

# 嘉磷塞除草劑殘毒的生物檢定法 (Bioassay)

農藝學系／王慶裕

## 一、前言

在雜草的防除工作上，除草劑的使用必須很小心，以免用量太多而污染環境。如何適當的施用，達到防除目標雜草，而不傷害非目標作物及污染環境，是極為重要的課題。除草劑施用於土壤中，可能部分經由微生物分解失去活性，而部分則仍具毒性存在於土壤溶液中。另一方面除草劑被植物體吸收之後，除了運送至目標位置(target site)作用，發揮其生物毒性以除草外，有部分會在植物體內因代謝作用分解或不活化，或轉變成不具毒性(解毒; detoxification)。因此，究竟土壤及植物體中之除草劑殘毒(residue)有多少，是值得我們關心與注意的。由於目前分析技術日益進步，在分析除草劑方面，化學分析配合HPLC(高效液相層析儀)分離技術及ELISA(酵素連結免疫分析法)，可以偵測出土壤溶液或植株殘留之除草劑含量。但此種分析法所測得之藥劑，並不一定具有植物毒性(phytotoxicity)，必須配合生物檢定法(bioassay)以確定真正具有活性的農藥殘毒量，供作施藥的重要參考。另一方面，也可以防止人們食物中有過量的殘毒，以確保健康。由於諸多除草劑中，嘉磷塞(glyphosate)為常見且廣泛使用之除草劑，故本文先行介紹此類除草劑之生物檢定法，爾後再陸續介紹其他除草劑之生物檢定法。

## 二、生物檢定法簡介

生物檢定乃是測定生物性材料對於化學藥劑之反應(response)，其目的可用於定性(qualitative)測定是否存在具有活性之化學藥劑，或是用於定量(quantitative)藥量。通常在進行定性生物檢定時必須有對照組及標準濃度樣品(standards)。而定量生物檢定時，

則須更加複雜的標準劑量配合。直至1980年前後，有關嘉磷塞除草劑之生物檢定法，雖然已有一些定性檢定，但定量檢定仍相當罕見(c.f Richardson, 1985)。嘉磷塞之生物檢定法，可以根據所使用生物材料的類型(如植物、微生物等)，或測定用的介量(如高度、長度、地上部或根部、重量等)，或者是根據生物材料生長所使用的培養基(如土壤、溶液等)區分出不同類型之生物檢定法。而其中以培養基及使用的植物材料為主要的檢定法區分標準。

## 三、分析固體介質中嘉磷塞殘量之生物檢定法

### A. 地上部生物檢定

研究者利用盆栽生物檢定技術，以小麥為材料偵測不同土壤類型中之嘉磷塞殘量，此外亦同時使用其他六種作物，包括大麥、燕麥、胡瓜、玉米、亞麻及大豆。這些作物種子播種在砂土盆鉢之後，其上方的砂土再混入不同比例的嘉磷塞。經播種16天後，紀錄種子發芽率，地上部鮮重、乾重及高度。結果發現，雖然玉米、大豆及亞麻對嘉磷塞最敏感，但小麥是反應最均勻一致的生物檢定材料(c.f Richardson, 1985)。

Kumer and Singh(1990)以玉米、水稻、小麥、大麥及燕麥為生物檢定材料，測試盆栽土壤中之除草劑殘毒活性。氏等以嘉磷塞(1kg/ha)防除盆鉢中之酢醬草及白花霍香薊後經過110天，再進行生物檢定分析土壤殘毒，結果發現含有殘毒之土壤對玉米、水稻或燕麥之種子發芽無明顯影響，然而小麥的

發芽率則從76.78%(對照組)降至48.84%，而大麥發芽率則由54.99%(對照組)降至37.22%，兩者均較對照組減少約35%的發芽率，顯然大麥與小麥的種子發芽過程對嘉磷塞殘毒較其他作物敏感，或許可以考慮作為生物檢定之材料。

