گیاه‌پزشکی (مجله علمی کشاورزی)
جلد ٤٦، شماره ۲، تابستان ۱٤۰۲

doi 10.22055/ppr.2023.44220.1700

بررسی وضعیت باقیمانده ایمیداکلوپراید و تیامتوکسام درکاهو پس از ضدعفونی بذر

محسن مروتی[1*]، تبسم قطبی[2]، وحیده مهدوی[1] و عزیز شیخی گرجان[3]

۱- ***نویسنده مسوول:** دانشیار، بخش تحقیقات آفت‌کش‌ها، مؤسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، ولنجک، تهران، ایران (m_morowati@yahoo.com)

۲- مربی بخش تحقیقات ویروس‌شناسی، مؤسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، ولنجک، تهران، ایران

۳- دانشیار، بخش تحقیقات حشره‌شناسی کشاورزی، مؤسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، ولنجک، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۴/۱۴ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۷/۱۵

چکیده

بیماری ناشی از ویروس پژمردگی لکه‌ای گوجه‌فرنگی (Tomato spotted wilt virus, TSWV) در کاهوکاری‌های کشور شایع بوده و خسارت جدی به این محصول وارد می نماید. برای این منظور از فرمولاسیون تجاری مخصوص ضدعفونی بذر حشره‌کش‌های ایمیداکلوپراید و تیامتوکسام برای ضدعفونی بذر کاهو جهت کنترل ترییس ناقل این ویروس از حشره کش های ایمیداکلوپراید و تیامتوکسام به ترتیب با غلظت های ۲۱ و ۲۲/۸گرم در کیلوگرم بذر استفاده گردید. بذرهای تیمارشده ابتدا درسینی نشاء کشت شدند و یک ماه بعد به صورت نشاء درمزرعه کشت شدند در ۲۸ و ۴۹ روز بعد از انتقال نشاء به مزرعه تعداد ۵ نمونه بوته کاهو از هر تیمار برداشت کرده و به آزمایشگاه باقیمانده سموم منتقل گردید. جهت استخراج باقیمانده آفت‌کش‌های مذکور از نمونه های کاهواز روش کچرز استفاده گردید. سپس محلول استخراج شده جهت شناسایی و اندازه گیری آفت‌کش‌ها به دستگاه LC-MS/MS تزریق گردید. نتایج حاصل از بررسی باقیمانده تیامتوکسام و ایمیداکلوپراید روی محصول نهایی کاهو ۸ و ۱۱ هفته پس از کشت بذر ضدعفونی شده نشان داد که هیچ باقیمانده قابل ردیابی از ایمیداکلوپراید در کاهو در این دو زمان نمونه برداری مشاهده نشد و صرفا باقیمانده حشره‌کش تیامتوکسام با میزان ۰/۳۳ میلی گرم/ کیلوگرم پس از ۸ هفته و ۰/۲۸ میلی گرم/ کیلوگرم پس از ۱۱ هفته پس از کاشت بذر شناسایی و اندازه گیری گردید که با توجه به مرز بیشینه مانده مجاز تیامتوکسام (۳ میلی‌گرم/ کیلوگرم) میزان باقیمانده اندازه گیری شده پایین تر از این حد بوده و قابل قبول است.

کلیدواژه‌ها: باقیمانده آفت‌کش‌ها، توسپوویروس لکه پژمردگی گوجه فرنگی (TSWV)، کاهو، کروماتوگرافی مایع-طیف سنجی جرمی/طیف سنجی جرمی، مرز بیشینه مانده آفت‌کش ها

دبیر تخصصی: دکتر معصومه ضیائی

Citation: Morowati, M., Ghotbi, T., Mahdavi, V. & Sheikhi Garjan, A. (2023). Investigating the Residual Status of Imidacloprid and Thiamethoxam in Lettuce after Seed Treatment. *Plant Protection (Scientific Journal of Agriculture)*, *46*(2), 107-118. https://10.22055/ppr.2023.44220.1700.

مقدمه

سطح زیرکشت کل سبزی در سال زراعی ۹۹-۱۳۹۸ در ایران ۵۵۵۰۰۰ هکتار بوده و میزان تولید این محصولات ۲۱ میلیون تن می‌باشد (Agricultural Statistics, 2021). بنا به آخرین گزارش فائو در سال۲۰۲۱ سطح زیرکشت کاهو در دنیا تقریباً ۱۲۱۰۰۰۰ هکتار و میزان تولید آن ۲۲ میلیون تن بوده و سطح زیرکشت آن در کل کشور ۱۴۰۰۰ هکتار و میزان تولید کاهو در ایران، ۳۰۰۰۰۰ تن می‌باشد (FAO, 2021). کاهو با نام علمی (*Lactuca sativa* L.) از خانواده *Asteraceae*، گیاهی یکساله و روزبلند است، که سبزی فصل خنک بوده و به دو صورت مزرعه‌ای و گلخانه‌ای کشت می‌شود. این گیاه یک‌ساله یکی از پرمصرف‌ترین سبزی‌های برگی و کاملاً خودگشن بوده که از طریق بذر تکثیر می گردد. کاهو دارای مواد مغذی گیاهی با خواص ارتقا دهنده سلامتی و پیشگیری از بیماری می باشد. برگ‌های تازه کاهو یک منبع عالی از ویتامین‌های A، B، C، K ، بتاکاروتن‌ها و مواد معدنی مهم است با توجه به میزان بالای تقاضای بازار و قابلیت کشت کاهو در فصول خنک سال، کشت آن در استان‌های تهران، البرز، مازندران، گلستان، صورت می گیرد (Young Journalist Club, 2015). از جمله عوامل مهم و خسارت‌زا در تولید کاهو، ویروس ها می‌باشند. تاکنون ویروس‌های متعددی از گیاه کاهو در دنیا گزارش شده‌اند، که یکی از مهم‌ترین آن‌ها ویروس لکه پژمردگی گوجه فرنگی (TSWV)[1] می‌باشد (Koike et al., 2007; Yen-ven et al., 2014).

