no national MRL, Not Detected (ND).

بحث

هر چند که مدیریت بیماری لکه‌موجی گوجه‌فرنگی متکی به روش‌های پیش‌گیری در کاهش بیماری مؤثر است، ولی بدون استفاده به‌هنگام از برنامه‌های زمان‌بندی شده سم‌پاشی با قارچ‌کش‌های مؤثر، امکان مهار کامل این بیماری وجود ندارد. استفاده از قارچ‌کش‌هایی مانند آزوکسی استروبین، پیراکسی استروبین، ترکیبات مسی و بیکربنات پتاسیم هر ۱۰-۷ روز برای مهار بیماری لکه‌موجی توصیه شده است (Dillard *et al.*, 1995). اولسون و همکاران (Olson *et al.*, 20129) در سال ۲۰۱۲ و ملازینی (Mazzini, 2009) در سال ۲۰۰۹ قارچ‌کش کانسنتو® را در مهار بیماری لکه موجی گوجه‌فرنگی در شرایط مزرعه و گلخانه مؤثر دانسته و آن را توصیه نمودند.

برای مهار بیماری لکه‌موجی گوجه‌فرنگی اغلب از سموم شیمیایی مختلف استفاده می‌شود، و با توجه به شرایط محیطی کشت این محصول در گلخانه‌ها، ممکن است به‌دلیل وجود رطوبت بالا و دمای معتدل، وقوع بیماری و گسترش آلودگی به دفعات تکرار شود و ازاین‌رو نیاز به انجام سم‌پاشی‌های مکرر می‌باشد. شریفی و همکاران (Sharifi *et al.*, 2024) تأثیر دوزهای مختلف قارچ‌کش‌های داگونیس®، آفیانس® و سیگنوم را در مهار بیماری لکه‌موجی گوجه‌فرنگی مورد ارزیابی قرار دادند. بر این اساس، قارچ‌کش‌های داگونیس®، آفیانس® و سیگنوم® به‌ترتیب با دوزهای ۶۰۰ و ۱۲۰۰میلی‌لیتر و ۵۰۰ گرم در هکتار بیشترین تأثیر را در مهار شدت بیماری داشتند.

آنچه مسلم است اینکه مدیریت تلفیقی آفات و بیماری‌های گیاهی در کشاورزی پایدار، نقش اساسی در پیشگیری و مهار این عوامل دارد. به تبع کاربرد ترکیبی از قارچ‌کش‌ها به‌خصوص قارچ‌کش‌های با پایه مواد معدنی در کاهش و مهار بیماری مؤثر خواهد بود. در ضمن با توجه به تغییرات آب‌وهوایی در سال‌های اخیر که تأثیر مستقیم یا غیرمستقیم روی میزان حساسیت رقم، میزان آلودگی به بیماری، شدت بیماری‌زایی عامل بیماری و میزان کارآیی قارچ‌کش‌های رایج مورد استفاده داشته است، انجام آزمایش‌هایی با قارچ‌کش‌های جدید، برای در اختیار داشتن دامنه گسترده‌تری از قارچ‌کش‌های با تأثیر مورد قبول برای این بیماری لازم به نظر می‌رسد (Shojaei *et al.*, 2013).

قارچ‌کش داگونیس® متشکل از دو جزء قارچ‌کش فلوکساپیروکساد و دیفنوکونازول می‌باشد، هر دو جزء در نمونه‌های میوه گوجه‌فرنگی در روزهای اول تا پنجم پس از سم‌پاشی جمع‌آوری شده بودند، اندازه‌گیری شدند. با توجه به بیشینه مجاز قارچ‌کش فلوکساپیروکساد که معادل ۰/۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم می‌باشد، نمونه یک روز پس از سم‌پاشی بیش از حد مجاز باقی‌مانده داشت، اگر چه از روز دوم به بعد میزان باقی‌مانده این قارچ‌کش پایین‌تر از حد کمّی دستگاه بوده و عملاً کمتر از بیشینه مجاز باقی‌مانده این قارچ‌کش می‌باشد. این در