另一方面，土壤中除草劑持續的毒性亦可利用小麥作為生物檢定材料加以分析，即將發芽後之小麥種子(胚根長約1-2mm)放在待測土壤上，在20-22°C，4天後，測苗高，以判斷土壤中之除草劑毒性。此外，也有研究者以小糠草(bentgrass)，紫花苜蓿(lucerne)及紅花苜蓿(red clover)為生物檢定用材料。以小糠草作為生物檢定材料，雖然對於嘉磷塞夠敏感，但其發芽方面變異較大，需較大量的種子用於檢定(c.f Richardson, 1985)。Nalewaja and Matysiak(1991)為了檢定不同鹽類對嘉磷塞生物毒性之影響，乃採用2.5葉齡大小之小麥栽培種Marshall為生物檢定材料，判斷出陽離子對於嘉磷塞之拮抗作用，依序為Fe、Zn、Ca、Mg、Na及K。此為小麥幼苗作為生物檢定材料之案例。

嘉磷塞施用於土壤之後，其存在的殘毒究竟能持續多久，以及其對後作物是否有影響，值得注意。Cornish(1992)在溫室進行之試驗發現土壤經嘉磷塞360g/L噴施後1、5或15天再植入番茄幼苗，則會出現嘉磷塞藥害。在移植後16天，植株乾重減少，但限於移植後營養不足的土壤。氏結論認為當移植番茄至砂質土壤時，移植前三週內不宜施用嘉磷塞，同時推薦農民可利用簡單的生物檢定法，以確保安全。此外，Manickam and Gnanamoorthy(1994)亦使用吉豆(黑豆, *Vigna mungo*)及綠豆(*Vigna radiata*)做為生物檢定材料，尤其發芽及生長反應，判斷嘉磷塞毒

性。

## B. 根部生物檢定

早期研究者亦利用植物根部做為生物檢定用材料。Hensley等人(c.f Richardson, 1985)，以穀粒高粱之雜交種RS610為材料，於種植前置於26°C下，24小時令其發芽，之後置於發芽皿中保持在黑暗中，26°C。每一處理至少重複四次。8小時後，標定初生根長度。種植後48小時再測定生長狀況，再以百分率表示根部生長受除草劑抑制的程度。根據Richardson(1985)整理相關的嘉磷塞生物檢定法，如下：

物種	培養基質	測定項目	半致死劑量
小麥	砂土	株高/ 地上部 鮮重及乾重	0.56kg/ha
小麥	土壤	株高	50 $\mu$ g/g(ppm)
穀粒高粱	砂土	根部生長	$1.0 \times 10^{-4}$
穀粒高粱	砂土	根部生長	$2.3 \times 10^{-4}$
穀粒高粱	土壤	根部生長	370 ppm

## 四、分析液體介質中嘉磷塞殘量之生物檢定法

研究者曾針對檢定灌溉水中之農藥殘毒濃度，而發展出生物檢定法。其方法係將紅花(safflower)或向日葵(sunflower)種子15-20粒，排置在吸水紙條邊緣3cm處，再讓紙條吸收燒杯中之嘉磷塞標準液或樣品液體。之後維持25°C，培養6-7天，再測定根部之生長。在中國大陸，研究者利用亞麻進行培養皿生物檢定(petri-dish bioassay)，可以偵測出0.01-10ppm濃度的嘉磷塞。同時以小麥、玉米及番茄為材料分析發現以亞麻之敏感度較高。此種檢定方式，值得注意的是在低劑量(0.01及0.1ppm)下，可能刺激生長。在高劑

量下，根部較地上部反應敏感，故宜以根長作為測定介量。根長測定過程宜在黑暗下，以免光照抑制根生長。隨著時間敏感度會降低。此種方法雖然簡單、有效且具再現性，整個過程僅需三天即可完成。然而，此法僅適用於0.25-5ppm濃度之間，且適用目的有限。

Hoagland(1977)使用培養皿生物檢定法，以確定glyphosate對於種子發芽及早期生長的效應，其將種子置於黑暗下，放在蒸餾水或 $10^{-3}$ mol/L嘉磷塞溶液中培養。經過24及48小時再測定發芽，以及在48小時後測量根及地上部長度。結果發現皺葉酸模(羊蹄：*Rumex crispus*)之發芽受到顯著抑制，而所有供試物種之地上部及根部長度均減少，從高粱79%至田菁(*Sesbania exaltata*)的18%。此外，Zemanek and Sterba(1979)調查營養液中1-1000mg/L嘉磷塞之藥效，結果發現其不影響白芥(*Sinapis alba*)及春大麥(*Hordeum vulgare*)之發芽，但強烈地抑制其根部生長。而在1-32mg/L濃度下，則大大地抑制胡瓜生長。Richardson(1985)綜合相關檢定液體介質中嘉磷塞的資料，整理成下表：

