

國立中興大學生命科學院碩士在職專班

碩士學位論文

台灣常用除草劑對青萍之毒性影響

Toxic effects of common herbicides on duckweed
(*Lemna aequinoctialis* Welwitsch) in Taiwan

National Chung Hsing University

指導教授：林正宏博士 Jenq-Horng Lin

研究生：蔡本均 Pen-Chun Tsai

中華民國一〇七年七月

July, 2018

國立中興大學生命科學院碩士在職專班

碩士學位論文

題目：台灣常用除草劑對青萍之毒性影響

姓名：蔡本均 學號：5098052016

經口試通過特此證明

論文指導教授 林正宏

論文考試委員 古森本

鄧資新

中華民國 107 年 7 月 18 日

摘要

本論文以十七種台灣常用除草劑為材料，包括有甲基合氯氟、快伏草、拉草、丁基拉草、莫多草、草殺淨、草脫淨、草滅淨、2,4地、氟氯比、百速隆、固殺草、嘉磷塞、本達龍、理有龍、施得圃等，針對本土水生維管植物青萍 (*Lemna aequinoctials*) 進行毒性試驗，探討在水域環境中對非目標水生植物的風險評估。台灣地區缺乏水田除草劑對環境的生態毒理資料，現今藻類是最常用於評估生態毒性的生物指標，由於暴露時間及不同物種敏感度之差異，無法完全代表高等水生維管植物所受之影響。除此之外，青萍體積小，構造簡單，僅具有葉狀體和根，且生長速度快，倍增之時間約 2~3 天，由於容易培育及對毒性敏感，證明青萍可用於污染物對環境的生態風險評估。本試驗以青萍生長抑制的程度(4 天及 7 天之曝露時間)來評估除草劑之毒性；結果顯示，百速隆對青萍毒性最強，草殺淨次之，氟氯比、甲基合氯氟、快伏草對青萍具低毒性，及 2,4 地、嘉磷塞對青萍具輕毒性，在推薦使用量下，對水生生物是安全的；其餘各原體除草劑對青萍均具劇毒性或中等毒性，即使在水域環境中可能存在濃度 (Estimated environmental concentration, EEC) 之推薦用量下，對水生生物是有潛在風險。參考美國環境保護署 (Environmental protection agency, EPA) 以危險商數 (Risk quotient, RQ) 計算出各劑型濃度在推薦用量下，其中只有嘉磷塞的 RQ 值 < 1，其餘各除草劑對水生無脊椎生物的 RQ 值均很高，此結果與除草劑對青萍之毒性程度有一致性。

關鍵字：除草劑、浮萍科植物、青萍、生長抑制、毒性試驗、
風險評估

Abstract

This study is a toxicity experiment conducted on *Lemna aequinoctialis*, a native aquatic vascular plant, using 17 commonly used herbicides in Taiwan to assess the risks they present to non-target aquatic plants in the aquatic environment. These herbicides include Haloxyfop, Quizalofop, Alachlor, Butachlor, Metolachlor, Ametryn, Atrazine, Simazine, 2,4-D, Fluroxypyr, Pyrazosulfuron-ethyl, Glufosinate, Glyphosate, Bentazone, Liuron, Diuron and Pendimethalin. The ecological and toxicological data of the environmental impact of herbicides used in flooded farm fields are lacking in Taiwan. Currently, algae are the most commonly used biological indicators for assessing eco-toxicity. However, they cannot represent at all the impact on aquatic vascular plants due to differences in exposure time and species-specific sensitivity. In addition, *Lemna aequinoctialis* is small and simple in structure with only leaves and roots, and it grows rapidly, doubling in quantity in about 2-3 days. Its ease in cultivation and sensitivity to toxicity makes it suitable for assessing the ecological risks of contaminants in the environment. This experiment assesses the toxicity of herbicides based on how much they suppress the growth of *Lemna aequinoctialis* (exposure time of 4 days and 7 days). The findings show that Pyrazosulfuron-ethyl presents the highest toxicity to the species with Ametryn coming in second. Fluroxypyr, Haloxyfop and Quizalofop have low toxicity, and 2,4-D and Glyphosate have mild toxicity; these herbicides are considered safe to aquatic organisms at the recommended dosage. All the other herbicides have severe or moderate toxicity based on the estimated environmental concentration (EEC), presenting potential hazard to aquatic organisms even at the recommended dosage. Referencing the Risk Quotient (RQ) of the US Environmental Protection Agency (EPA) to calculate the concentration of each herbicide at the recommended dosage, we find Glyphosate to be the only one with $RQ < 1$. All the others have very high RQ values on aquatic invertebrates. This finding is consistent with the toxicity level of the herbicides on *Lemna aequinoctialis*.

Keyword: Herbicide, *Lemna*, *Lemna aequinoctialis*, growth suppression, toxicity test, risk assessment.

誌謝

本篇論文的完成承蒙許多人的『一句話』，讓我曾經想要放棄之時卻又見到一絲曙光。不論是支持、鼓勵、關心等，都是我最好的精神糧食，才能順利完成不可能的任務。

首先，感謝我的指導老師林正宏教授，在論文撰寫期間不辭辛勞給予耐心引導，以及不斷地督促著我往前邁進，讓我從中學習到做研究的精神所在；在論文口試中，感謝嘉義大學古森本教授對於論文的提問張力、深度及遠見，並建議及教導正確方向，古教授對研究是給予生命力及穩健踏實的態度，讓我感到敬佩與感動；感謝本校農藝系鄧資新教授對本篇論文的不吝指教與斧正，並給予鼓勵及肯定，令我獲益匪淺；由衷感謝三位教授的加持，才使本篇論文之層次感與價值感再度提升。

身為職業媽媽的我在論文撰寫期間，所付出的每一分每一秒都是極其珍貴的，每當完成一個任務時都已身心俱疲，但讓我受益匪淺，此時學習過程是值得回憶、值得感動；感謝何信賢同學在我未決定復學期間，總是不斷關心我的近況，不斷地勉勵我一定要完成學業，不管遇到任何困難都要設法克服，多一點勇氣多一點冒險的精神，勇往直前就能撥雲見日，在我口試當天也義不容辭的友情相挺，這份友誼真的是難能可貴。感謝我身邊的朋友送我的金玉良言，使我更有信心地放手一搏，去面對每一個困難；感謝院辦郭雅菱小姐，在行政程序上給予細心叮嚀及提供良好建議，使心急如焚的我能感受到她的溫暖。

感謝我的家人默默的關心、支持與鼓勵，讓我在遇到壓力及困難時能坦然面對，有始有終。在蛹裡沈睡已久的我，可以破蛹而出，但破蛹成蝶的過程是在痛苦中掙扎，直至雙翅強壯，方可破蛹高飛；我的蛻變使我更能坦然面對眼前的黑暗，鍥而不捨，邁向成功之路。

謹將此篇論文獻給自己與所有關心我、我最愛的家人與朋友們！

蔡本均 謹誌 於 中興大學生科院碩專班
民國一〇七年七月

目次

摘要.....	i
Abstract.....	ii
誌謝.....	iii
圖表目次.....	vii
壹、緒言.....	1
一、研究背景.....	1
二、研究動機.....	2
三、研究架構.....	5
四、擬解決的問題.....	6
貳、文獻探討.....	7
一、浮萍在研究相關的重要應用.....	7
(一) 浮萍的種類與習性.....	7
(二) 浮萍在毒性研究上的貢獻.....	8
(三) 浮萍的毒性標準化試驗.....	12
二、除草劑在台灣農業上所扮演的角色.....	13
(一) 除草劑的分類.....	13
(二) 非選擇性除草劑在台灣市場的重要地位.....	13
(三) 除草劑之作用原理及重要特性.....	15
三、除草劑對水生植物之毒性風險評估.....	16
參、材料與方法.....	18
一、建立本土浮萍科植物培育方法.....	18
(一) 受試植物.....	18
(二) 培養液種類.....	19
(三) 受試設備及器材.....	19
(四) 化學藥品種類.....	19
(五) 試驗條件.....	20
(六) 試驗方法.....	20

(七) 數據處理及毒性評估	24
(八) 品質管制	24
二、建立本土青萍毒性試驗方法	25
(一) 受試植物	25
(二) 培養液種類	25
(三) 受試設備及器材	25
(四) 受試藥劑種類	26
(五) 受試條件	27
(六) 毒性試驗方法	27
(七) 數據分析及毒性評估	28
(八) 癥狀觀察記錄	30
(九) 品質管制	30
肆、結果	31
一、浮萍科植物增生的方式	31
二、培養液之篩選	32
三、受試浮萍之篩選	33
四、培養液稀釋濃度之篩選	34
五、十七種除草劑在國內水域環境中推薦之使用量	39
六、原體除草劑對青萍之毒性試驗	40
七、成品除草劑對青萍之毒性試驗	48
八、除草劑的原體及成品對青萍 EC ₅₀ 值之比較	51
九、成品除草劑在水域環境中可能存在的濃度與原體除草劑對青萍抑制率(%)的 濃度之比較	52
十、七種除草劑對本土青萍 (<i>Lemna aequinoctialis</i>) 與國外常用水生生物之毒性 試驗結果比較	54
十一、十七種常用除草劑水域中推薦用量對青萍的風險評估及危險商數	56
伍、討論	60
陸、結論	63
柒、參考文獻	65
附錄 1. 台灣 8 大除草劑銷售金額及數量(2015-2016)	72

附錄 2. 台灣 8 大除草劑銷售市場佔有率(2016).....	73
附錄 3. ½ strength Hoagland- E 培養液之組成.....	74
附錄 4. 20X AAP 培養液之組成	75
附錄 5. 十七種除草劑的化學分類及作用機制.....	76
附錄 6. 台灣常用十七種除草劑在農業作物之推薦使用量之情形.....	77