مطالعات متعددی روی باقیمانده ایمیداکلوپراید و تیامتوکسام در زمان برداشت روی کاهو انجام گرفته است که در برخی از آنان این مقدار بسیار پایین تر از مرز بیشینه مانده مجاز بوده و در برخی دیگر مواقع میزان باقیمانده آنها پایین تر از حد اندازه‌گیری (LOQ) دستگاه نیز بوده است (Pang et al., 2012; Itoiz et al., 2019). در تحقیقی توسط ژنگ و همکاران روی کاهو نشان داده شد که سولفور نقش خوبی در تجزیه به موقع ایمیداکلوپراید در این محصول دارد و شایان ذکر است استفاده از سولفور در کشت این محصول می‌تواند به آن در تجزیه و کاهش باقیمانده آفت‌کش‌های نئونیکوتینویدی و بخصوص ایمیداکلوپراید نقش داشته باشد (Zhang et al., 2021). در مطالعه‌ای پس از نمونه برداری کاهوهای تولید شده به صورت سنتی و ارگانیک از بازارهای روز شهر چاپکوی ایالت سانتا کاتارینای برزیل و آنالیز آنها برای ۱۹ آفت کش محققین به این نتیجه رسیدند که حشره کش ایمیداکلوپراید (SC 35%) در اکثر نمونه های کاشت سنتی غیرقابل شناسایی و اندازه‌گیری بوده و در برخی نمونه ها کمتر از مرز بیشینه مانده مجاز آن بوده و در نمونه های ارگانیک کلا یافت نشده است (Ripke et al., 2022). مطالعات مشابه دیگری در مرکز کشاورزی شمال مرکزی شیلی رو سبزیجات برگی انجام پذیرفت که در آن باقیمانده ۱۹ آفت کش مورد بررسی قرار گرفت. در این بررسی‌ها که روی کاهو، اسفناج و سبزی چارد سوییسی انجام گرفته بود باقیمانده حشره‌کش‌های ایمیداکلوپراید و تیامتوکسام در کلیه نمونه‌ها پایین‌تر از مرز بیشینه مانده مجاز این آفت‌کش‌ها بود و تنها باقیمانده آفت‌کش متامیدوفوس بیش از مرز بیشنه مانده مجاز بود که تغییر این آفت‌کش با آفت‌کش‌های کم خطر در دستور کار کشاورزان قرار گرفت (Elgueta et al., 2017). در بسیاری از مطالعات انجام شده دیگر روی کاهو آلودگی‌های متعددی دیده شده که یا بیشتر از مرز بیشینه مانده مجاز بوده یا کمتر از آن که خوشبختانه آفت‌کش‌های مورد مطالعه در این تحقیقات در اکثر آنها کمتر از حد مجاز بوده است (Basa et al., 2007; Esturk, 2014; Poulsen et al., 2017; Horska et al., 2020). در مطالعات دیگری باقیمانده آفت‌کش‌های آزوکسی استروبین و ایمیداکلوپراید روی کاهو پس از طی کردن دوره کارنس آنها نشانگر پایین تر بودن میزان باقیمانده آنها از مرز بیشنه مانده مجاز این دو آفت‌کش بود (Itoiz et al., 2012). در شهر لاپازا در بولیوی پایشی روی کاهوی موجود در بازار انجام پذیرفت که نتایج آن نشانگر آلودگی نیمی از آنها به یک یا چند آفت‌کش بوده که یک پنجم این آلودگی‌ها بیش از حد مجاز بوده است (Skovgaard et al., 2017).

[1]. Tomato spotted wilt virus

در ایران حشره‌کش‌های مختلفی مانند اسپینوساد، دیازینون، ایمیداکلوپراید، پروفنوفوس، تیاکلوپراید + دلتامترین، دلتامترین، دی‌کلروووس، سایپرمترین، فلونیکامید، مالاتیون، اسپیروتترامات، هپتنوفوس، که از گروه‌های مختلف می‌باشند برای کنترل تریپس سبزی و صیفی ثبت شده است (Sheikhi et al., 2017). گزارشات جدید نیز نشان می‌دهد که حشره‌کش‌های تیامتوکسام، ایمیداکلوپراید و سینان ترانیلی پرول روی تریپس موثر است (Marasigan et al., 2015).

با وجود روش‌های مختلف کنترل نظیر کنترل زراعی و بیولوژیک، همچنان در کشاورزی جدید کنترل آفات به استفاده از آفت‌کش‌ها وابسته شده است. استفاده از آفت‌کش‌ها بایستی مدبرانه صورت پذیرد بدلیل اینکه آفت‌کش‌ها نه تنها روی سطح محصولات باقی می‌ماند بلکه به داخـــل بافت میو ه‌ها، سبزی ها و حتی دانه‌های غلات نفوذ می‌کنند. هر چند که شستن میوه و یا پوست گرفتن آنها می‌تواند در کاهش آلودگی‌های سطحی آفت‌کش‌ها موثر باشد، ولی زدودن اثرات سمی آنها از بافت‌های درونی میوه تقریباً غیر ممکن است به طوری که اغلب محصولات کشاورزی که در معرض آفت‌کش‌ها قرار گرفته‌اند و مدت زمان کوتاهی بعد از سمپاشی به بازار مصرف ارائه می‌شوند، حاوی مقادیری از باقیمانده آفت‌کش‌ها می باشند. استفاده بیش از حد از آفت‌کش‌ها در تولید محصولات کشاورزی باعث بروز پدیده‌ای به نام باقیمانده‌ی سموم می‌گردد که این پدیده به عنوان یک عامل خطر برای سلامتی انسان و آلودگی محیط زیست مطرح می‌باشد. در نتیجه مصرف‌کنندگان به طور مستقیم غذایی را مصرف می‌کنند که دارای غلظت زیاد از انواع آفت‌کش‌ها می باشد (Jahed et al., 2011). بنابراین، تعداد زیادی از مردم در اثر مصرف مواد غذایی دارای باقیمانده آفت‌کش‌ها در معرض مسمومیت هستند. به نظر می‌رسد درصد زیادی از مواد غذایی بخصوص انواع سبزیجات و میوه‌جات به باقیمانده آفت‌کش‌ها آلوده باشند (Hodgson & Levi, 2010). وجود باقیمانده غیر مجاز آفت‌کش‌ها در انواع محصولات بخصوص کاهو که به‌صورت تازه‌خوری مصرف می‌شود، اهمیت ویژه‌ای دارد. پس از آگاهی از میزان باقیمانده این آفت‌کش‌ها و میزان خطر آنها در مقایسه با استانداردهای جهانی بایستی راهکارهای مناسب جهت کاهش باقیمانده خطرناک آفت‌کش‌ها ارائه گردد (Morowati & Nematollahi, 2014).

ایمیداکلوپراید اولین بار با نام تجاری کنفیدور در کشور به ثبت رسیده است. حشره کش سیستمیک با اثر تماسی، گوارشی از گروه نئونیکوتینوئیدها بوده که علیه بسیاری از آفات مهم نباتی به ویژه آفات مکنده بکار می رود. ایمیداکلوپراید در گیاه به صورت سیستمیک از ریشه جذب و هم به صورت آکروپتالی در گیاه منتشر می‌شود. این حشره کش چربی دوست است ولی تا حدی نیز در آب حل می‌شود (۶۱۰ میلی‌گرم/لیتر). خاصیت چربی دوستی به آن، این اجازه را می‌دهد که از قشر مومی سطح برگ عبور کند (خاصیت نفوذی) و خاصیت آبدوستی سبب می‌شود که در شیره گیاه به جریان بیفتد. تیامتوکسام نیز از گروه نئونیکوتینوئیدها یک حشره‌کش سیستمیک است که به سرعت توسط گیاهان جذب شده و به تمام قسمت های آنها از جمله گرده منتقل می شود و با تغذیه حشرات وارد سیستم گوارش آنها می‌شود (Pesticide Manual, 2021).