حالی است که قارچ‌کش دیفنوکونازول کـه دارای بیشـینه مجـاز ۰/۶ میلی‌گرم بر کیلـوگرم اسـت، از یـک روز بعـد از سم‌پاشـی بـا میـزان اندازه‌گیری شده ۰/۰۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم در نمونه‌ها یافت شده که کمتر از بیشینه مجاز بود. بنابراین داگونیس در مجموع از روز دوم پس از سم‌پاشی، میزان باقی‌مانده در حد مجاز را دارا می‌باشد. در مطالعاتی که توسط مرکز ثبت آفت‌کش‌ها در آلمان روی قـارچ‌کش داگـونیس® صورت گرفته است، دوره کارنس این قارچ‌کش روی گوجه‌فرنگی سه روز تعیین گشته است (Anonymous, 2019)، حال آنکه در مطالعات فعلـی از روز دوم بعـد از محلول‌پاشـی، میـانگین میـزان باقی‌مانـده داگونیس به حد مجاز رسیده است.

در نمونه‌های میوه گوجه‌فرنگی جمع‌آوری شده مربـوط بـه تیمـار آفیـــانس® هـــم باقی‌مانـــده دو جـــزء قـــارچ‌کش تتراکونـــازول و آزوکسی‌استروبین اندازه‌گیری شد. میزان باقی‌مانده تتراکونازول پس از گذشت سه روز از سم‌پاشی به‌مقدار برابر با بیشینه مجاز این قارچ‌کش (۰/۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم) رسید و سپس سیر کاهشی را تا روز پنجم نشان داد. قارچ‌کش آزوکسی‌اسـتروبین از روز اول پـس از سم‌پاشـی، میزانی پایین‌تر از بیشینه مجاز آن (سه میلی‌گـرم بـر کیلـوگرم) را دارا بود که این میزان قابل قبول می‌باشد. بنـابراین بـا توجـه بـه رسـیدن میزان باقی‌مانده تتراکونازول در روز سـوم پـس از سم‌پاشـی بـه حـد بیشینه مجاز آن در گوجه‌فرنگی قابل پیشنهاد است. در مطالعـاتی کـه توسط آژانس حفاظت محیط‌زیست آمریکا بـرای تعیـین دوره کـارنس آفیانس در محصولات مختلف انجـام شـده اسـت، دوره کـارنس ایـن قارچ‌کش روی گوجه‌فرنگی یک روز اعـلام شـده اسـت (USEPA, 2023). در مطالعات دیگر توسط مرجع سـلامت غـذا اتحادیـه اروپـا[1] (EFSA)، دوره کارنس تتراکونازول کـه جزئـی از قـارچ‌کش آفیـانس می‌باشد، در گوجه‌فرنگی سه روز ذکر شده است (EFSA, 2021) کـه نتایج آن با تحقیقات فعلی همسو می‌باشد.

باقی‌مانـده اجـزاء قـارچ‌کش سـیگنوم® کـه شـامل بوسـکالید و پیراکلواستروبین می‌باشد هم پس از اندازه‌گیری باقی‌مانده آن‌ها نشان داد که باقی‌مانده پیراکلواستروبین دو روز پس از سم‌پاشی، پـایین‌تر از بیشینه مجاز این قـارچ‌کش (یـک میلی‌گـرم بـر کیلـوگرم) می‌باشـد، هرچند که باقی‌مانده بوسکالید یک روز پـس از سم‌پاشـی، پـایین‌تر از بیشینه مجاز این قارچ‌کش (سه میلی‌گرم بر کیلوگرم) بود. بنـابراین، از روز دوم سم‌پاشی به بعد، محصول قابل برداشت و مصرف می‌باشد. در مطالعاتی که توسط کمیسیون ملی ارزیابی فرانسه جهت بررسـی دوره کارنس این قارچ‌کش انجام گرفت، نتایج حـاکی از دوره کـارنس سـه روزه می‌باشد (National Assessment France, 2020). در بررسی دیگر توسط محققان لهستانی که روی دوره کارنس شـش قـارچ‌کش استفاده شده روی گوجه‌فرنگی گلخانه‌ای انجام گرفـت، دوره کـارنس قـارچ‌کش سـیگنوم سـه روز بـرآورد گردیـد (Jankowska *et al.*, 2016). در مطالعات فعلی می‌توان نتیجه گرفت کـه دوره کـارنس دو روزه نیز برای این قارچ‌کش قابل قبول می‌باشد.