圖表目次

表 1. 台灣常見浮萍科植物特徵	18
表 2. 青萍 (<i>Lemna aequinoctialis</i> Welwitsch) 生長試驗條件	20
表 3. 青萍在五種不同濃度培養液下，生長速度及外觀表現之情形	37
表 4. 青萍 (<i>Lemna aequinoctialis</i>)對十七種原體除草劑之劑量-反應曲線及 EC ₅₀ 值	41
表 5. 青萍 (<i>Lemna aequinoctialis</i>) 受十一種原體除草劑 EC ₅₀ 劑量之危害癥狀	44
表 6. 青萍 (<i>Lemna aequinoctialis</i>) 對三種成品除草劑之劑量-反應曲線及 EC ₅₀ 值	48
表 7. 青萍 (<i>Lemna aequinoctialis</i>) 受三種成品除草劑 EC ₅₀ 劑量之危害癥狀	49
表 8. 原體與成品除草劑對青萍 EC ₅₀ 值之比較	51
表 9. 成品除草劑在水域環境中可能存在的濃度與原體除草劑對青萍抑制率(%)的濃度 之比較	52
表 10. 本土青萍 (<i>L. aequinoctialis</i>) 與國外常用水生生物之除草劑毒性試驗結果比較 ..	55
表 11. 十七種常用除草劑水域中推薦用量對青萍的風險評估	56
表 12. 十七種常用除草劑水域中推薦用量對青萍的危險商數	58
國立中興大學 National Chung Hsing University	
圖 1. 農藥在環境中的行徑	2
圖 2. 浮萍物種分類	3
圖 3. 研究架構	5
圖 4. 青萍 (<i>Lemna aequinoctialis</i>) 在生長增殖的情形	31
圖 5. 青萍在二種不同培養液，Hoagland 和 AAP 之生長情形	32
圖 6. 青萍在兩種不同培養液，Hoagland(右)和 AAP(左)七天後的生長情形	33
圖 7. 三種浮萍在 Hoagland 培養液之生長情形及倍增時間(T ₂)	34
圖 8. 稀釋為 5 種不同濃度的 Hoagland 培養液，觀察不同培養液濃度對青萍葉狀體 生長的情形	35
圖 9. 五種不同濃度 Hoagland 培養液下青萍的生長曲線	36
圖 10. 青萍 (<i>Lemna aequinoctialis</i>) 對十七種原體除草劑之 EC ₅₀ 值之比較	43
圖 11. 青萍 (<i>Lemna aequinoctialis</i>) 受十一種原體除草劑危害之癥狀	47
圖 12. 青萍 (<i>Lemna aequinoctialis</i>) 受三種成品除草劑危害之癥狀	50
圖 13. 十七種常用除草劑在水域環境中可能存在的濃度對青萍之風險評估	57
圖 14. 十七種常用除草劑水域中推薦用量對青萍的危險商數 (risk quotient, RQ)	59

壹、緒言

一、研究背景

臺灣地處熱帶及亞熱帶，平地至高山多變的地形，糧食的生產一直考驗住民的智慧。自二十世紀初期開始使用農藥以來，至今人們已沒有因作物減產而造成壓力，在享受高品質及多樣化農產品之餘，已對農藥的使用不知不覺中產生了很大的依賴。

化學農藥在臺灣已被應用 60 多年，因依賴化學農藥以防治重要病蟲害及控制雜草，致使大量的農藥進入環境中，破壞了生態平衡，直接或間接的危害到人類的環境與健康。臺灣氣候高溫多濕，作物耕種密集，連作問題嚴重，施用農藥頻密，同時在不斷地選汰藥劑壓力下，產生抗藥性品種，最初是發現於殺蟲劑中，之後對殺菌劑和除草劑抗藥品種，也都相繼出現。

採用化學性除草是臺灣近代農業生產上之重要特色，除草劑的使用大幅降低作物栽培過程中之人力需求及生產成本。根據方麗萍(2017)的調查顯示，在 2016 年固殺草為農藥銷售市場之冠(附錄 1, page 72)，主要非選擇性除草劑包括固殺草、嘉磷塞及巴拉刈，乃全台銷售前三名，三者合計佔總金額 21%。除草劑銷售金額為 26 億，佔農藥總市場 33%，其中 68% 為非選擇性除草劑；固殺草、嘉磷塞及巴拉刈分別為 33%、17% 及 11% (附錄 2, page 73)。丁基拉草其混合劑用於水稻，施得圃及伏普用於旱田上。比較 2016 與 2015 年，除草劑成長了 10%，而相對殺菌劑及殺蟲劑分別減少 5% 及 4%。

二、研究動機

為達到合理使用農藥的目的，農藥的使用人或管理人必須瞭解農藥在環境中的轉變，以及農藥對非目標生物的影響，以防止農藥對生態環境的衝擊。

除草劑施用後釋放到環境中，進入河流、湖泊和池塘污染源，部分被植物吸收或淋溶到根分布的區域，達到控制雜草的效果，但部分則轉移到非目標區，不但造成藥劑浪費，雜草防治率降低，還可能危害非目標區生物及污染土壤與地下水。圖 1 為農藥在環境中的動態分佈，除了植物的吸收外，還包括蒸發、飄散、沈降、淋洗、溢流、滲濾、吸附、及攝食而分別進入空氣、土壤、河川及生物體中，此即農藥之環境流佈；此後進入環境中之農藥可因光分解、土壤之生物與化學分解、水解、作物代謝等作用而降解，即為農藥之環境宿命(林浩潭，1999)。

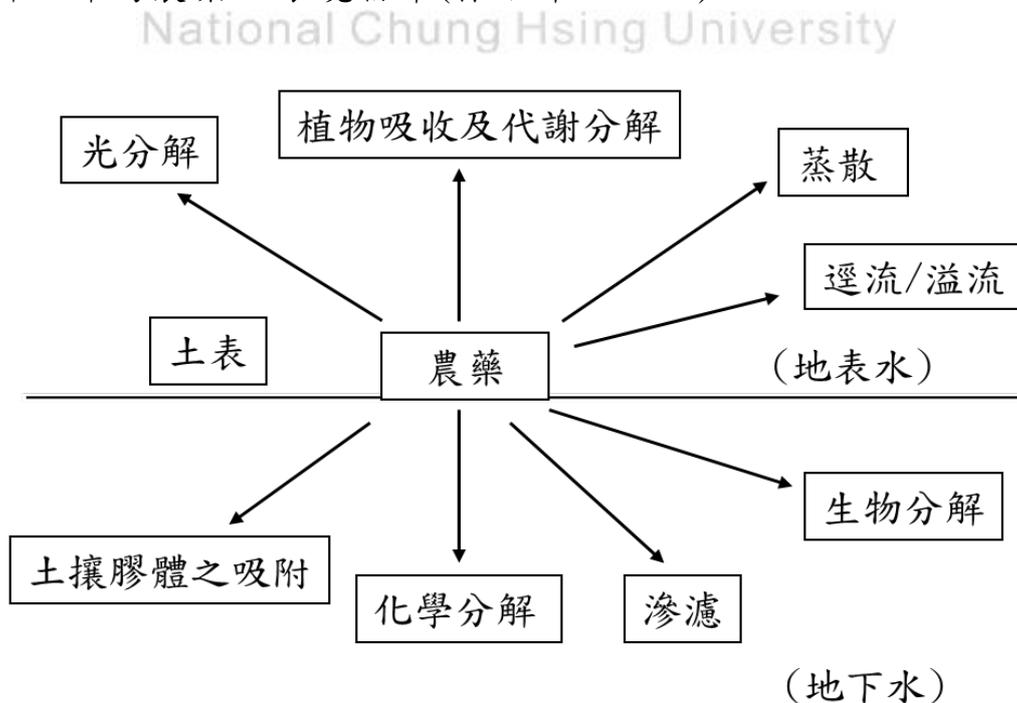


圖 1. 農藥在環境中的行徑 (林浩潭，1999)

農民使用除草劑來增加作物產量及提高品質，惟過度不當使用藥劑，對水生環境所產生的毒性和生態平衡的破壞，已經受到全世界先進國家的重視，進而制訂一套完善的水生毒性評估標準(邱彥璋，2011)。近年來，利用水生生物如魚類、水蚤類或水生植物浮萍、藻類等進行水生環境毒性試驗，已經被廣為用來評定特定物質對水生生物是否具有毒害，同時可作為評估水質是否受到有毒物質之污染的指標。

目前大多作為污染物對水生植物毒性的種類，大部分建立在少數淡水綠藻的毒性研究上。在 50 年代初期，國外毒理學家曾利用浮萍 (*Lemna minor*) 進行植物毒性檢測，但沒有受到重視。直到 80 年代，隨著植物毒性試驗的化學品大量增加，為了深入了解污染物對植物的毒性，浮萍生長抑制試驗才重新引起注意(嚴雪，1998)。浮萍(*Lemnaceae*)是一種水生浮游植物，與許多水生環境相關，包括湖泊、河流、流出物和沈積物。浮萍植物廣泛分佈於世界各地，從熱帶到美洲溫帶，從淡水到含鹽河口。

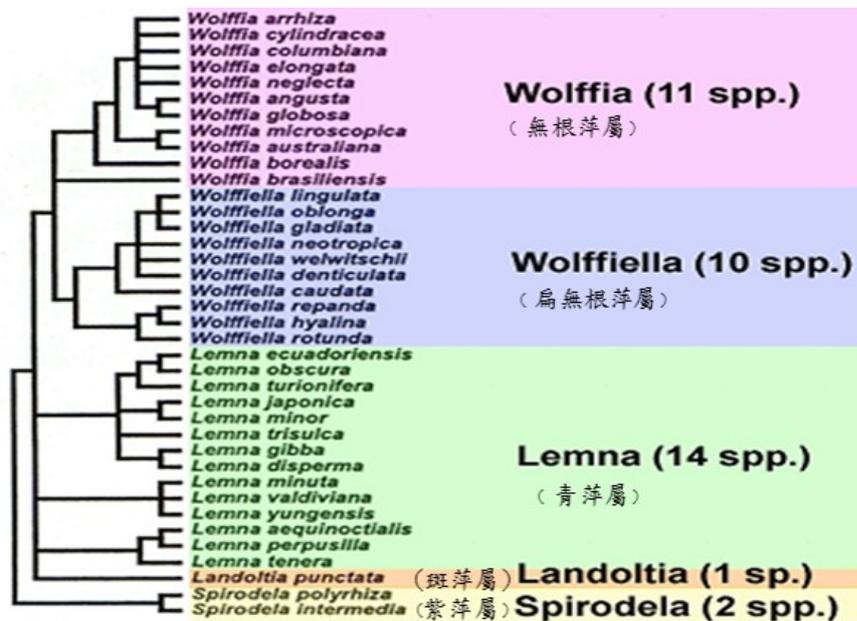


圖 2. 浮萍物種分類

從分類學上浮萍亞科有 5 屬 38 種，根據其根的數目和葉的形狀進行區分。圖 2 顯示 5 個屬分別為：紫萍屬 (*Spirodela*)，含 2 個種；斑萍屬 (*Landoltia*)，含 1 個種；青萍屬 (*Lemna*)，含 14 個種；扁無根萍屬 (*Wolffiella*)，含 10 個種；無根萍屬 (*Wolffia*)，含 11 個種 (Les *et al.*, 2002)。