با توجه به مسائل ذکر شده، در این پژوهش استفاده از حشره‌کش‌های ایمیداکلوپراید و تیامتوکسام به صورت ضدعفونی بذر کاهو انجام شد، و میزان باقیمانده آنها روی محصول، ۸ و ۱۱ هفته پس از کشت بذر ضدعفونی شده بررسی شد. در ضمن با توجه به اینکه باقیمانده‌های مشاهده شده این دو آفت‌کش در برخی از نمونه ها کمتر از مرز بیشینه مانده آنها می‌باشد و در نتیجه نیازی به بررسی ارزیابی خطر برای سرطانزایی مطرح نمی‌گردد.

مواد و روش ها

مزرعه مورد آزمایش

این پژوهش در مزرعه کاهوی واقع در منطقه تنکمان استان البرز صورت گرفت. در این منطقه کشت در سه نوبت انجام می‌شود، با توجه به مشاهده بیشترین علائم آلودگی به ویروس TSWV در کشت آخر (مرداد و شهریور) آزمایش ضدعفونی بذر در آن مرحله انجام شد .

حشره‌کش‌های مورد استفاده در آزمایش

در این پژوهش از حشره‌کش‌های ایمیداکلوپراید (گائوچو WS70%) و تیامتوکسام (کروزر FS35%) برای ضدعفونی بذر کاهو سیاه سنتی رقم ام استفاده شد. با توجه به مطالعات اولیه، دو غلظت ۲۱ گرم در کیلوگرم بذر فرمولاسیون تجاری ایمیداکلوپراید و غلظت ۲۲/۸ گرم در کیلوگرم بذر فرمولاسیون تجاری تیامتوکسام (پیشنهادی شرکت تولید کننده) برای آزمایشات بررسی باقیمانده حشره‌کش‌ها استفاده گردید (Sheikhi et al., 2022). نمونه‌برداری از کاهو در ۸ و۱۱هفته بعد از کشت بذر ضدعفونی شده کاهو انجام گرفت و تعداد ۵ نمونه از هر تیمار به صورت تصادفی برداشته شده و به آزمایشگاه جهت بررسی باقیمانده آفت‌کش‌ها منتقل گردید.

مواد مورد استفاده در پژوهش

استانداردآفت‌کش‌های مورد مطالعه تهیه شده از آلمان (Dr. Ehrenstorfer and Sigma-Aldrich) مورد استفاده قرار گرفتند. محلول‌های مادری ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر در استونیتریل از آنها تهیه شده و در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند و محلول‌های کاری به صورت روزانه تهیه شده و مورد استفاده قرار گرفتند. فرمیک اسید (۹۸٪) و سدیم کلرید از سیگما آلدریچ (Steinheim, Germany) تهیه شدند. فیلتر سَرسُرنگی ۱۳-mm با سایز ۰/۴۵ میکرومتر از جنس PTFE (LabService Analytica, Bologna, Italy)برای فیلتر نمونه‌ها پیش از تزریق به دستگاه مورد استفاده قرار گرفت. استونیتریل مخصوص کروماتوگرافی خریداری شده از Scharlau (Barcelona, Spain) دراین تحقیق مورد استفاده قرار گرفتند. سایرجاذب‌های مورد نیاز برای استخراج به روش کچرز، شامل منیزیم سولفات بدون آب، سدیم استات و پلی آمین ثانویه (PSA) از شرکت Agilent آمریکا سفارش داده شدند. آب خالص مورد نیاز با استفاده از دستگاه آب خالص‌ساز با هدایت کمتر از ۰/۰۵ µs/cm بصورت تازه و روزانه تهیه می‌شد.

استخراج باقیمانده حشره‌کش‌های مورد استفاده درکاهو

استخراج باقیمانده حشره‌کش‌ها از نمونه‌های کاهو با استفاده از روش استخراج کچرز[1] در آزمایشگاه مرجع باقیمانده سموم بخش تحقیقات آفت‌کش‌های موسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور انجام پذیرفت. برای آماده سازی، نمونه‌های کاهو خرد و همگن شدند. ۱۵ گرم از نمونه همگن و خرد شده به عنوان آزمایه از نمونه آزمایشگاهی توزین شد. با افزودن ۱۵ میلی‌لیتر استونیتریل حاوی ۱٪ استیک اسید فرایند استخراج کلی انجام گردید. برای تکمیل فرایند استخراج از جاذب‌های منیزیم سولفات بدون آب، سدیم کلراید و سدیم استات استفاده شد. با سانتریفوژ، فاز آلی از بافت آبی جدا شد و همه فاز آلی بدست آمده از این مرحله برای مرحله تصفیه[2] استفاده گردید. برای تصفیه از جاذب‌های منیزیم سولفات به منظور حذف آب اضافی در محیط و PSA به منظور حذف مولکولهای درشت، اسیدهای آلی، پروتئین‌ها و سایر هم استخراج‌های[3] مزاحم استفاده شد که در نهایت پس از سانتریفوژ ۲ سی‌سی از فاز آلی حاصل پس از عبور از فیلتر سرسرنگی ۱۳-mm با سایز ۰/۴۵ میکرومتر از جنس PTTE برای تبخیر آماده گردید. آب خالص مورد نیاز با استفاده از دستگاه آب خالص‌ساز با هدایت کمتر از ۰/۰۵ µs/cm بصورت تازه و روزانه تهیه می‌شد. پس از آماده‌سازی نمونه‌ها به دستگاه تزریق شد. برای آنالیز نمونه‌ها از دستگاه LC-MS از کمپانی 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 mm ×۴/۶ و ۱/۸ µm) که در محفظه مجهز به ترموستات، در دمای ۲۵ °C ثابت تنظیم شده بود، استفاده شد. برای جداسازی از فازهای متحرک استونیتریل و آب ۰/۱ درصد فرمیک اسید استفاده شد که درصد فازهای آلی به طور خطی تغییر می‌کرد (ISIRI 2013، Lehotay et al., 2010).

1- QuEChERS
2- Clean up
3- Co-extrative

آنالیز حشره‌کش‌ها با دستگاه LC-MS/MS[1] شرایط شویش در HPLC[2]: تعیین نوع و درصد فاز متحرک

برای جداسازی از فازهای متحرک استونیتریل و آب حاوی ۰/۱٪ فرمیک اسید استفاده که شرایط شویش طبق جدول (۱) انجام شد:

کالیبره کردن دستگاه LC-MS/MS با استانداردهای آفت‌کش‌های مورد مطالعه

ابتدا با تزریق مستقیم محلول استاندارد (۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر) از هر یک از آفت‌کش‌ها به تنهایی به آشکارساز MS، ولتاژ قطعه قطعه شدن[3](F.V.) یون والد[4] و انرژی برخورد برای هر یک از یون‌های دختر[5] یا یون‌های تولیدی[6] هر یک از ترکیبات بهینه شد. به عبارتی در این مرحله بهترین شرایط برای تشخیص با حساسیت بالا برای هر یک از ترکیبات مشخص گردید که اطلاعات شرایط بهینه در جدول ۲ نشان داده شده است.