物種	介質	測定項目	半致死劑量範圍
紅花	蒸餾水或排放水	根生長	0.4~0.9 g/m <sup>3</sup>
向日葵	蒸餾水或排放水	根生長	2.4 g/m <sup>3</sup>
亞麻(flax)	蒸餾水	根長度	0.25-5ppm
高粱	蒸餾水	根及地上部長度	>1.0×10 <sup>-3</sup> M
玉米	蒸餾水	根及地上部長度	(1.0×10 <sup>-3</sup> M
大麥及白芥	營養液	根生長	1-1000mg/L
鵝觀草 ( <i>Agropyron repens</i> )	蒸餾水 地上部/根部生長	地上部鮮重	0.1-1.0 μ g a.i./40 μ L 10-100 ppm
大青萍草 ( <i>Lemna ployrrhiza</i> )	土壤/蒸餾水 萃取物	黃化程度	60ppm(w/v)
胖青萍草 ( <i>Lemna gibba</i> )	營養液	生長鮮重	>1.0×10 <sup>-3</sup> M

## 五、其他生物檢定法

有些適用在其他除草劑，如lureas、triazines之生物檢定法，可能也可利用在glyphosate。單細胞行光合作用之生物也常用作生物指標(bio-indicating)材料。例如利用單細胞綠藻*Euglena gracililis*為生物檢定材料，Frans and Talbert(1979)發現 $1.2-3 \times 10^{-3}$ M濃度下，會減少12-80%細胞數目及16-69%葉綠素。此外，亦可利用癒傷組織(callus)或細胞組織培養進行生物檢定。研究者指出嘉磷塞會抑制大豆及菸草之癒傷組織培養，以及抑制胡蘿蔔細胞生長。

Christopher and Bird(1992)亦以水生植物*Myriophyllum spicatum* L.之組織培養作為檢定嘉磷塞的材料，氏等記錄新腋芽、葉、根及分枝產生是否受到抑制，發現新分枝的產生對除草劑反應最敏感，此一生物檢定系統，可以快速敏感地測定除草劑抑制性植物之效果，約需5天即可完成。

## 六、結語

有關嘉磷塞之生物檢定法，在1990年之前，相關研究較少，且多用以偵測固體或液體介質中之殘留量，其中大抵以高粱、亞麻及青萍草根節之生物檢定法，較化學檢定法，在快速性、敏感性及再現性方面，具有潛力及便利性。目前雖然儀器與分析技術日益進步，但在考慮分析成本、便利性及研判真正具有毒性之藥量時，生物檢定法仍是不可或缺之方法。因此，未來如何針對各種除草劑殘毒之檢定，建立一套迅速、方便、敏感性與再現性高的生物檢定系統，以偵測作物、蔬果中之殘量，減少人類誤食農藥，或是偵測土壤、地下水之藥量，以免過量施用農藥，均是相當重要而亟需進行之工作。

## 七、致謝

本文感謝農藝四韓岳麒同學費心打字、謹此致謝。

## 八、參考文獻

Christopher, S. V., and K. T. Bird. 1992. The effects of herbicides on development of *Myriophyllum spicatum* L. cultured *in vitro*. J. Environ. Qual. Madison, Wis.:Am. Soc. Agronomy. 21:203-207.

Cornish, P. S. 1992. Glyphosate residues in a sandy soil affect tomato transplants. Aust. J. Exp. Agric. 32:395-399.

Kumer, S., and C. M. Singh. 1990. Studies on estimation of herbicide residues through bioassay using different cereal crops. Indian J. Weed Sci. 22:1-2,92-97.

Manickam, G., and P. Gnanamoorthy. 1994. Control of nutgrass (*Cyperus rotundus*) with herbicides. Indian J. Agron. 39:514-515.

Nalewaja, J. D. and R. Matysiak. 1991. Salt antagonism of glyphosate. Weed Sci. 39:622-628.

Richardson, W. G. 1985. Bioassays for glyphosate. Chap.18. In. "The Herbicide Glyphosate" (E. Grossbard and D. Atkinson. eds). Butterworths. London; Boston.