浮萍的營養體或葉狀體，是只有少數細胞厚度的結構。這代表了全部葉和莖的融合，整個植物體積極少。葉狀體主要由海綿狀的葉肉組成，其具有大的氣孔，使它們浮起，並且它們無根或在底面上有一個到幾個簡單的無毛根。浮萍 (*Lemnaceae*) 具有體積小、繁殖率高及無性繁殖的特性，使它們成為理想的測試系統。而且，浮萍可在各種 pH 值 (pH 3.5-10) 的環境下均可生長 (Sandra, 2012)。浮萍是動物飼料的來源，是淨化污染水的一種手段，也可以用於可再生能源的生成，是各種無機和有機的化學品，以及混合物的毒性測試程序中使用最多的物種。研究顯示浮萍對各種混合物（如廢水，滲濾液等）的毒性評估極為敏感。

Lemna spp. 是最常用於評估電池主要生產製造過程中，排放廢水的標準代表。OECD (經濟合作與發展組織)、ISO (國際標準化組織) 和 ASTM (國際標準化組織) 三個組織制定了浮萍的標準生長抑制試驗。此外，浮萍也可應用於水體的植物修復，廢水處理和毒物去除等 (Jurat, 2014)。

據於此，本論文主要目的是評估台灣常用除草劑對本土水生維管植物的青萍作為毒性試驗，以及對環境之風險評估。

三、研究架構

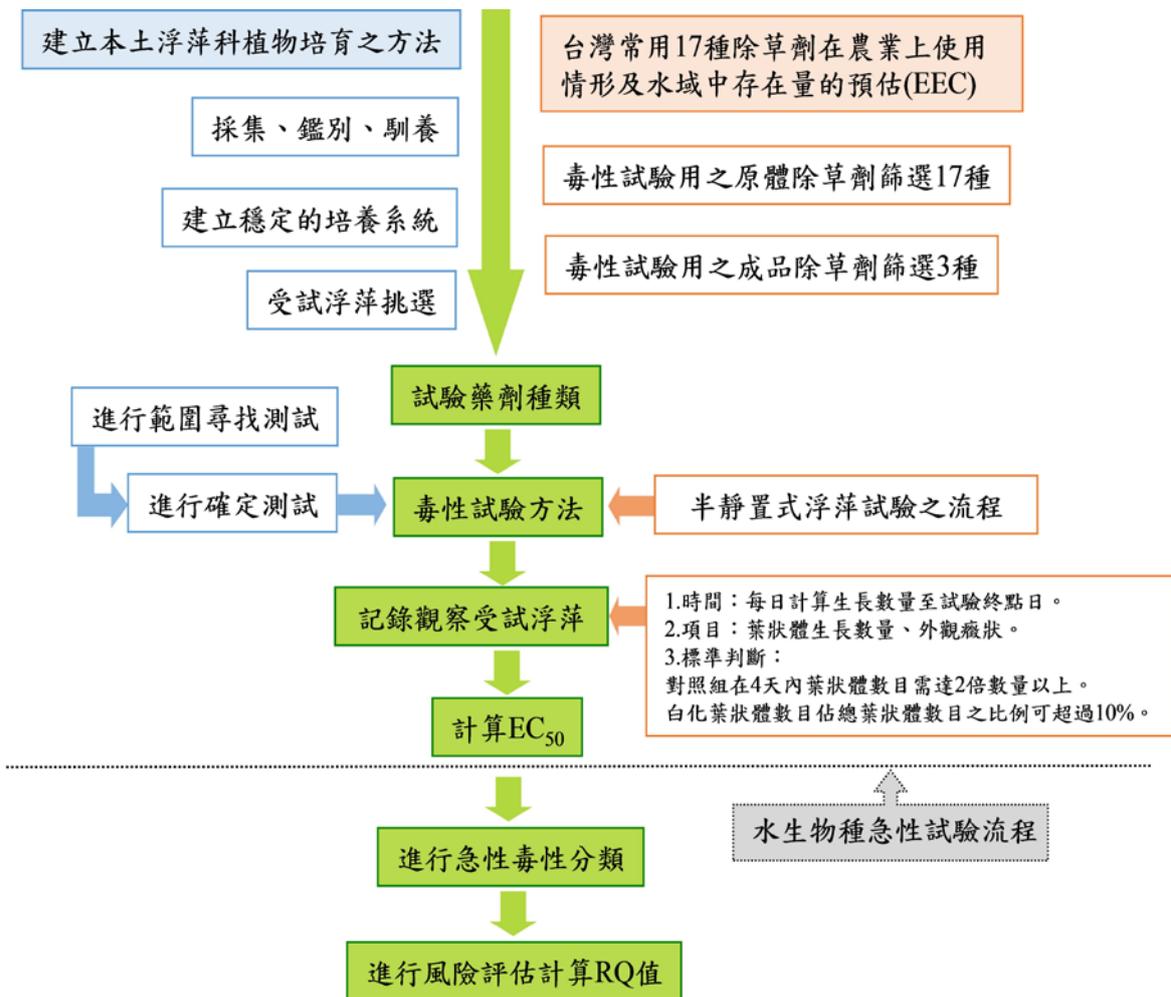


圖 3. 研究架構

本論文利用臺灣常用的除草劑對本土水生高等維管植物青萍 (*Lemna aequinoctialis*) 的毒性試驗。此試驗選用 17 種原體除草劑(農藥的有效成分)和 3 種成品除草劑來進行研究架構如圖 3 所示。試驗項目以毒性物質劑量反應關係 (dose-response relationship) 來探討毒性物質(除草劑)對生物體(青萍)所造成影響為基礎。再從數據來分析在毒性試驗過程中，試驗物種受有毒物質的作用，所造成生物體 50% 受抑制(或死亡)時，所表現出的有毒物質濃度，即為 EC_{50} ；本研究以求出青萍急性毒性(EC_{50} ，4 天)及青萍急性毒性(EC_{50} ，7 天)之抑制濃度，進行毒性分類及毒

性風險評估。

四、擬解決的問題

經常性的使用除草劑會造成水域環境的毒害，而台灣水田除草劑對環境的毒害資料尚未被建立，為了配合農時，全台稻作區域施藥時期大致相同，溶於水田中的除草劑會經由溢流、飄散等方式至溝渠、河流以及進入空氣、土壤、生物體中，此時水域環境中的污染物進而影響廣大區域的非目標水生生物之潛在風險。

本研究選用青萍(*Lemna aequinoctialis*)作為非目標生物之材料，進行除草劑對青萍的毒性試驗，未來可以作為偵測水質優劣之標準。也可輔助研究學者評估環境中，化學藥物對水生植物在短期及長期曝露下，是否產生毒害。

貳、文獻探討

一、浮萍在研究相關的重要應用

(一) 浮萍的種類與習性

水生植物作為水生生態系統重要組成部分，是保持水體良性發展的關鍵生態類群。其中，大型水生植物是水生植物中的一個重要類群，主要包括水生維管植物和高等藻類。其生活型分為挺水植物、沈水植物、浮葉植物與漂浮植物(劉婷婷等，2014)。浮萍為大型水生植物中，歸類於水生維管植物 (aquatic vascular plant) 之類群，屬漂浮 (free-drifting) 型的生活型態，其生長特點為植物體完全漂浮於水面，具有特化的適應漂浮生活的組織結構。可通過光合作用將光能轉化為有機能，並向周圍的環境釋放氧氣，在水生生態系統中處於初級生產者的地位，能夠發揮多種生態功能(種云霄等，2003)。

浮萍 (Duckweed) 屬於單子葉被子水生植物分部於世界各地，為世界上最小、生長速度最快以及最簡單的開花植物。浮萍並不是大型被子植物的簡略版，其在體積縮小的同時伴隨著結構組織的高度修飾，包括各種形態學和解剖學上特徵的改變和簡化，甚至沒有(黃明星等，2016)。結構簡單，其葉通常被稱作「葉狀體」(thallus 或 frond)，是一些具有最小分化組織的集合體，由葉狀體和根系組成，葉狀體基部有囊；主要進行無性繁殖，新葉狀體和根由位於囊基的分生組織形成，生長周期短，約 2~3 天繁殖一代(朱曄榮等，2010)。

(二) 浮萍在毒性研究上的貢獻

大型水生植物是一種廣泛的分布在河流、湖泊和池塘中植物群落，它們在水域生態環境中扮演著十分重要的作用。隨著農民在作物品質要求之外，對農藥使用也相當依賴，此時又欠缺農藥對環境破壞的思維及對周遭非目標生物物種之生存危害，水污染的情形逐步加劇。國內外研究學者發現大型水生植物具有耐污、修復淨化的作用，而且投資少、能量消耗小，於是水生植物開始被人們重視起來（種云霄等人，2003）。

大型水生植物在水生態系統中具有重要的作用：一方面大型水生植物可以改善水下的光照和溶氧條件，為水生動物提供棲息地和食物，是水體生物多樣性賴以維持的基礎；另一方面，大型水生植物在淨化水質及水環境監測等方面具有重要作用(Sen *et al.*,1994； Mukherjee, 2005；黃明星等人，2016)。因此，以大型水生植物作為受試物種來開展水環境中污染物的毒性效應研究，可增強對水生植物的保護，並減少污染物透過食物鏈的生物放大作用對高營養級生物的危害。

多年來不僅被廣泛應用於植物生理學、遺傳學、生態學和環境檢測等方面，而且被廣泛應用於水體污染的治理、植物衰老的研究及除草劑的篩選。目前，浮萍在生物能源和生物製藥方面也表現出了巨大的應用潛力(黃明星等人，2016)。

依據國內外研究學者之文獻中，歸納浮萍科植物在研究相關應用之三大主題為：水質修復淨化之研究、污水檢測之研究及基因轉質有用蛋白之研究。

1. 水質修復淨化之研究

農業廢水、家庭廢水、都市廢水等含有過量的礦物元素如氨 (NH_4^+)、硝酸鹽 (NO_3^-) 和磷酸鹽 (PO_4^{3-}) 等。而浮萍本身對氮、磷營養具有很強的吸收利用功能，適量浮萍群體的生長對富有營養化水體有很好的淨化作用(張欽江，2014)。氨 (NH_4^+)、硝酸鹽 (NO_3^-) 和磷酸鹽 (PO_4^{3-})，這些大量營養素在水環境中大量存在時可能導致地表水體的富營養化(優養化)，但它們很容易被生長在廢水或污染之天然水體上的浮萍去除(Ziegler *et al.*, 2016)。有些研究表明，浮萍通常可以直接在原始或厭氧處理過的廢水中有利地生長，然而在某些情況下，為了有效的養分吸收和生長，其必須被稀釋(Ziegler *et al.*, 2016)。因此，浮萍在生物量生產中可以優於傳統的陸地作物，同時修復廢水而不佔用陸地作的生產用地。Bergmann *et al.*, (2000) 研究中，篩選了合成豬環礁湖廢水中 41 種地理浮萍分離物的生長和蛋白質產量。這導致選擇特別適合於從豬瀉湖流出物中去除 NH_4^+ 和 PO_4^{3-} ，並有望用於生長和生物質生產的 *L. minor*，*L. gibba* 和 *L. punctate* 中的每個基因型(Bergmann, 2000；Landesman *et al.*, 2002)。