اعتبارسنجی روش

طبق استاندارد سانکو اعتبار سنجی در ۹ سطح غلظتی انجام گرفت که در حلال و ماتریس کاهو عبارت بودند از: ۰/۰۰۵، ۰/۰۱، ۰/۰۲۵، ۰/۰۵، ۰/۱ ، ۰/۲۵ ، ۰/۵ ، ۱/۰ و ۱/۵ میلی گرم/کیلوگرم، با مقایسه شیب منحنی کالیبراسیون در حلال و در ماتریس کاهو اثر ماتریس محاسبه و مشخص می شود (European Commission Directorate General For Health And Food Safety, 2019) (جدول ۳). اولین نقطه در LDR همان LOQ است که در جدول شماره ۳ نشان داده شده است. ارقام شایستگی قابل قبول که در جدول شماره ۳ نشان داده شده است و بازیابی در محدوده ۸۸ تا ۱۱۸ درصد با RSD کمتر از ۷ درصد که در جدول شماره ۴ نشان داده شده است، نشان از قابل قبول بودن روش آنالیز پیشنهادی می باشد (Eslami et al., 2021; Mahdavi et al., 2021a; Mahdavi et al., 2021b).

برای محاسبه اثر ماتریس، شیب خط منحنی کالیبراسیون در حلال از شیب خط منحنی کالیبراسیون در ماتریس کسر گردید و به شیب خط منحنی کالیبراسیون در حلال تقسیم شد. عدد بدست آمده اثر ماتریس کاهو را نشان می دهد. برای این محاسبه از فرمول زیر استفاده شد:

اثر ماتریس = (شیب منحنی کالیبراسیون در ماتریس- شیب منحنی کالیبراسیون در حلال)/ شیب منحنی کالیبراسیون در حلال

جدول ۱- شرایط شویش استفاده شده در HPLC جهت جداسازی و آنالیز آفت‌کش‌های مورد آزمایش

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

Time (min)	%mobile Phase	Flow	Max. Pressure
0.1	20	0.6	400
2	60	0.6	400
5	60	0.6	400
7	20	0.6	400
20	20	0.6	400

جدول ۲- شرایط بهینه برای بدست آوردن حداکثر حساسیت جرمی نسبت به آفتکشهای مورد آزمایش

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

Pesticides	Retention time)min(	Precursor ion (m/z)	Fragmentation voltage)V(	Qualitative ion (collision energy) (V)	Qualitative ion (collision energy) (V)
Imidacloprid	4.5	258	50	209 (20)	175 (15)
Thiamethoxam	4.3	293	105	181 (10)	132 (15)

1- Liquid Chromatography-Mass/Mass
2- High Performance Liquid Chromatography
3- Fragmentation Voltage
4- Precursor Ion
5- Daughter Ion
6- Product Ion

آزمون ریکاوری در دو سطح غلظتی مختلف برای بررسی میزان وابستگی ریکاوری به غلظت و اطمینان از حصول ریکاوری در محدوده مناسب انجام گرفت (Abd-Alrahman S., 2014; Musfiqur Rahman et al., 2015).

نتایج

نتایج مربوط به بررسی درصد آلودگی تریپس و آزمایشات مشخص کننده آلودگی در گزارش تحقیقاتی در موسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور ارائه گردیده است (Sheikhi et al., 2022). بررسی باقیمانده حشره‌کش‌ها در کاهو تیمار شده با حشره‌کش‌های مورد آزمایش نشان داد که در هیچ یک از نمونه های ارسالی، باقیمانده ایمیداکلوپراید در حد تشخیص کمی و کیفی آن توسط دستگاه LC-MS/MS نبوده و عملا عاری از باقیمانده است. اما در ۶۰ درصد از نمونه‌های برداشت شده پس از ۸ هفته و در ۴۰ درصد از نمونه‌های جمع‌آوری شده پس از ۱۱ هفته بعد از کشت بذر، باقیمانده حشره‌کش تیامتوکسام پس از ضدعفونی بذور به طور میانگین ۰/۳۳ و ۰/۲۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم به ترتیب باقیمانده داشته که میزان آن پایین تر از مرز بیشینه مانده مجاز ملی این حشره‌کش (۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم) می‌باشد (جدول۵). این نتایج حاکی از سلامت کاهوها پس از استفاده از دو حشره‌کش ایمیداکلوپراید و تیامتوکسام به صورت ضدعفونی بذر می‌باشد.

بحث

در سال ۲۰۱۳ با توجه به گزارشاتی که درباره اثرات سوء نئونیکوتینوئیدها روی زنبور عسل و زنبورهای وحشی وجود داشت مطالعه‌ای توسط اداره مسئول سلامت غذای اروپا انجام پذیرفت که اعلام نمود این گروه از آفت‌کش‌ها اثرات نامطلوبی روی زنبورها دارند. در همین سال اتحادیه اروپا برای دو سال مصرف این آفت‌کش‌ها را روی محصولاتی که زنبورها را جلب می‌کردند ممنوع اعلام کرد. در سال ۲۰۱۸ اداره مسئول سلامت غذای اروپا گزارشی مبنی بر خطرات جدی آفت‌کش‌های نئونیکوتینوئیدی روی زنبورها ارائه داد و کلیه کشورهای عضو اتحادیه اروپا مصرف سه آفت‌کش اصلی این گروه یعنی ایمیداکلوپرید، کلوتیانیدین و تیامتوکسام را بروی گیاهان در فضای باز را ممنوع اعلام کردند. با توجه به این مشکلات از این گروه از آفت‌کش‌ها برای ضدعفونی بذر برخی از محصولات کشاورزی از جمله کاهو استفاده می‌گردد تا به راحتی در محیط پخش و گسترش پیدا نکنند.

جدول ۳- ارزیابی عملکرد روش‌های استخراج و آنالیز از نظر محدوده دینامیکی خطی، حد تشخیص و حد کمی (میلیگرم/کیلوگرم) و اثر ماتریس

Table 3. Evaluation of the performance of sample treatment procedures in terms of calibration curve equation, LOD, LOQ (mg kg^{-1}), linear dynamic range and matrix effect

Analytes	Linear matrix-matched equation	Coefficient of determination (R^2)	Linear dynamic range	LOD mg/kg	LOQ mg/kg	Matrix effect %
Imidacloprid	y = 65642x + 4255.8	0.9932	0.005-1.5	0.0015	0.005	-23
Thiamethoxam	y = 19815x + 1354.1	0.9973	0.01-1.5	0.003	0.01	-12

جدول ٤- آزمایش‌های غنی سازی (بازیافت و تکرارپذیری) در سطح غنی‌سازی ۰/۱ و ۰/۵ میلی‌گرم /کیلوگرم

Table 4. Fortification experiments (recovery and repeatability) at 0.1 and 0.5 mg/kg fortification level

Analytes	Recovery % (0.1 mg kg^{-1})	RSD % n=3	Recovery % (0.5 mg kg^{-1})	RSD % n=3
Imidacloprid	99	3	117	7
Thiamethoxam	88	5	93	4