در تحقیقـاتی کـه توسـط هپسـاگ و کیزیلـدنیز در ترکیـه روی گوجه‌فرنگی انجام شد، ۱۴۵ آفت‌کش مورد بررسـی قـرار گرفـت کـه نتایج آن نشان داد که ۶۱/۵ درصد از نمونه‌ها دارای باقی‌مانده یک یا چند آفت‌کش هستند که ۱۲/۲ درصـد آن‌هـا بـالاتر از بیشـینه مانـده مجاز اتحادیه اروپا می‌باشد. بیشـترین آفت‌کش‌هـای شناسـایی شـده کلروپریفوس‌متیل، سیفلوترین، دلتامترین و استامی‌پرید بودنـد و کلیـه قارچ‌کش‌های شناسایی شده در حد مجاز بودند از جملـه تتراکونـازول، آزوکسی‌اســتروبی، بوســکالید و دیفنوکونــازول (Hepsag & Kizildeniz, 2021) . همچنین در مطالعاتی که توسـط سـلام‌زاده و همکـاران (Salamzadeh *et al.*, 2018) در ایـران صـورت گرفتـه است، ۸۵ نوع آفت‌کش در نمونه‌های گوجه‌فرنگی بررسی شـدند کـه صرفاً چهار آفت‌کش کلروپیریفوس، دیازینون، ایپرودیون و پرمترین در نمونه‌ها مشاهده شد که فقط دو آفت‌کش اول دارای باقی‌مانده بـیش از حد مجاز بود. از ۲۳ نمونه گوجه‌فرنگی و ۵۷ نمونه کاهو جمع‌آوری شده از منطقه شهری وابسته به پایتخـت شـیلی، بـیش از ۵۰ درصـد نمونه‌ها دارای مانده یک یا چند آفت‌کش بودند کـه ۱۶درصـد آن‌هـا بیش از حد مجـاز کشـور شـیلی بودنـد. در ایـن مطالعـات، بیشـترین آفت‌کش‌های مشاهده شده شامل متامیدوفوس، متومیل، دیفنکونازول، سیپرودینیل و بوسکالید بودند (Elgueta *et al.*, 2020). در تحقیقاتی که در عربستان‌سـعودی روی ۲۲ نمونـه گوجـه‌فرنگی انجـام گرفـت، باقی‌مانده ۴۱۲ آفت‌کش بررسی گردید (شامل قارچ‌کش‌های مطالعات فعلی نیز بودند) که ۳۶ درصد از این نمونه‌ها دارای باقی‌مانـده هشـت آفت‌کش بودند که تمامی آن‌ها پایین‌تر از حد مجـاز بودنـد. در میـان آفت‌کش‌های بررسی شده سـایپرمترین و کاربنـدازیم بیشـتر از دیگـر آفت‌کش‌ها مشاهده گردید (Abd-Elhaleem, 2020). در کلمبیا نیـز مطالعاتی روی گوجه‌فرنگی برای پایش ۲۴ آفت‌کش انجام گرفت کـه صرفاً یک نمونه دارای باقی‌مانده قارچ‌کش کاربندازیم بـود کـه مقـدار آن بیش از حد مجـاز بـود و حـداقل یـک آفـت‌کش در ۷۰/۵ درصـد نمونه‌ها مشاهده گردید که همگی پـایین‌تر از حـد مجـاز بودنـد. ایـن آفت‌کش‌ها شامل پیریمتانیل، کاربندازیم، دیمتومورف و اسفیت بودنـد و نتایج این بررسی نشانگر عدم وجود خطر برای مصرف‌کنندگان ایـن محصـول اسـت (Arias *et al.*, 2013). اگرچـه احمـد و همکـاران (Ahmed *et al.*, 2016) در مصر با بررسی ۱۶ نمونه گوجه‌فرنگی که از هشت میدان میوه و تره‌بار در پنج شهر جمع‌آوری شده بـود، تعـداد ۳۸ آفت‌کش را بررسی کردند که در ۱۳ نمونه آن، باقی‌مانده آفت‌کش وجود داشت که در هفت نمونه ایـن مقـدار بـیش از حـد مجـاز بـود. آفت‌کش‌های یافت شده در این نمونه‌ها شامل هپتاکلر–اپوکساید، دی دی ای، پروفنفوس، گاما– اچ سـی اچ و پیریمیفـوس متیـل بودنـد و