2. 污水檢測之研究：

除草劑、重金屬、工業廢水等，利用生長抑制為毒性測試指標。而重金屬從自然和人為來源釋放到環境中，主要來自採礦和工業活動。這些會構成嚴重對人類、動物、植物和微生物的健康風險(Duruibe *et al.*, 2007)。Ziegler *et al.* (2016)發現各種有毒的有機異生物質(xenobiotics)可通過廢水和農業噴灑物質釋放到環境中。其中一些有可能實際上被浮萍吸收。由於重金屬和一些有機異生物質的植物修復而產生的浮萍生物量，因此不適用於動物飼料或肥料。它可以用於生物燃料的生產，但重金屬和可能還有殘

留的異生物質(xenobiotics)含量仍然必須處理。燃燒可以有效地破壞殘留生物質中的有機異生素，但需要其他措施如金屬回收技術來保證最終釋放不含重金屬的浮萍生物質殘渣(Ziegler *et al.*, 2016)。研究所示，當污染物質的濃度過高時，在含有大量營養營養素，重金屬或有機異生物質的廢水、地表水或培養基中培養的浮萍表現強烈的生長遲緩。浮萍吸收或接觸到有毒物質時，可能對水生植物本身產生有害影響，最終表現為抑制生長。為了記錄生物體之增減，所測量的增長參數包括：葉片數量(Frond number)、葉面積(Area)、鮮重(FW)和乾重(DW)(Ziegler *et al.*, 2016)。

Gubbins 等人(2011)研究顯示銀(Ag)氧化物 NPs 的小顆粒，對 *L. minor* 的毒性在葉數和乾重參數有顯著影響。Bian 等人(2013)觀察發現 Ag^{2+} 離子對 *L. gibba* 中會導致葉片數量和鮮重減少；然而，Babu *et al.* , (2003) 僅測量葉片數量而無乾重。Goswami *et al.*, (2014) 分別檢測 Cu 和 As 對 *L. gibba* 和 *L. minor* 的毒性，發現生物體受污染物的影響，不僅生長量降低，且生理及生化反應均受干擾。惟試驗中僅只觀察浮萍在特定的水體中生長情形，就足以說明該水體中含有毒性成分，此成分干擾代謝而導致生長抑制。目前 Brain 和 Cedergreen (2009) 在許多研究中的生長抑制方法，被引用為浮萍毒性檢測的唯一生物指標。生長抑制的指標在毒理學和環境化學領域是容易確定觀察，因此研究上選用浮萍作為標準毒性測試的指標。

3. 基因轉殖有用蛋白之研究：

台灣養耕共生協會資料顯示，近年來，世界銀行及各國農業研究機構為了改善第三世界落後地區人民貧困的生活，一直在積

極推廣一套成本低廉卻收獲豐富的「浮萍農業」：引用家庭廢水來養浮萍，一方面可以淨化污水；一方面則可以增加浮萍的產量。新鮮或烘乾保存的浮萍再用來飼養豬、鯉魚、鴨、鵝等，多餘的浮萍和這些吃浮萍長大的動物還可以賣錢來增加收入，是環保又省錢，一舉多得的一套農業生產方式。研究顯示浮萍科植物富含蛋白質，可作為畜禽養殖飼料。在植體主成分分析顯示，蛋白質含量乾重可達 35~45%，且其纖維含量低(<10%)，具開發為飼料及蛋白質生產平台(植物反應器)的潛力。

浮萍基因轉殖系統早在 20 世紀末就有學者開發研究，最早由 Rolfe 與 Tobin(1991)使用 *Lemna gibba* 為平台，透過暫時性表現方式測試單子葉植物 rbcS 啟動子之活性，緊接著此項方法亦被其他學者應用於其它種浮萍，例如 *L. minor*、*Spirodela oligorrhiza* 以及 *Wolffia columbiana*。穩定性表達系統則在 1990 年末期由兩個研究團隊成功開發農桿菌轉殖法(*Agrobacterium tumefaciens*)，第一個為 Stomp 教授團隊建立 *L. gibba* 以及 *L. minor* 穩定性轉殖系統(朱晔榮等人，2010)；第二個為 Edelman 教授團隊建立 *L. gibba* 以及 *S. oligorrhiza* 穩定轉殖系統(蔡錦燕等人，2017)。目前浮萍基因轉殖技術可透過基因槍法與農桿菌轉殖法進行，所轉殖之基因可穩定存在於浮萍染色體中並持續表現，現今更有超過 20 種醫藥用蛋白。在 2007 年 Cox 等人對浮萍葉綠體的遺傳轉化進行了開創性的研究，並對浮萍葉綠體的遺傳轉化方法申請專利保護。同年 Stomp 等人又公布了其用基因槍轉化浮萍的方法，同時透過農桿菌介導的遺傳轉化，在 *Spirodela oligorrhiza* 中也成功完成基因的表達。

(三) 浮萍的毒性標準化試驗

在 1979 年 *L. minor* 被提出作為評估化學品在環境安全“代表性”的水生植物(Environment Canada, 2007)。從 1980 年開始至今，根據浮萍毒性試驗的經驗(Wang, 1990)，許多國家國際組織已推動了浮萍試驗方法，其中包含經濟合作與發展組織(OECD：OECD 2006)及國際標準化組織(ISO：ISO 2005)。以上標準試驗方法可應用於檢測廢水和地表水中有毒物質是否的存在。選擇浮萍作為高等水生植物的模式生物是基於具有水生植物之特性。浮萍的優點除了體積小、構造簡單、生長速度快之外，在液體培養基上的簡單培養瓶或培養皿中特別容易培養。在實驗條件下，可控管浮萍進行標準化毒性測試，由此可避免不利環境條件對浮萍的毒性影響。在 38 種已知的浮萍分類中，只有 2 品種被指定用於毒性試驗，*L. minor* (加拿大和歐洲)和 *L. gibba* (美國)。這與 1979 年的原始提案是一致的，並且根據實驗數據提供了關於這些物種獲得浮萍毒性試驗之推薦(Wang, 1990)。

浮萍生長抑制試驗是國際通行的由 ISO (ISO 20079, 2005 年) 和 OECD (OECD 221)，用於化學品，農藥的測試和廣泛水樣或物質溶解在水中的標準化。這些浮萍試驗通常使用 *Lemna gibba* 進行(常常優先用於經合組織的農藥篩選，符合美國用藥指南)，或者毒性試驗對於 ISO 和 OECD 測試都使用 *Lemna minor*。特別是 *Lemna minor* ST 是一種非常廣泛使用因基克隆，用於環境毒素檢測。浮萍是用高等植物測試有毒物質和環境樣品的最佳選擇。除了廣泛使用的海藻測試之外，這提供了非常重要的補充信息 (Matthias E., 2001)。

二、除草劑在台灣農業上所扮演的角色

由於農業勞動力的缺乏，除草的工作已非人力負擔得起，所以除草劑的使用，日益普遍。除草劑和其他農藥以及肥料一樣，在農業增產上，扮演重要的角色(李國欽，2000)。

(一) 除草劑的分類

除草劑可依用途可分為非選擇性、水田、旱田用除草劑(方麗萍，2017)；依作用可分為接觸性和轉移性除草劑，主要對一年生和多年生雜草。依施用時間分類，可分為種植前施用、萌發前施用和萌發後施用等 3 種類型(李敏郎等人，2011)。依作用機制，則可分為生長調節劑型除草劑、胺基酸合成抑制劑、脂質合成抑制劑、幼苗生長抑制劑、光合作用抑制劑、細胞膜破壞劑、色素抑制劑等類別(蔣永正等人，2006)。

National Chung Hsing University

(二) 非選擇性除草劑在台灣市場的重要地位

用以消滅或控制雜草生長的藥劑，稱為除草劑(herbicides)。非選擇性除草劑(non-selective herbicides, NSHs)之定義，是指在推薦用量下，會引起所有植物傷亡的藥劑。

非選擇性除草劑在台灣農藥整體市場佔重要地位，以 15 年(2002~2016 年)平均值，佔總農藥銷售金額及銷售數量分別 17% 及 21%，主要產品包括巴拉刈(paraquat)、嘉磷塞(glyphosate)及固殺草(glufosinate-ammonium)。這段時間，非選擇性除草劑銷售量只成長 10%，但金額增加 80%，主原為高價固殺草取代嘉磷塞市場。

1. 巴拉刈(Paraquat) 24% 溶液

自 1958 年英國卜內門(ICI)開發巴拉刈，1962 年商品化，自 60 年代末在台灣銷售。巴拉刈為接觸型的非選擇性除草劑，效果迅速，在節省勞力之主因下，廣受農民喜用，使用量快速成長，獨佔非選擇性除草劑市場，1985 年至高峰達 4 千 4 百噸。

2013 年 11 月成品農藥登記證共 32 張。領導品為先正達(Syngenta)，商品名稱為剋蕪踪(Paraquat)。十年(2007-2016)平均出廠每公升單價為 109 元台幣，95% 為台灣調配。2016 年銷售數量為 2 千 5 百噸；佔非選擇性除草劑銷售金額為 17%，共計 2 億 9 千萬元台幣。主要市場為短期作物，包括蔬菜和豆類。

2. 嘉磷塞異丙胺鹽(Glyphosate IPA) 41% 溶液

自 1971 年美國孟山都(Monsanto)合成嘉磷塞，1980 年全球營業額達 47.5 億美元，躍居世界農藥施用的第一位。80 年代初在台灣上市，1984 年每公升高達 700 元台幣，隨著孟山都全球降低價位策略奏效，1990 年單價已落至 166 元；在 1989 年銷售金額高達 7.7 億，2002 年台灣嘉磷塞銷售量邁最高峰高達 7 千公噸。