جدول ۵- باقیمانده آفت‌کش‌های ایمیداکلوپراید (گائوچو ۱۵ گرم/کیلوگرم بذر) و تیامتوکسام (کروزر ۸ گرم/کیلوگرم بذر) در کاهو در ۸ و ۱۱هفته بعد از کشت بذر ضدعفونی شده در مزرعه

Table 5. The residues of imidacloprid (Gaucho 15 g/kg seed) and thiamethoxam (Cruiser 8 g/kg seed) in lettuce at 8 and 11 weeks after cultivation of treated seeds in the field

Pesticides	MRL (mg/kg)	% Samples with pesticide residue	% Samples with pesticide residue higher than MRL	Pesticide residue range	Mean residue (mg/kg)	Normalized average residue/MRL
8 weeks after cultivation						
Imidacloprid	2 mg/kg (Codex)	0	0	ND	ND	ND
Thiamethoxam	3 mg/kg (National)	60	0	0.28-0.39	0.33	0.11
Control	--	0	0	ND	ND	ND
11 weeks after cultivation						
Imidacloprid	2 mg/kg (Codex)	0	0	ND	ND	ND
Thiamethoxam	3 mg/kg (National)	40	0	0.2-0.36	0.28	0.09
Control	--	0	0	ND	ND	ND

ND (Not Detectable) = غیر قابل تشخیص

Imidacloprid (Codex MRL), Thiamethoxam (National MRL)

در تحقیقات دیگری که پس از ضد عفونی بذر کلزا، ذرت و آفتابگردان با آفت‌کش‌های ایمیداکلوپراید، کلوتیانیدین و تیامتوکسام طی سه سال متوالی انجام پذیرفت محققین دریافتند که در سال اول ۱۶/۳۹درصد، در سال دوم ۶/۱۷ درصد و در سال سوم ۱۵/۴۳ درصد از نمونه‌های آزمایش شده دارای باقیمانده این سه آفت‌کش بودند که میزان اندازه‌گیری شده بیش از حد اندازه‌گیری (LOQ) و کمتر از مرز بیشینه مانده آفت‌کش‌ها بوده و عملا برای مصرف هیچگونه مشکلی ندارند، و اعلام کردند که جذب آفت‌کش‌های نئونیکوتینوئیدی در گیاهان به فاکتورهای آب و هوایی مخصوصا بارندگی بستگی مستقیم دارد و نتیجه گیری کردند که ضدعفونی کردن بذور توسط این آفت‌کش‌ها باعث کمترین میزان تجمع آنها در گیاهان بدلیل تجزیه شدن آنها تا پایان رشد محصول میگردد (Zaharia et al., 2023). در مروری درباره ضدعفونی بذور سبزی و صیفی‌جات توسط آف‌کش‌های نئونیکوتینویدی انجام گرفته یکی از بهترین راه‌های مبارزه که اثرات سوئی برای محیط‌زیست نداشته باشند را ضدعفونی بذور ذکر کرده است (Elbert & Nauen, 2004; Elbert, et al., 2008). در مطالعات مشابهی باقیمانده این دو آفت‌کش در زمان برداشت کاهو بسیار پایین تر از مرز بیشینه مانده مجاز بوده و در برخی دیگر مواقع میزان باقیمانده آنها پایین تر از حد اندازه‌گیری (LOQ) دستگاه نیز بوده است (Itoiz et al., 2012; Pang et al., 2019). مطالعه درخور توجهی توسط محققین روی کاهو نشانگر تاثیر خوب سولفور در تجزیه به موقع ایمیداکلوپراید در این محصول می باشد و شایان ذکر است استفاده از سولفور در کشت این محصول میتواند به آن در تجزیه و کاهش باقیمانده آفت‌کش‌های نئونیکوتینویدها و بخصوص ایمیداکلوپراید نقش داشته باشد (Zhang et al., 2021). در تحقیقی پس از نمونه برداری کاهوهای تولید شده به صورت سنتی و ارگانیک از بازارهای روز شهر چاپکوی ایالت سانتا کاتارینای برزیل و آنالیز آنها برای ۱۹ آفت‌کش محققین به این نتیجه رسیدند که حشره‌کش ایمیداکلوپراید (SC 35%) در اکثر نمونه های کاشت سنتی غیرقابل شناسایی و اندازه‌گیری بوده ودر برخی نمونه‌ها کمتر از مرز بیشینه مانده مجاز آن بوده و در نمونه‌های ارگانیک کلا یافت نشده است (Ripke et al., 2022). به نظر این محققین دلیل پایین بودن باقیمانده آفت‌کش‌های مورد مطالعه آنها پایش مداوم دستگاه های

زیربط و مسئول مانند شهرداری می باشد. مطالعات مشابه دیگری در مرکز کشاورزی شمال مرکزی شیلی رو سبزیجات برگی انجام پذیرفت که در آن باقیمانده ۱۹ آفت‌کش مورد بررسی قرار گرفت. در این بررسی‌ها که روی کاهو، اسفناج و سبزی چارد سوییسی انجام گرفته بود باقیمانده حشره‌کش‌های ایمیداکلوپراید و تیامتوکسام در کلیه نمونه ها پایین تر از مرز بیشینه مانده مجاز این آفت‌کش‌ها بود و تنها باقیمانده آفت‌کش متامیدوفوس بیش از مرز بیشنه مانده مجاز بود که تغییر این آفت‌کش با آفت‌کش های کم خطر در دستور کار کشاورزان قرار گرفت (Elgueta et al., 2017). در بسیاری از مطالعات انجام شده دیگر روی کاهو آلودگی های متعددی دیده شده که یا بیشتر از مرز بیشینه مانده مجاز بوده یا کمتر از آن که خوشبختانه آفت‌کش‌های مورد مطالعه در این تحقیق در اکثر آنها کمتر از حد مجاز بوده است (Basa et al., 2007; Esturk, 2014; Poulsen et al., 2017; Horska et al., 2020). در مطالعات دیگری توسط ایتویز و همکاران باقیمانده آفت‌کش‌های آزوکسی استروبین و ایمیداکلوپراید روی کاهو پس از طی کردن دوره کارنس آنها نشانگر پایین‌تر بودن میزان باقیمانده آنها از مرز بیشنه مانده مجاز این دو آفت‌کش بود (Itoiz et al,. 2012).