1- European Food Safety Authority

باقی‌مانده سایر آفت‌کش‌ها مانند پرمترین، فنولریت، دلتامترین، فن‌پزوپاتریت، تتراکونازول و دیفنوکونازول در حد مجاز بودند.

با توجه به نتایج به‌دست آمده، قارچ‌کش‌های آفیانس® با مقادیر ۶۰۰ میلی‌لیتر در هکتار با در نظر گرفتن کارآیی مناسب، داگونیس® با دوز ۱۲۰۰ میلی‌لیتر در هکتار و سیگنوم® به‌مقدار ۵۰۰ گرم در هکتار از کارآیی مناسبی در مهار بیماری لکه‌موجی گوجه‌فرنگی برخوردار هستند و میزان باقی‌مانده آن‌ها در زمان برداشت در حد مجاز می‌باشد، لذا با توجه به دوره کارنس تعیین شده، قابل توصیه در مدیریت این بیماری هستند.

سپاسگزاری

این پژوهش، قسمتی از طرح ثبت قارچ‌کش آفیانس به شماره مصوب ۹۹۱۳۱۴-۱۳۹-۱۶-۱۶-۰۴ مورخ ۱۴۰۱/۱۲/۲۱ در مؤسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور می‌باشد. هزینه آزمایشات توسط شرکت بازارگان کالا پرداخت گردیده است.

References

Abd-Elhaleem, Z.A. (2020). Pesticide residues in tomato and tomato products marketed in Majmaah province, KSA, and their impact on human health. *Environmental Science and Pollution Research*, Online Publication: 06 January 2020. 9 pp. https://doi.org/10.1007/s11356-019-07573-x

Ahmadinejad, M., & Doodabi, A. (1986). Early blight disease caused by *Alternaria solani* fungus. *Proceedings of the 9th Plant Protection Congress of Iran*, Faculty of Agriculture, Isfahan University of Technology, Iran. pp. 62. https://conference.areeo.ac.ir/article_11102.html. (In Persian).

Ahmed, M.H.I., Add El Rahman, T.A., & Khalid, N.S. (2016). Dietary intake of potential pesticide residues in tomato samples marketed in Egypt. *Research Journal of Environmental Toxicology. 10*: 213-219. https://doi.org/10.3923/rjet.2016.213.219

Anonymous, (2022). Agricultural statistics. Ministry of Agriculture Jihad, Iran. pp. 123. (In Persian).

Anonymous, (2022). FRAC Code List© (2022). www.frac.info/publications

Anonymous, (2019). Registration Report of Dagonis-Part A, National assessment, Federal Republic of Germany. https://ctgb-prd.s3.eu-central-1.amazonaws.com/88a3143bf577428e63994c18542c63ee_20140196_190503+15862+BESL.pdf.