2013 年 11 月成品農藥登記證共 60 張。領導品為孟山都的蘭達(Roundup)及其台灣總代理億豐公司的年年春(Glyphosate)。十年(2007-2016)平均出廠每公升單價為 119 元台幣。95% 為台灣調配。2016 年銷售數量為 4 千 5 百噸；佔非選擇性除草劑銷售金額為 25%，共計 4 億 4 千萬元台幣。主要市場以果樹、茶、檳榔等。

3. 固殺草(Glufosinate-ammonium) 18.02% 及 13.5% 溶液

1981 年德國赫司持(Hoechst AG)所開發。其原有之缺點是不如巴拉刈速效，又未如嘉磷塞長效。但在注重生態環境及對作物

更安全優勢下，固殺草將其缺點發揮為優點，施藥後根部不會完全死亡，對環境相對更為友善且對淺根作物不會造成藥害。自1990年完成18.02%固殺草農藥登記，價格雖為兩競爭者平均2.5倍，每年卻大幅成長。固殺草溶液在台灣上市，共有二種成分，包括18.02% (w/w)，及13.5% (w/w)。因部份雜草對嘉磷塞產生抗藥問題，使得固殺草13.5%終於2009年取代嘉磷塞的領導地位，以5.8億的銷售金額成為非選擇除草劑的第一名，佔此市場45%。

2013年11月18.02%溶液及13.5%成品農藥登記證分別為8張及26張。領導品為拜耳(Bayer Cropscience)，商品名稱為巴試達(Basta)。十年(2007-2016)平均出廠每公升單價為275元台幣。主要為進口成品。2016年固殺草13.5%及18.02%溶液之銷售數總量為3千6百噸；銷售金額為10億1千萬元台幣，為非選擇性除草劑銷售金額之首位，高達58%之佔有率，主要市場以香蕉、檳榔、花卉、茶等。

巴拉刈對環境無明顯影響，每年卻有200人死於巴拉刈中毒，其急性毒性雖低，但會造成進行性肺纖維化，最終導致呼吸衰竭死亡，口服中毒死亡率高達90%~100%。農委會於2017年預告2019年2月1日禁用巴拉刈，歐盟及南韓分別於2007年及2012年禁用，中國於2016年7月禁用。

(三) 除草劑之作用原理及重要特性

除草劑必須經過植物吸收(absorption)、傳導(translocation)，然後到達作用目標(target site)，產生作用造成植物死亡。劉明宗(2002)表示除草劑進入植物體內後可以被積存在細胞壁或液胞

(vacuole)中，或者在抵達作用位置之前被代謝成不具毒性的分子。除草劑的選擇性即是來自不同植物所具有上述過程的差異性。除草劑分子抵達作用目標後，除草劑主要影響的或是特定的位置，酵素或是特定的過程稱為作用機制(Mechanism of Action)。作用型式(Mode of Action)則包括植物受除草劑影響的整個反應。除草劑生理和生物化學的發展到現在，大部份除草劑的作用機制都已經清楚。1980 年代以後開發的ACCase inhibitors，ALS inhibitors 和EPSPS inhibitors 等，由於動物對之有很強的代謝分解能力，以致於對動物的安全性很高。

三、除草劑對水生植物之毒性風險評估

過去許多生態毒理學家認為水生植物對毒物的敏感性比動物低(Wang *et al.*, 1995)。但有不少水生植物對許多重金屬、醇類、農藥、表面活性劑、污水、部分有機物比動物更敏感。隨著水生植物的重要作用逐漸得到認可，近年來，利用水生植物進行實驗室毒性試驗及野外環境監測與評價，日益受到國內外研究者的重視(嚴雪等人，1998)。所以，僅建立在水生動物毒性試驗基礎上的水質標準，不能有效地保護水生植物，還有學者認為，能保護藻類的水質標準同樣能保護高等水生植物。目前涉及到的潛在污染物的水生植物毒性的認知，絕大部分建立在少數淡水綠藻的毒性研究上，實際上，還包括大型水生植物毒性試驗。50年代，國外毒理學家曾提出用浮萍(*Lemna minor*)進行植物毒性檢測，但直到80年代初，隨著植物毒性試驗的化學品大量增加，以及為了深入了解污染物對植物的毒性，浮萍生長抑制試驗才重新引起注意，但應用還不夠廣泛，這種研究情況，僅對潛在污染不能進行

準確而全面的生態風險評價(嚴雪等人，1998)。

農藥是目前農業生產中重要的生產資料，全球農藥年用量達到440萬噸，但在使用過程中70%~80%的農藥未到達防治標靶，而是直接分散到環境中，對土壤、空氣和水體造成污染，農藥按照防治對象主要分為殺蟲劑、殺菌劑、殺蟎劑、殺線蟲劑、殺鼠劑、除草劑、植物生長調節劑(PGRs)等。其中，殘留在水體環境中的除草劑和植物生長調節劑兩類農藥，會對包括藻類在內的水生植物產生直接影響，其他農藥則可通過作用於動物、微生物甚至水質影響水生植物，進而對整個水生生態系統造成負面作用(于彩虹等人，2013)。環境中農藥的殘留和生物，對農藥的敏感性決定了農藥的環境風險，鑒於此，有必要充分評估有毒農藥對水生植物結構和功能的潛在風險，唯國內有關對水生植物風險評估的研究極為缺乏。

參、材料與方法

一、建立本土浮萍科植物培育方法

(一) 受試植物

台灣地區常見的浮萍科植物，根據楊遠波等(2001)台灣維管植物簡誌之分類檢索表及其他相關參考資料，分為青萍屬之青萍 (*Lemna aequinoctialis*)、斑萍屬紫萍 (*Landoltia punctata*)、紫萍屬水萍 (*Spirodela polyrhiza*)、無根萍屬無根萍 (*Wolffia globosa*) 等，由表1顯示台灣水域常見浮萍科物種及其特徵。浮萍科植物增生的方式以出芽分裂增生(無性繁殖)為主。

表 1. 台灣常見浮萍科植物特徵

中文名稱	青萍	水萍	紫萍 (疏根紫萍)	無根萍 (卵萍、水蚤萍)
學名	<i>Lemna aequinoctialis</i>	<i>Spirodela polyrhiza</i>	<i>Landoltia punctata</i>	<i>Wolffia globosa</i>
外觀				
葉狀體 形狀	卵形	闊卵形 至卵形	橢圓形 或倒卵形	橢圓體
葉狀體 長寬	長 5-7mm 寬 2-3mm	長 8-10mm 寬 8-10mm	長 4-6mm 寬 2-3mm	長 0.5-0.7mm 寬 0.2-0.3mm
葉下表面 顏色	淡綠或黃綠	紅紫色 或綠色	深紫紅色	淡綠色
群聚特性	2-4 枚連生	2-5 枚連生	2-8 枚連生	-
根數	1 條	5-10 條	2-4 條	無根

(二) 培養液種類

浮萍葉狀體數目的增殖速度會因品種、營養液、光照及水質等因素之影響而不同，本研究為建立穩定之培養系統，根據 EPA 之規範選擇 Hoagland 系列及 20X AAP 系列的培養液，前者為弱酸性培養液 (pH 5.5)，後者為弱鹼性培養液 (pH 7.5)，以青萍屬之青萍 (*Lemna aequinoctialis*) 進行生長試驗。由附錄3、附錄4為兩培養液的組成分。

(三) 受試設備及器材

1. 培育生長適用：

量筒、藥匙、藥紙、定量瓶、攪拌器、攪拌棒、攪拌石、刻度吸管、培養皿蓋、玻璃燒杯、鋁箔紙。

2. 採集、鑑別、馴化適用：

中型塑膠盆(5L)、保鮮膜、打氣泵、打氣石、矽膠管、篩網、膠帶、撮子。

3. 共用設備：

酸鹼測定儀、植物生長箱、照相設備、無菌過濾膜、分析天平(可精稱至 0.001 g)、抽氣泵、藥品冷藏箱 (4°C)。

(四) 化學藥品種類

培養液使用藥品如有 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 、 KH_2PO_4 、 KNO_3 、 $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 、 H_3BO_3 、 $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 、 NaNO_3 、 $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 購自默克公司 (MERCK Co., Inc)；EDTA ($\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{Na}_2\text{O}_8$) 及 $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 、 ZnCl_2 、 $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 、 NaHCO_3 購自Sigma公司

(Sigma-Aldrich Co.)。

(五) 試驗條件

溫度為 24 ± 1 °C，光照為連續光照12 hr，黑暗為連續黑暗12 hr。光照強度為 3,500 - 5,000 Lux，每個濃度為 4 重覆，每個樣品為 120 mL溶液，試驗終點為 4 天及 7 天。

表 2. 青萍 (*Lemna aequinoctialis* Welwitsch) 生長試驗條件

Test parameter	Test conditions
Test species	<i>Lemna aequinoctialis</i>
Test type	Static renewal
Temperature (°C)	24 ± 1 °C
Light intensity (Lux)	3,500 - 5,000
Photoperiod (hr)	12 ^h : 12 ^h (L : D)
Test medium	½ strength Hoagland's E medium
Test vessel	250 mL- Beaker
Test solution / vessel	120 mL
Test specimens / vessel	12 fronds
Replicates	4
Test duration (days)	4 and 7
End point of test	Fronds increase / vessel

(APHA, 2005)

(六) 試驗方法

試驗方法參考美國公共衛生協會 (APHA, 2005)、經濟合作與發展組織 (OECD, 2002)、美國環境保護局 (U.S. EPA, 1996)、國際標準組織 (ISO 20079, 2004) 進行。

1. 採集、鑑別、馴化

從臺灣中部及南部野外水域(包括：水田及水池)採集浮萍，根據楊遠波等(2001)台灣維管植物簡誌之分類檢索表及其他相關參考資料，鑑定所採集之浮萍科植物品種為青萍屬之青萍 (*Lemna aequinoctials*)、紫萍 (*Landoltia punctata*)、水萍 (*Spirodela polyrhiza*)、無根萍 (*Wolffia globosa*) 等，由表2顯示台灣水域常見浮萍科物種及其特徵。

採集之浮萍先以清水濾洗數次除去雜質，並以1000倍稀釋之次氯酸溶液快速濾洗，再的去離子水濾洗數次後，移至培養液中，於溫度 $24\pm 1^{\circ}\text{C}$ 、光強度 3,500-5,000 Lux，每日光照 12小時的生長環境下進行馴養，培養液組成配方如附錄3 (page 74) 所示。受試浮萍每星期更新一次培養液，並在試驗用培養液中經過至少一個月馴養後方可進行試驗。

2. 浮萍挑選

以台灣本土浮萍科植物品種為青萍屬之青萍 (*Lemna aequinoctials*)、浮萍屬紫萍 (*Landoltia punctate*) 及水萍 (*Spirodela polyrhiza*)。