در شهر لاپازا در بولیوی پایشی روی کاهوی موجود در بازار انجام پذیرفت که نتایج آن نشانگر آلودگی نیمی از آنها به یک یا چند آفت‌کش بوده که یک پنجم این آلودگی‌ها بیش از حد مجاز بوده است (Skovgaard et al., 2017). بعد از ضدعفونی بذر یکی از نگرانی هایی که ممکن هست ایجاد گردد باقیمانده آفت‌کش‌های مصرفی در خاک می‌باشد که در مطالعاتی که انجام گرفته مشخص شد که باقیمانده تیامتوکسام بسیار پایین‌تر از ایمیداکلوپراید می‌باشد و میزان ایمیداکلوپراید موجود در خاک نیز پایین تر از حد مجاز آن می‌باشد (Jones et al., 2014). با توجه به بررسی تحقیقات متفاوت انجام پذیرفته در دنیا می‌توان این برداشت را داشت که آلودگی در کاهو به برخی آفت‌کش‌هایی که مستقیم روی محصول زده می‌شود در برخی موارد وجود دارد اما در اکثر نمونه ها باقیمانده دو آفت کش مورد بررسی در محصولات تحت آزمایش و خاک در حد مجاز می‌باشد. بنابراین برای جلوگیری از معضل باقیمانده سموم درکاهو به عنوان محصولی که تازه‌خوری دارد و میتواند در صورت آلوده بودن برای مصرف‌کننده بسیار خطرناک باشد می توان از روش ضدعفونی بذور طبق مطالعات فعلی استفاده نمود. در این مطالعات با توجه به اینکه مرز بیشینه مانده مجاز ملی برای ایمیداکلوپراید موجود نبود از کدکس (Codex Alimentarius, 2023) و برای تیامتوکسام از مرز بیشینه مانده مجاز ملی (Morowati et al., 2018) استفاده گردید.

نتیجه گیری

در بررسی حاضر، بررسی باقیمانده آفت‌کش‌ها در کاهوهایی که بذور آنها با حشره‌کش‌های ایمیداکلوپراید و تیامتوکسام تیمار شده بودند نشان داد که در همه نمونه‌های ارسالی پس از برداشت محصول، باقیمانده حشره‌کش ایمیداکلوپراید پایین تر از حد اندازه‌گیری (LOQ) دستگاه LC-MS/MS بود ولی حشره‌کش تیامتوکسام، پس از چهار هفته (۶۰٪ از نمونه ها) و هفت هفته (۴۰٪ از نمونه ها) بعد از ضدعفونی بذور به مقدار ۰/۳۳ و ۰/۲۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم به ترتیب باقیمانده داشت که پایین‌تر از بیشینه مجاز ملی این حشره کش (۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم) می‌باشد که دلیل آن می‌تواند دوز مصرفی، قابلیت تبخیر پایین، قطبی بودن بالا و میزان حلالیت در آب (۴/۱ گرم بر لیتر) تیامتوکسام باشد. بنابراین نتایج پژوهش حاضر نشان می‌دهد که حشره‌کش‌های مورد بررسی می‌تواند بدون نگرانی از باقیمانده آن در محصول نهایی برای ضدعفونی بذر کاهو با دوزهای مذکور استفاده گردد.

سپاس‌گزاری

از مدیریت محترم موسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور و بخش تحقیقات آفت‌کش‌ها، بخش تحقیقات ویروس‌شناسی و بخش تحقیقات حشره‌شناسی کشاورزی در فراهم آوردن امکانات لازم جهت انجام این پروژه تحقیقاتی کمال تشکر را دارد.

REFERENCES

Abd-Alrahman, S. H. (2014). Residue and dissipation kinetics of thiamethoxam in a vegetable-field ecosystem using QuEChERS methodology combined with HPLC-DAD. *Food Chemistry 159*, 1-4. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.02.124

Agricultural Statistics. (2021). *Farming Products*, Vol. 1, Ministry of Agriculture, Tehran, I. R. Iran (In Persian).

AlSaleh, M. A., AlShahwan, I. M., Amer, M. A., Shakeel, M. T., & Ahmad, M. H., *et al.* (2014). First Report of Tomato spotted wilt virus in Lettuce Crops in Saudi Arabia. *Plant Disease, 98* (11). 1,591. https://doi.org/10.1094/PDIS-05-14-0444-PDN.

Basa C. H., Gregorcic, S., Velikonja B. S., & Kmecl, V. (2007). Pesticide residues in agricultural produce of Slovene origin in the period from 2001-2005. *Acta Alimentaria*, Vol. *36*:2. https://doi.org/10.1556/aalim.36.2007.2.14.

Bautista, R. C., Ronald, F. L., Cho, J. J., & Custer, D. M. (1995). Potential of Tomato Spotted Wilt Tospovirus Plant Hosts in Hawaii as Virus Reservoirs for Transmission by *Frankliniella occidentalis* (Thysanoptera: Thripidae). *Phytopathology, 85*(9). https://www.apsnet.org/publications/phytopathology/backissues/Documents/1995Articles/Phyto85n09_953.pdf.

Chung, B. N., Pak, H., Jung, J., & Kim, J. (2006). Occurrence of Tomato spotted wilt virus in Chrysanthemum (Dendranthema grandiflorum) in Korea. *Plant pathology, 22*(3): 230-234. https://doi.org/10.5423/PPJ.2006.22.3.230.

Codex Alimentarius (2023). *Pesticides Database, MRLs*. https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/codex-texts/dbs/pestres/pesticides/en/.

Elbert, A., Haas, M., Springer, B., Thielert, W., & Nauen R. (2008). Applied aspects of neonicotinoid uses in crop protection. *Pest Management Science, 64*:1099-1105. https://doi.org/10.1002/ps.1616.

Elbert, A., & Nauen R. (2004). *New applications for neonicotinoid insecticides using imidacloprid as an example, in Insect Pest management, Field and Protected Crops*, ed. By Horowitz AR and Ishaaya I. Springer, Berlin-Heidelberg-New York, pp. 29-44.

Elgueta S., Moyano S., Sepulveda P, Quiroz C., & Correa A. (2017). Pesticide residues in leafy vegetables and human risk assessment in North Central agricultural areas of Chile. *Food Additives and Contamination: Part B., 10*(2): 105-112. http://dx.doi.org/10.1080/19393210.2017.1280540.

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 Pollution Research, 28*, 42037-42050. https://doi.org/10.1007/s11356-021-13542-0 .

Esturk, O. (2014). Pesticide residue analysis in parsley, lettuce and spinach by LC-MS/MS. *Journal of Food Science and Technology, 51*, 458–466. https://doi.org/10.1007/s13197-011-0531-9.

European Commission Directorate General For Health And Food Safety, (2019). *Analytical Quality Control and Method Validation for Pesticide Residues Analysis in Food and Feed* (SANTE/12682/2019). Sante/12682/2019 1–48.

FAO. (2021). Statistics at Food and Agriculture Organization of the United Nations. www.fao.org /statistic/en.

Gera, A., Kritzman, A., Cohen, J., Raccah, B., & Antignus, Y. (2000). Tospoviruses infecting vegetable crops in Israel. *EPPO Bulletin, 30* (2). 289–292. https://doi.org/10.1111/j.1365-2338. 2000.tb00897.x.

Hodgson, E., & Levi, P. (2010). *A textbook of modern toxicology*. 4th ed. Published by John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey.

Horska, T., Kocourek, F., Stará, J., Holý, K., & Mráz, P., *et al.* (2020). Evaluation of pesticide residue dynamics in lettuce, onion, leek, carrot and parsley. *Foods, 9*, 2–13. https://doi.org/10.3390/foods9050680.