Arias, L.A., Bojaca, C.R., Ahumada, D.A., & Schrevens E. (2014). Monitoring of pesticide in tomato marketed in Bogota, Colombia. *Food Control, 35*(1), 2013-217. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2013.06.046

Bai, Y., & Lindhout, P. (2007). Domestication and breeding of tomatoes: What have we gained and what can we gain in the future? *Annals of Botany*, *100*(5), 1085-1094. https://doi.org/10.1093/aob/mcm150

Baimani, M., Hayati, J., & Shetab Bushehri, M. (2002). Determination of the dominant species of causal agent of Early blight disease of tomato and investigation on the best culture medium for the growth of the pathogen. *Proceedings of the 15th Plant Protection Congress of Iran*. University of Razi, Kermanshah. Karaj, Iran. pp. 176. https://ippc.areeo.ac.ir/articles?vi=22. (In Persian)

British Standard (2008). Foods of plant origin — Determination of pesticide residues using GC-MS and/or LC-MS/MS following acetonitrile extraction/partitioning and clean-up by dispersive SPE— QuEChERS-method. BS EN 15662 (E). 81 pp.

Chaerani, R., Remmelt, G., Stem, P., Roseland, E., & Voorrips, R.E. (2007). Assessment of early blight (*Alternaria solani*) resistance in tomato using a droplet inoculation method. *Journal of General Plant Pathology*, *96*-103. https://doi.org/10.1007/s10327-006-0337-1

Dillard, H., Cole, D., Hedges, T., Turner, A., Utete, D., Mvere, B., Agubba, M., & Wilkinson, P. (1995). Early Blight of Tomatoes. *Zimbabwe Horticultural Crops Pest Management*. NYSAES, Geneva NY. 2 pp.

Elgueta, S., Valenzuela, M., Fuentes, M., Meza, P., Manzur, J.P., Liu, S., Zhao, G., & Correa, A. (2020). Pesticide residues and health risk assessment in tomatoes and lettuces from farms of Metropolitan region Chile. *Molecules*, *25*, 355. https://doi.org/10.3390/molecules25020355

EL-Tanany, M.M., Hafez, M.A., Ahmed, G.A., & Abd El-Mageed, M.H. (2018). Efficiency of biotic and abiotic inducers for controlling tomato early blight disease. *Middle East Journal of Agricultural Research*, *7*(2), 650-670.

Ershad, J. (1998). *Fungi of Iran*. Publications of the Iranian Research Institute of Plant Protection. 874 pp. https://press-iripp.areeo.ac.ir/book_1747.html. (In Persian).

Eslami, Z., Mahdavi, V., & 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

European Food Safety Authority (2021). Review of the existing maximum residue levels for tetraconazole according to Article 12 of Regulation (EC) No. 396/2005. https://doi.org/10.2903/j.efsa.2022.7111

Fishel, F.M., & Dewdney, M.M. (2012). Fungicide Resistance Action Committee's (FRAC) Classification Scheme of Fungicides According to Mode of Action. Pesticide Information Office, Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida. 7 pp. http://edis.ifas.ufl.edu

Foolad, M.R., Ntahimpera, N., Christ, B.J., & Lin, G.Y. (2000) Comparison of field, greenhouse, and detached-leaflet evaluations of tomato germ plasm for early blight resistance. *Plant Disease 84*(9), 967–972. https://doi.org/10.1094/PDIS.2000.84.9.967

Gentili, E., Tarlazzi, S., Balzaretti, G., Romagnoli, C., Marchi, A., Manaresi, M., & Coatti, M. (2006). Boscalid plus pyraclostrobin based formulations for the control of fungal diseases on pome and stone fruits, strawberries and vegetables [Piedmont; Emilia-Romagna; Veneto]. *Atti delle Giornate Fitopatologiche, 2*, 35-40**.** https://doi.org/10.5555/20073138512

Hansen. M.A. (2000). Early Blight of Tomatoes. Plant Disease Fact Sheets. Virginia cooperative extension. https://content.ces.ncsu.edu/early-blight-of-tomato. https://doi.org/10.13140/RG.2.2.33530.62400

Hepsag, F., & Kizildeniz, T. (2021). Pesticide residues and health risk appraisal of tomato cultivated in greenhouse from the Mediterranean region of Turkey. *Environmental Sciences and Pollution Research, 28,* 22551-22562. https://doi.org/10.1007/s11356-020-12232-7

Jaliani, N. (1991). Tomato Early blight disease and its chemical control in Jiroft and Kahnuj region. *Proceedings of 10th Plant Protection Congress of Iran*. Faculty of Agriculture, University of Kerman, Iran. 118. https://conference.areeo.ac.ir/article_2009.html**.** (In Persian).