3. 培養液配置

以Hoagland系列及20X AAP系列的培養液，而培養液的組成份由附錄3 (page 74) 及附錄4 (page 75) 顯示。

4. 進行各項生長培育試驗方法

(1) 培養液受試篩選之步驟：

- ① 挑選健康無病蟲病的浮萍，以三片葉原體為一株，葉片皆為綠色的成熟葉、無白化、黃化。

- ② 培養液配製完成並調整 pH 值後，分別取出 120 mL 的培養液倒入玻璃燒杯 (250 mL) 中。
- ③ 每種培養液需做四個重覆(A、B、C、D)，再分別放入挑選好的健康浮萍植株、每個樣品放入 12 葉狀體(每株 3 片葉狀體，共放 4 株浮萍受試)，再蓋上培養皿蓋。

培養液	20XAAP				Hoaglands-E			
樣品	A	B	C	D	A	B	C	D

- ④ 將樣品移入已完成設定環境條件的生長箱內，並且每個燒杯杯底套上鋁箔紙來避光，以減少藻類滋生於浮萍根部。
- ⑤ 更新培養液的時間為 4 天更新一次受試培養液。
- ⑥ 受試終點：4 天和 7 天。
計數方式為肉眼計數浮萍當日所生長的葉狀體數量，並記錄外觀癥葉狀體。計數時間為每日固定同一時段來計數每個樣品的生長量直到受試最終日止。

(2) 浮萍科植物受試篩選之步驟：

- ① 挑選健康無病蟲病的浮萍(青萍、紫萍、水萍)，以三片葉原體為一株，葉片皆為綠色的成熟葉、無白化、黃化。
- ② 配製完成 Hoagland 系列培養液並調整 pH 值後，分別取出 120 mL 的培養液倒入玻璃燒杯 (250 mL) 中。
- ③ 每種浮萍種類需做四個重覆(A、B、C、D)，再分別放入挑選好的健康浮萍植株、每個樣品放入 12 葉狀體(每株 3 片葉狀體，共放 4 株浮萍受試)，再蓋上培養皿蓋。

Hoagland 培養液	青萍				紫萍				水萍			
樣品	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D

- ④ 將樣品移入已完成設定環境條件的生長箱內，並且每個燒杯杯底套上鋁箔紙來避光，以減少藻類滋生於浮萍根部。
- ⑤ 更新培養液的時間為 4 天更新一次受試培養液。
- ⑥ 受試終點：4 天和 7 天。

計數方式為肉眼計數浮萍當日所生長的葉狀體數量，並記錄外觀癥葉狀體。計數時間為每日固定同一時段來計數每個樣品的生長量直到受試最終日止。

(3) 不同濃度培養液受試篩選之步驟：

- ① 挑選健康無病蟲病的青萍，以三片葉原體為一株，葉片皆為綠色的成熟葉、無白化、黃化。
- ② 配製完成 Hoagland 系列培養液，分別稀釋為 1/4 倍、1/2 倍、OR (原液)、2 倍、4 倍，並調整 pH 值後，分別取出 120 mL 的培養液倒入玻璃燒杯 (250 mL) 中。
- ③ 每種浮萍種類需做四個重覆(A、B、C、D)，再分別放入挑選好的健康浮萍植株、每個樣品放入 12 葉狀體(每株 3 片葉狀體，共放 4 株浮萍受試)，再蓋上培養皿蓋。

Hoagland 培養液	1/2X	1/4X	OR	2X	4X
樣品	A	A	A	A	A
	B	B	B	B	B
	C	C	C	C	C
	D	D	D	D	D

- ④ 將樣品移入已完成設定環境條件的生長箱內，並且每個燒杯杯底套上鋁箔紙來避光，以減少藻類滋生於浮萍根部。
- ⑤ 更新培養液的時間為 4 天更新一次受試培養液。
- ⑥ 受試終點：4 天和 7 天。

計數方式為肉眼計數浮萍當日所生長的葉狀體數量，並記錄外觀癥葉狀體。計數時間為每日固定同一時段來計數每個樣品的生長量直到受試最終日止。

(七) 數據處理及毒性評估

1. 浮萍倍增時間計算 (Doubling time)

$$T_d = \ln 2 / \mu \quad (\text{Landolt, 1987})$$

T_d ：浮萍倍增時間

μ ：平均比生長速率

2. 平均比生長速率計算 (Average specific growth rate)

$$\text{平均比生長速率 } \mu_{i-j} = [\ln(N_j) - \ln(N_i)] / t \quad (\text{OECD, 2006})$$

μ_{i-j} ：由時間 i 到 j 之平均比生長速率

N_i ： i 時間測得之變量(每杯浮萍葉狀體數目)

N_j ： j 時間測得之變量(每杯浮萍葉狀體數目)

t ： i 到 j 時間差

(八) 品質管制

根據美國 APHA 及 EPA 之規範，以浮萍科植物進行水質生物毒性試驗，評估受測浮萍是否健康及浮萍生長試驗結果可接受性的重要依據為：第一為對照組浮萍在 4 天內葉狀體數目需增加達 2 倍以上。第二為白化(chlorosis)葉狀體數目佔總葉狀體數目之比例必須小於 10%。此二項是符合上述二項指標，表示試驗過程中浮萍未受到病、蟲害等危害之影響。若否，則當次試驗結果

不予採納。

二、建立本土青萍毒性試驗方法

以台灣本土浮萍科植物青萍 (*Lemna aequinoctialis* Welwitsch) 為測試生物，採用靜止更新法進行 7 天試驗，以青萍生長受抑制的程度來評估待測除草劑之毒性。

(一) 受試植物

青萍 (*Lemna aequinoctialis* Welwitsch)：台灣田野水域常見之浮萍科植物，葉狀體卵形，不對稱，不明顯的 1 或 3 條脈，節上具顯著乳頭狀凸起，下表面中凸或扁平，常以 2 ~ 4 個葉狀體成一羣；根 1 條，基部之鞘具翼；根冠銳尖且彎曲。

(二) 培養液種類

以 1/2 倍 Hoagland 系列的培養液，培養液的組成份(附錄 3, page 74)。

(三) 受試設備及器材

1. 受試生長適用：

量筒、藥匙、藥紙、定量瓶、攪拌器、攪拌棒、攪拌石、刻度吸管、培養皿蓋、玻璃燒杯、鋁箔紙。

2. 馴化培養液適用：

中型塑膠盆(5L)、保鮮膜、打氣泵、打氣石、矽膠管、篩網、膠帶、攝子。

3. 共用設備：

酸鹼測定儀、植物生長箱、照相設備、無菌過濾膜、抽氣泵、分析天平(可精稱至 0.001 g)、藥品冷藏箱(4°C)。

(四) 受試藥劑種類

1. 十七種原體除草劑

以 Haloxypop (甲基合氯氟)、Quizalofop (快伏草)、Alachlor (拉草)、Butachlor (丁基拉草)、Metolachlor (莫多草)、Ametryn (草殺淨)、Atrazine (草脫淨)、Simazine (草滅淨)、2,4-D (2,4-地)、Fluroxypyr (氟氣比)、Pyrazosulfuron-ethyl (百速隆)、Glufosinate (固殺草)、Glyphosate (嘉磷塞)、Bentazone (本達龍)、Liuron (理有龍)、Diuron (達有龍)、Pendimethalin (施得圃) 等，共有十七種除草劑進行青萍 (*Lemna aequinoctialis welwitsch*) 毒性試驗。這十七種除草劑的化學分類及作用機制如附錄 5 (page 76)。

2. 三種成品除草劑

成品除草劑的青萍毒性試驗以嘉磷塞異丙胺鹽(年年春)、丁基拉草、施得圃(斯統普)；嘉磷塞異丙胺鹽(年年春)主要成份為 41% 溶液，類屬甘胺酸類(Glycine derivative)，使用於旱田。丁基拉草主要成份為 32% 乳劑，類屬氯乙醯胺類(Chloroacetamide)，使用於水田、旱田。施得圃(斯統普)主要成份為 34% 乳劑，類屬二硝基苯胺類(Dinitroanilines)，使用於水田、旱田(表 6)。

表 6. 成品除草劑之明細

	產品(英文)	產品普通名	主要成份	劑型	用途
1	Glyphosate	嘉磷塞異丙胺鹽 (年年春)	41%	溶液	旱田
2	Butachlor	丁基拉草	32%	乳劑	水田 旱田
3	Pendimethalin	施得圃 (斯統普)	34%	乳劑	水田 旱田

(五) 受試條件

溫度為 24 ± 1 °C，光照為連續光照 12 hr，黑暗為連續黑暗 12 hr。光照強度為 3,500 - 5,000 lux，每個濃度為 4 重覆，每個樣品為 120 mL 溶液，試驗終點為 4 天及 7 天(表 2)。

(六) 毒性試驗方法

實驗濃度範圍，參考 Pesticide Manual 的 Ecotoxicology 生物毒性試驗的 EC_{50} 濃度，選擇 5~6 個濃度，經 4 天及 7 天後，首先計算出除草劑對青萍的生長抑制程度，再進行不同劑量對青萍的生長抑制試驗。本研究的每一個毒性試驗皆是用於估算 EC_x 值時，至少有一濃度高於或低於 EC_x 值，並至少有三種濃度所得之青萍生長抑制率不等於 0% 及 100%。若待測除草劑難溶於水可使用適當溶劑(如：丙酮)配製高濃度儲備溶液後再稀釋使用。

1. 進行範圍尋找測試

(1) 抑制率不超過 10% 及 100%。

(2) 找出 6 個濃度進行毒性試驗。

2. 實驗工作程序：首先，配製農藥原體為高濃度及稀釋不同濃度的藥劑。配置 1/2 Hogland's 培養液時，先將培養液配製完成，調整 pH 值至 pH 5.5 後，定量成 1L，再分裝至 1L 血清瓶中，先不加藥劑，置於 4°C 冰箱。次日將前一天配好的藥劑及培養液自冰箱取出，回溫至少 2 小時，等待回溫時間即可同步挑選預受試的浮萍。挑選健康無病蟲病的青萍，以三片葉原體為一株，葉片皆為綠色的成熟葉、無白化、黃化。將每瓶培養液的 pH 值再校正確認過後，進行編號(CK 組及低濃度至高濃度)，再依編號分別直接加入 0.5 mL 的不同濃度的藥劑。加