ISIRI, ((2013). Institute of standard and industrial research of Iran Organization, No. 17026, Foods of plant origin— *Determination of pesticide residues using GC-MS and/or LC-MS/MS following acetonitrile extraction/partitioning and cleanup by dispersive SPE— QuEChERS-method*. https://standard.inso.gov.ir/.

Itoiz, E. S., Fantke, P., Jurask, R., Kounina, A., & Vallejo, A. A. (2012). Deposition and residues of azoxystrobin and imidacloprid on greenhouse lettuce with implications for human consumption. *Chemosphere, 89*, 1034-1041. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2012.05.066 .

Jahed, K. G., Fadaei, A., Sadeghi, M., & Mardani, G. (2011). Study of Oxydimeton methyl residues in cucumber and tomato grown in some of greenhouses of Chaharmahal and Bakhtiari province by HPLC method. *Journal of Shahrekord University of Medical Sciences, 13*(4): 9-17. (In Persian with English abstract). http://eprints.skums.ac.ir/id/eprint/3967.

Jones, A., Harrington, P., & Turnbull, G. (2014). Neonicotinoid concentrations in arable soils after seed treatment applications in preceding years. *Pest management Science, 70*(12), 1780-1784. https://doi.org/10.1002/ps.3836.

Kamberoglu, M. A., & Alan, A. (2011). Occurrence of Tomato Spotted Wilt Virus in Lettuce in Cukurova Region of Turkey. *International Journal of Agriculture and Biology, 13*(3), 431-434. https://doi.org/10–204/SPM/2011/13–3–431–434.

Koike, S. T., & Davis, R. (2016). *UC IPM: UC Management Guidelines for Tospoviruses on Lettuce. UC IPM Pest Management Guidelines:* Lettuce UC ANR Publication 3450. Agriculture and Natural Resources, University of California.

Koike, S. T., Gladders, P., & Paulus, A. O. (2007). *Vegetable diseases*: A color handbook. Manson publishing. Ltd. London.

Lehotay, S. J., Son, K. A., Kwon, H., & Koesukwiwat, U., Fu, W., Mastovska, K., Hoh, E. and Leepipatpiboon, N. (2010). Comparison of QuEChERS sample preparation methods for the analysis of pesticide residues in fruits and vegetables. *Journal of Chromatography A., 1217*, 2548-2560. https://doi.org/10.1016/j.chroma.2010.01.044

Mahdavi, V., Keikavousi, B. A., Moradi, F., & Aboul-Enein, H. Y. (2021a). Analysis of Alternative New Pesticide (Fluopyram, Flupyradifurone, and Indaziflam) Residues in Pistachio, Date, and Soil by Liquid Chromatography Triple Quadrupole Tandem Mass Spectrometry. *Soil Sediment Contamination, 30*(4), 373-383. https://doi.org/10.1080/15320383.2020.1854173.

Mahdavi, V., Eslami, Z., Golmohammadi, G., Tajdar-oranj, B., & Keikavousi, B. A. (2021b). Simultaneous determination of multiple pesticide residues in Iranian saffron: A probabilistic health risk assessment. *Journal of Food Composition and Analysis*, *100*, 103, 103915. https://doi.org/10.1016/j.jfca.2021.103915.

Marasigan, K., Toews, M., Kemerait, Jr. R., Abney, M. R., Culbreath, A., & Srinivasan, R. (2015). Evaluation of Alternatives to Carbamate and Organophosphate Insecticides Against Thrips and Tomato Spotted Wilt Virus in Peanut Production. *Journal of economic entomology*, *109*(2), 544-557. https://doi.org/10.1093/jee/tov336 .

Moreno, A., & Fereres, A. (2012). Virus Diseases in Lettuce in the Mediterranean Basin. *Advances in Virus Research, 84*:247-88. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-394314-9.00007-5 **.**

Morowati, M., Mahdavi, V., Heidari, A., Nourbakhsh, R., Faravardeh, L., & Heidari A. B. (2018). *Pesticides Residue in Agricultural Produces (Hazards, Regulations and Residue Limits).* Iranian Research Institute of Plant Protection Press. Tehran, Iran. 258pp.

Morowati, M., & Nematollahi, M. R. (2014). Investigation on the residue of four insecticides on greenhouse grown cucumber in Isfahan. *Applied Entomology and Phytopathology, 82*(1): 11-23. (In Persian). https://doi.org/10.22092/jaep.2014.100195.

Mushfiqur Rahman, Md., Farha W., Abd El-Aty A.M., Kabir M. H., Im S. J., Jung D. I., Choi J.H., & Kim S.W., et al. (2015). Dynamic behavior and residual pattern of thiamethoxam and its metabolite clothianidin in Swiss chard using liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Food Chemistry, 174*, 248-255. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.11.052

Oliver, J., & Whitfield, A. (2016). The genus Tospovirus. *Annual review of Virology, 3*: 101-124. https://doi.org/10.1146/annurev-virology-100114-055036.

Pang, N., Fan, X., Fantke, P., Zhao, S., & Hu, J., (2019). Dynamics and dietary risk assessment of thiamethoxam in wheat, lettuce and tomato using field experiments and computational simulation, *Environmental Pollution*, *256*:113285. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.113285.

Pappu, H., Jones, R., & Jain, R. (2009). Glob al status of *Tospovirus* epidemics in divers cropping systems: Successes achieved and challenges ahead. *Virus research, 141*: 219-236. https://doi.org/10.1016/j.virusres.2009.01.009 .

Pesticide Manual. (2021). Compiled and published by BCPC 19th Ed. October 2021, Pp 1400.

Poulsen, M. E., Anderson, J. H., Peterson A., & Jensen, H. B. (2017). Results from the monitoring programme for pesticide residues from the period 2004-2011. *Food Control, 74*, 25-33. https://doi.org/10.1080/0265203031000152433 .

Rejczak, T., & Tuzimski, T. (2015). A review of recent developments and trends in the QuEChERS sample preparation approach. *Open Chemistry, 13*:980-1010. https://doi.org/10.1515/chem-2015-0109.

Rielly, D. G., Joseph, S. V., Srinivasan, R., & Diffie, S. (2011). Thrips vectors of Tospoviruses. *Journal of integrated pest management, 2*: 11. 110. https://doi.org/10.1603/IPM10020.

Ripke M. O., Corralo V. D. S., & Lutinski J. A. (2022). Safety of foods sold in street fairs: analysis of pesticide residues in lettuce (Lactuna sativa L.). *Brazilian Journal of Environmental Sciences,* RBCIAMB, *v.57*, n.3, 467-476. https://doi.org/10.5327/Z2176-94781376.

Sheikhi, A., Morowati, M., & Ghotbi, T. (2022). *The effect seed treatments on the control of TSWV in lettuce.* Final Report of scientific research, Iranian Research Institute of Plant Protection, AREEO.

Sheikhi, A., Najafi, H., Abbasi, S., Saberfar, F., & Rashid, M., *et al.* (2017). *A Guide to Chemical and Organic Pesticides of Iran.* 1st edition, Vol. I. Rah Dan Publications. Iran.300 pp. (In Persian).