Jankowska, M., Kaczynski, P., Hrynko, I., & Lozowicka, B. (2016). Dissipation of six fungicides in greenhouse-grown tomatoes with processing and health risk. *Environmental Science and Pollution Research, 23,* 11885-11900. https://doi.org/10.1007/s11356-016-6260-x

Macar, O., Kalefetoğlu Macar, T., Yalçın, E., & Çavuşoğlu, K. (2022). Acute multiple toxic effects of Trifloxystrobin fungicide on *Allium cepa* L. *Scientific Reports*, *12*(1), 1-9. https://doi.org/10.1038/s41598-022-19571-0

Mahdavi, V., Eslami, Z., Gordan, H., Ramezani, S., Peivasteh-Roudsari, L., Maʾmani, L., & 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, 206*. 44 pp. https://doi.org/10.1016/j.envres.2021.112563

Mahdavi, V., Heris, M.E.S., Dastranj, M., Eslami, Z., & 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

Mazzini, F. (2009). Consento Duo: A new fungicide mixture for horticulture against *Peronospora* and *Alternaria*. *Informatore Agrario Supplemento*, *65*(26), 14-15. https://www.sid.ir/paper/1053065/en

National Assessment France (2020). Signum Risk Management. Registration Report, Part A, BAS 51607F. France.

Olson, M., Dittmar, P.J., Vallad, G.E., Webb, S.E., Smith, S.A., McAvoy, E.J., Santos, B.M., Ozores, M., & Hampton, N. (2012). 344 pp. https://www.slideshare.net/slideshow/2012-vpg/14890643

Rosenzweig, N., Hanson, L.E., Mambetova, S., Jiang, Q.W., Guza, C., Stewart, J., & Somohano, P. (2019). Fungicide sensitivity monitoring of *Alternaria* spp. causing leaf spot of sugar beet (*Beta vulgaris*) in the Upper Great Lakes. *Plant Disease*, *103*(9), 2263-2270. https://doi.org/10.1094/PDIS-12-18-2282-RE

Salamzadeh, J., Shakoori, A., & Moradi, V. (2018). Occurrence of multiclass pesticide residues in tomato samples collected from different markets of Iran. *Journal of Environmental Health and Science and Engineering*, 55-63. https://doi.org/10.1007/s40201-018-0296-4

Saleem, A., & El-Shahir, A.A. (2022) Morphological and molecular characterization of some *Alternaria* species isolated from tomato fruits concerning mycotoxin production and polyketide synthase genes. *Plants*, *11*(9), 1168. https://doi.org/10.3390/plants11091168

Sharifi, K., Goudarzi, A., &Safaie Farahani, B. (2024). Efficacy of several new fungicides in control of tomato early blight disease. *Journal of Applied Research in Plant Protection, 13*(1), 59-71. magiran.com/p2720002. (In Persian)

Shojaei, B., Tekkieh, L.E., & Rasouli, A.S. (2013). The necessity of integrated pest management in agriculture and its role in agricultural sustainability. *First National Conference on Medicinal Plants and Sustainable Agriculture, Hamedan Province Hamedan*, Iran. pp. 1-19. (In Persian)

Stammler, G., Bohme, F., Philippi, J., Miessner, S., & Tegge, V. (2014) Pathogenicity of *Alternaria* species on potatoes and tomatoes. In Fourteenth Euro Blight Workshop PPO Special Report, 16, 85–96. https://www.researchgate.net/profile/Gerd-Stammler/publication/274379185_Pathogenicity_of_Alternaria-species_on_potatoes_and_tomatoes/links/551d2e7b0cf2000f8f9386c5/Pathogenicity-of-Alternaria-species-

on-potatoes-and-tomatoes.pdf.

United States Environmental Protection Agency (2023). Affiance Data Sheet. Office of chemical safety and pollution prevention. Washington, DC 20460.

نسخه پیش انتشار