藥完成靜置 15 分鐘後，進行浮萍生長試驗，每個濃度 4 重複 (A、B、C、D)。分別放入挑選好的健康浮萍植株、每個樣品放入 12 葉狀體(每株 3 片葉狀體，共放 4 株浮萍受試)，再蓋上培養皿蓋。將樣品移入已完成設定環境條件的生長箱內，並且每個燒杯杯底套上鋁箔紙來避光，以減少藻類滋生於浮萍根部。更新培養液的時間為每 4 天更新一次培養液。受試終點為 4 天和 7 天。

3. 計數方式為肉眼計數浮萍當日所生長的葉狀體數量，並記錄葉狀體外觀病癥。計數時間為每日固定同一時段來計數每個樣品的生長量直到受試最終日止。

毒性物質 (除草劑)	CK	CK+0.5% 丙酮	濃度 1	濃度 2	濃度 3	濃度 4	濃度 5	濃度 6
樣品	A	A	A	A	A	A	A	A
	B	B	B	B	B	B	B	B
	C	C	C	C	C	C	C	C
	D	D	D	D	D	D	D	D

(七) 數據分析及毒性評估

1. 浮萍倍增時間計算 (Doubling time)

$$T_d = \ln 2 / \mu \quad (\text{Landolt, 1987})$$

T_d：浮萍倍增時間

μ：平均比生長速率

2. 平均比生長速率計算 (Average specific growth rate)

$$\text{平均比生長速率 } \mu_{i-j} = [\ln(N_j) - \ln(N_i)] / t$$

(OECD, 2006)

μ_{i-j} ：由時間 i 到 j 之平均比生長速率

N_i ： i 時間測得之變量(每杯浮萍葉狀體數目)

N_j ： j 時間測得之變量(每杯浮萍葉狀體數目)

t ： i 到 j 時間差

3. 生長速率抑制百分比計算

$$\% Ir = (C - F) / C \times 100\% \quad (\text{OECD, 2006})$$

$\% Ir$ ：抑制百分率(inhibition%)

C ：對照組浮萍增加之葉狀體數

F ：試驗組浮萍增加之葉狀體數

4. Probit 模式，劑量-反應模式

$$Y = A + B \text{ Log } Z \quad (\text{OECD, 2006})$$

$$P = 0.5 \{ 1 + \text{erf} [(Y - 5) / \sqrt{2}] \}$$

Y = Probit 單位，

A 、 B 為劑量-反應曲線之截距與斜率。

Z = 毒性物劑量濃度(mg/L)。

P = 浮萍對毒性物質之反應率(%)。

erf = error function。

5. 濃度-反應曲線(concentration-response curve)EC_x 值計算
(OECD, 2006)

抑制率以標準常態累積分配函數的反函數轉換後與除草劑濃度對數值進行線性迴歸分析(信賴水準 95%)，得到劑量-反應曲線 (dose-response curve) 及 EC₅₀ 值(50% inhibitory concentration)。

6. 由附錄 6 (page 77) 顯示常用十七種藥劑在水域作物中最高推薦使用量，預估該藥劑劑型在水域中的量，即環境中可能存在的量(Estimated environmental concentration, EEC)，計算方式如下：

$$EEC (mg/L) = \frac{\text{最大施用量}(kg) \times 1000 \text{ kg/g} \times 1000 \text{ mg/g}}{\text{水深}(cm) \times \text{每公頃面積} (cm^2) \times 0.001 \text{ l/mL}}$$

各成品藥劑密度以1計；
水稻田水位以3cm計。

7. 風險商數(Risk Quotient, RQ)

$$RQ = EEC / EC_{50}$$

(八) 癥狀觀察記錄

1. 葉狀體的顏色：

綠色(健康)、淺綠色(輕度受損)、黃色(褪綠)、灰褐色(壞死)。

2. 外觀徵狀癥狀：

黃化(yellowing)、白化(chlorosis)、組織壞死 (necrosis)、變形(deformation)、葉狀體分離(colony breakup)及失去浮性(loss of buoyancy)和突起 (gibbosity)等，並觀察浮萍根部受損是否出現生長受抑制或斷裂的現象。

3. 葉的數量：

計算葉片數時，只要肉眼可以看見出完整的生長出來，即使是生長出來的側芽也需要計算為生長數量之參數。

(九) 品質管制

根據美國 APHA 及 EPA 之規範，以浮萍科植物進行水質生物毒性試驗，評估受測浮萍是否健康及浮萍生長試驗結果可接受性的重要依據為：第一為對照組浮萍在 4 天內葉狀體數目需增加達 2 倍以上。第二為白化(chlorosis)葉狀體數目佔總葉狀體數目之比例必須小於 10%。此二項如符合上述二項指標，表示試驗過程中浮萍未受到病、蟲害等危害之影響，若否，則當次試驗結果不予採納。

肆、結果

一、浮萍科植物增生的方式

圖 4 顯示青萍 (*Lemna aequinoctialis*) 的出芽生殖之過程，第一天，在養液中放入青萍(以 3 片葉狀體為一株)，葉背根系只有 1 條根系。第二天，由葉基部開始長出新葉，同時葉背新長出 1 條根系。第三天，基部再長出 3 片新葉，同時此一植株就一分為二，呈現 3 或 4 片葉為一株，根系以 3 片葉為 1 條根，四片葉為 2 條根，此生長情形稱為出芽生殖(無性生殖)。第五天，青萍生長為三株，以 3 至 4 片葉為一株，三片葉狀體為 1 條根系，四片葉狀體為 2 條根系，以此生殖方式持續生長。所以，青萍葉狀體生長 2 倍數量的時間平均約 2 天。

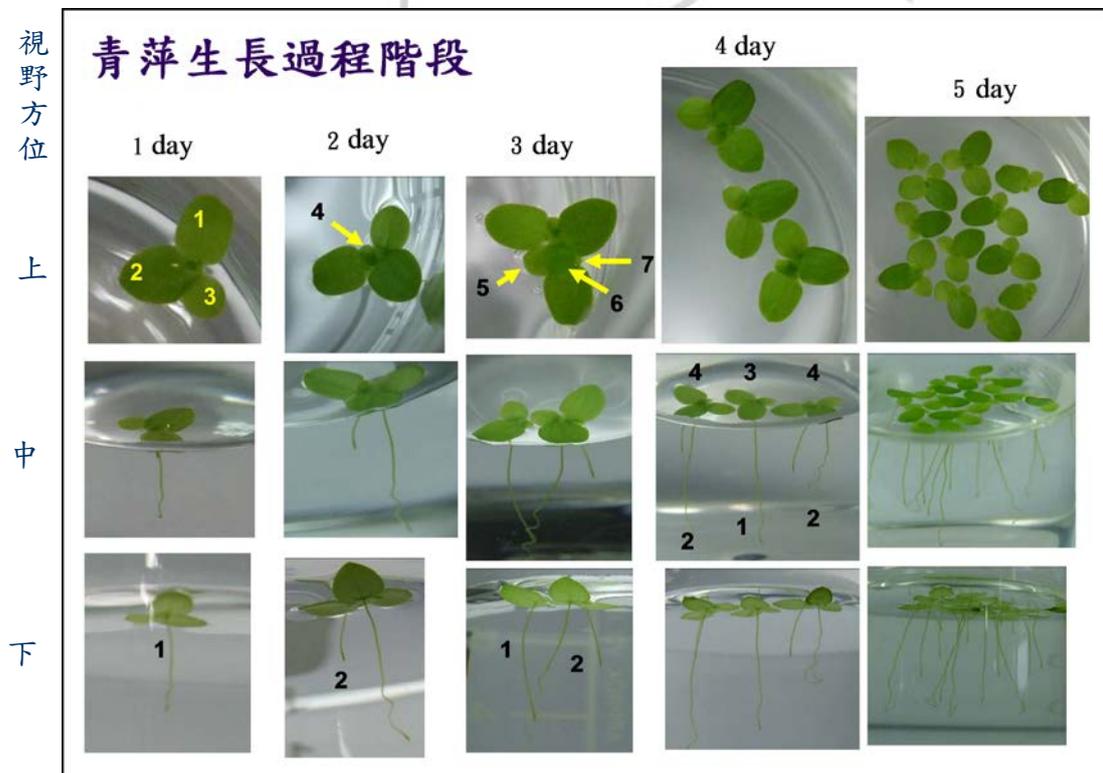


圖 4. 青萍 (*Lemna aequinoctialis*) 在生長增殖的情形

二、培養液之篩選

常見浮萍科植物的培養液有 Hoagland-E 系列及 20X AAP 系列，前者 pH 值為弱酸性 (pH 5.50~5.53) 及後者 pH 值為弱鹼性 (pH 7.5~8.0)，兩種培養液對青萍屬之青萍 (*Lemna aequinoctialis*) 進行生長試驗，其生長狀況如圖 5 所示，培育 7 天後，青萍在 Hoagland 培養液中，葉狀體數目明顯高於 20X AAP 培養液中的青萍。而青萍在 Hoagland-E 培養液及 20X AAP 培養液的葉狀體數目倍增時間(doubling time)分別為 2.2 天及 3.4 天；另從外觀觀察青萍，由圖 6 顯示以 Hoagland-E 培養液中的青萍較為健康，而 20X AAP 培養液中的葉狀體有白化(chlorosis)及黃化(yellowing)現象。生長試驗結果顯示本土青萍 (*Lemna aequinoctialis*) 適合於弱酸性的培養液中生長。