Skovgaard, M., Renjel, E. S., Jensen, O. C., Andersen, J. H., & Condarco, G., *et al.* (2017). Pesticide Residues in Commercial Lettuce, Onion, and Potato Samples from Bolivia—A Threat to Public Health? *Environ. Health Insights, 11*, 18–22. https://doi.org/10.1177/1178630217704194 .

Soleimani, P., Mosahebi, G. h., & Koohi, H. M. (2011). Identification of some viruses causing mosaic on lettuce and characterization of Lettuce mosaic virus from Tehran province in Iran. *African Journal of Agricultural Research, 6*(13). 3029-3025. https://doi.org/10.5897/AJAR11.114.

Yen-ven, k., Gilbertson, R. L., Turini, T., Brennan, E.B., & Smith, R. F., *et al.* (2014). Characterization and epidemiology of outbreaks of Impatiens necrotic spot virus on lettuce in Caostal California. *Plant disease, 98* (8). 1050-1059. https://doi.org/10.1094/PDIS-07-13-0681-RE .

Young Journalist Club. (2015). Lettuce cultivation in 700 acres of Amol city. Code. 5432434. http://edge-http.microsoft.com/captiveportal/generate_204.

Zaharia, R., Trotus, E., Trasca, G. Georgescu, E., Sapcaliu, A., Fatu, V., Petrisor, C., & Mincea, C. (2023). Impact of Seed Treatment with Imidacloprid, Clothianidin and Thiamethoxam on Soil, Plants, Bees and Hive Products. *Agriculture, 13*, 830. https://doi.org/10.3390/agriculture13040830.

Zhang, N., Huang, L., Zhang, Y., Liu, L., Sun, C., & Lin, X. (2021). Sulfur deficiency exacerbates phytotoxicity and residues of imidacloprid through suppression of thiol-dependent detoxification in lettuce seedlings. *Environmental Pollution, 291*, 118221. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.118221

© 2023 by the authors. Licensee SCU, Ahvaz, Iran. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution-Noncommercial 4.0 International (CC BY-NC 4.0 license) (http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/.

Plant Protection (Scientific Journal of Agriculture)
46(2), Summer, 2023

10.22055/ppr.2023.44220.1700

Investigating the Residual Status of Imidacloprid and Thiamethoxam in Lettuce after Seed Treatment

M. Morowati [1*], T. Ghotbi [2], V. Mahdavi [1], A. Sheikhi Garjan [3]

1. ***Corresponding Author:** Associate Professor, Pesticides Research Department. Iranian Research Institute of Plant Protection, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Velenjak, Tehran, Iran (m_morowati@yahoo.com)
2. Instructor, Agricultural Virology Department, Iranian Research Institute of Plant Protection, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Velenjak, Tehran, Iran
3. Associate Professor, Agricultural Entomology Department, Iranian Research Institute of Plant Protection, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Velenjak, Tehran, Iran

Received: 5 July 2023 Accepted: 7 October 2023

Abstract

Background and Objectives

The area under cultivation of lettuce in the country is 14,000 hectares, and the amount of lettuce production in Iran is 300,000 tons. Among the important damaging factors in lettuce production is the tomato spotted wilt virus (TSWV). With its wide host range, this virus is transmitted mechanically through infected plant sap by thrips. In Iran, various insecticides such as spinosad, diazinon, imidacloprid, profenofos, etc., which are from different groups, have been registered to control thrips. New reports show that other insecticides like thiamethoxam and imidacloprid are effective on thrips, too.

The use of pesticides should be performed very carefully due not only to the residue on the surface of the products but also its penetration into the tissue of fruits, vegetables, and even grains. Although washing the fruits or peeling them can be effective in reducing the surface contamination of pesticides, it is almost impossible to remove their residue from the internal tissues of the fruit. Excessive use of pesticides in the production of agricultural products causes pesticide residue, which is considered a risk factor for human health and the environment. High pesticide residues in all kinds of products, especially lettuce, which is consumed fresh, is of particular importance. Therefore, appropriate measures must be taken to reduce the risks of high residue levels of pesticides.

Materials and Methods

The insecticides imidacloprid and thiamethoxam were used to treat lettuce seeds to control the thrips, which is the vector of this virus. The first treatment consisted of seed treatment of lettuce with imidacloprid (Gaucho WS70%) with the concentrations of 10 and 15 g a.i./ kg seed and the second one with thiamethoxam (Cruiser FS35%) with the concentrations of 6 and 8 g a.i./ kg seed. No treatment was performed on control seeds. Treated Seeds were evaluated in terms of germination percentage and germination time in the early growth stages (10 days after planting). Later, seedlings obtained from seed treatment were transferred to the field and compared with the control in the viral infected plants for several times (a few weeks after planting in the field). Twenty transplants from each treatment were evaluated regarding thrips

infection and TSWV viral disease. Evaluation of virus-infected plants was performed based on the observation of symptoms and serological test. Ripened lettuce samples were collected from the treated plots after 8 and 11 weeks of the treatment and the residues of thiamethoxam and imidacloprid were measured. To extract the samples for the measurement of pesticide residues QuEChers extraction method was used. The extracted solution was injected into the LC-MS/MS to identify and measure the pesticides residue in the lettuce samples after eight and eleven weeks of cultivated treated seeds.

Results

The results show that thiamethoxam, with 84.5%, and imidacloprid, with 45% efficacy, can prevent infection with TSWV up to one month after transplantation. The results also show that the residue levels of imidacloprid observed in the lettuce samples at the two sampling periods were all below the limit of quantitation (LOQ) of the LC-MS/MS equipment used, and 0.33 mg/kg and 0.28 mg/kg of thiamethoxam were detectable after 8 and 11 weeks. The residue level of thiamethoxam observed could be due to the doses used, low evaporation rate, high polarity and solubility rate in water (4.1 gm/l) of this insecticide. According to the national Maximum Residue Levels (MRL) of thiamethoxam (3 mg/kg), the measured residue levels are lower than the MRL.

Discussion

Therefore, according to the results obtained, the insecticides used for the lettuce seed treatment to control the thrips with the doses mentioned above are safe for the consumers of the final product as the residue of these insecticides after treatment is well below the national MRLs. Also, the use of insecticides as seed treatment can reduce the possibility of contamination of lettuce seedlings with TSWV viral disease, as well as reduce the risk of viral contamination in the field. In seed treatment, observing the alternative use of insecticides from different groups can be effective in reducing the resistance of thrips. Determining the critical period in the lettuce field based on the incubation period of the virus in the plant can prevent indiscriminate spraying.

Keywords: ***Pesticide residues, TSWV viral disease, Lettuce, LC-MS/MS, MRL***

Associate editor: M. Ziaee (Ph.D.)

Citation: Morowati, M., Ghotbi, T., Mahdavi, V. & Sheikhi Garjan, A. (2023). Investigating the Residual Status of Imidacloprid and Thiamethoxam in Lettuce after Seed Treatment. *Plant Protection (Scientific Journal of Agriculture), 46*(2), 107-118. https://10.22055/ppr.2023.44220.1700.