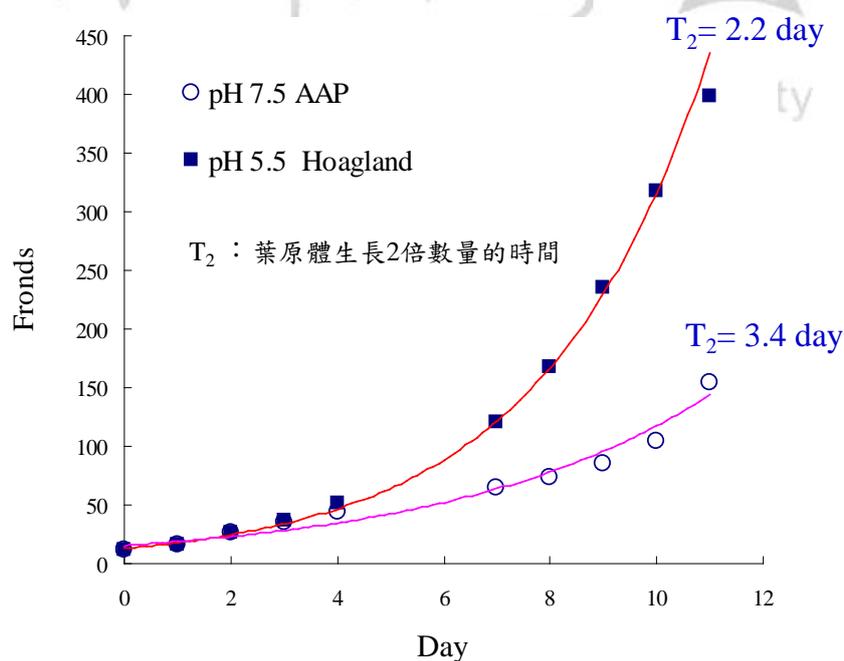


圖 5. 青萍在二種不同培養液，Hoagland 和 AAP 之生長情形

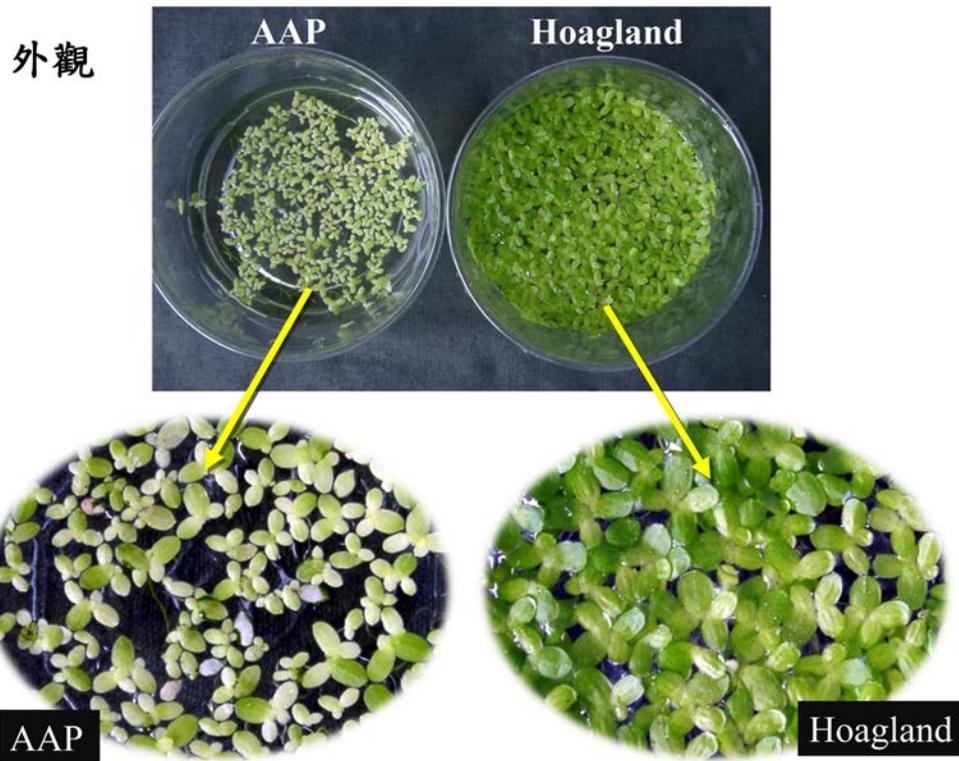


圖 6. 青萍在兩種不同培養液，Hoagland(右)和 AAP(左)七天後的生長情形

三、受試浮萍之篩選

以本土浮萍科植物品種為青萍屬之青萍 (*Lemna aequinoctials*)、斑萍屬紫萍 (*Landoltia punctate*) 及紫萍屬水萍 (*Spirodela polyrhiza*) 在 Hoagland-E 培養液下 (pH 5.5)，其生長試驗結果如圖 7 顯示，青萍 (*Lemna aequinoctials*) 葉狀體數目增殖 2 倍的時間為 2 天，紫萍 (*Landoltia punctate*) 葉狀體數目增殖 2 倍的時間為 2.5 天，水萍 (*Spirodela polyrhiza*) 葉狀體數目增殖 2 倍的時間為 2.4 天；比較三種浮萍葉狀體數目增殖 2 倍的時間，以青萍 (*Lemna aequinoctials*) 葉狀體數目增殖 2 倍的時間最短，表示其生長的速率最快。

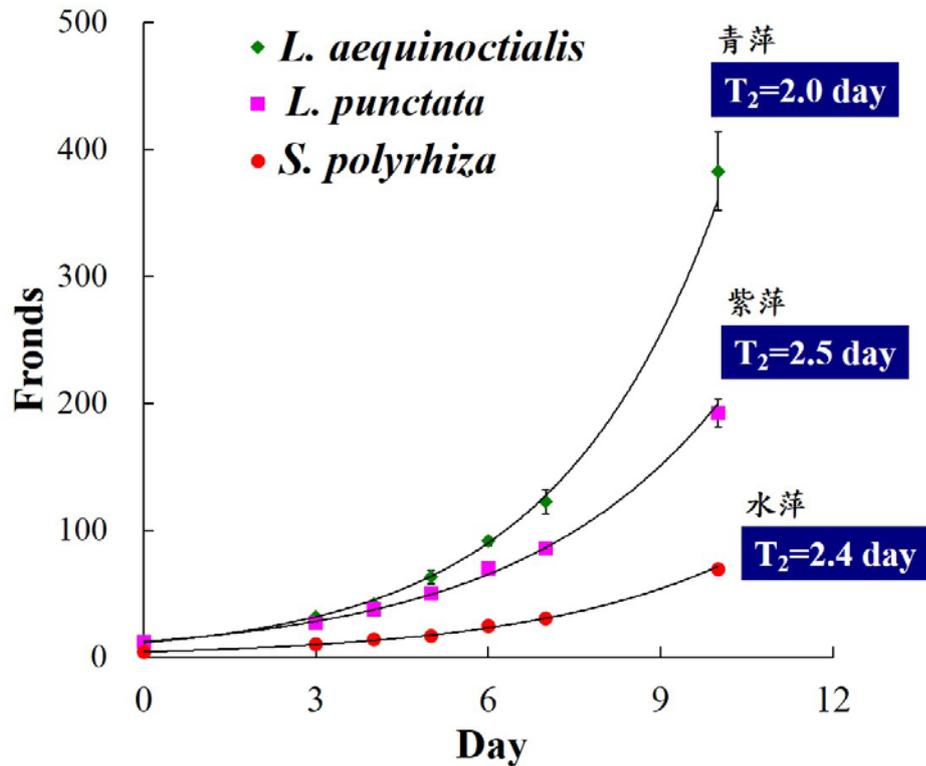


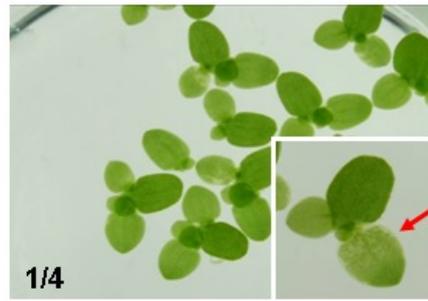
圖 7. 三種浮萍在 Hoagland 培養液之生長情形及倍增時間(T_2)

National Chung Hsing University

四、培養液稀釋濃度之篩選

青萍在不同濃度的培養液中生長，其生長曲線如圖 9 顯示，由 T_2 值(浮萍的葉狀體生長 2 倍數量的時間)來看，以 1/4X 培養液濃度對青萍生長的 T_2 值為 1.8 天，表示生長 2 倍數量的速度最快。其在外觀觀察如圖 8 顯示，發現青萍葉狀體生長不佳，並有組織薄化的癥狀，如此影響毒性試驗外觀判斷的標準，所以，不考慮使用 1/4X 濃度培養液。在 1/2X 和 OR 培養液濃度之 T_2 值為 1.9 天，在外觀觀察葉狀體完全健康，所以，選擇 1/2X 濃度之培養液來培育青萍。

medium	T2 time(day)
1/4X	1.8
1/2X	1.9
OR	1.9
2X	2.0
4X	2.0



組織薄化

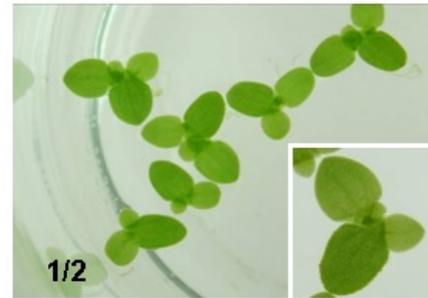
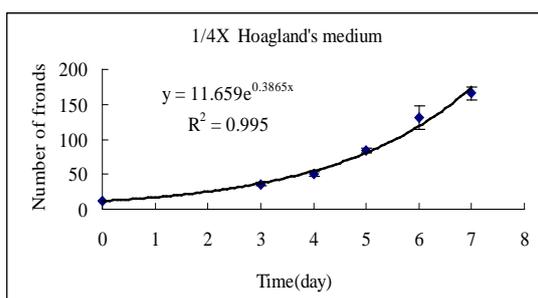
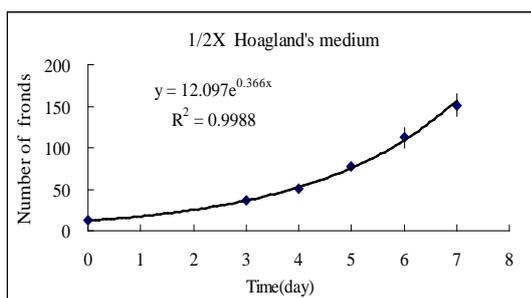


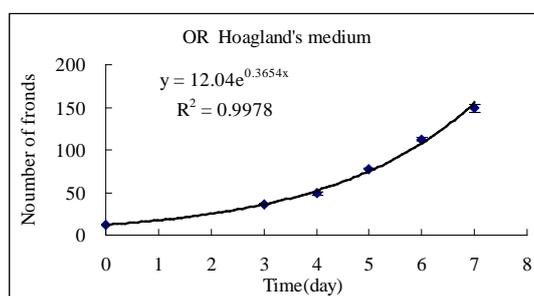
圖 8. 稀釋為 5 種不同濃度的 Hoagland 培養液，觀察不同培養液濃度對青萍葉狀體生長的情形



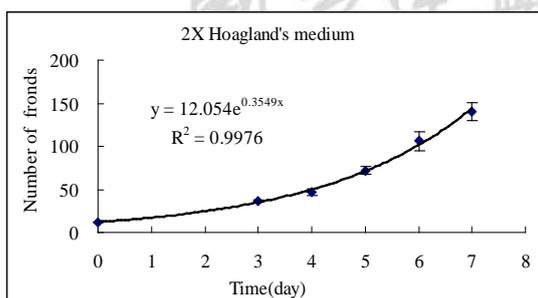
$T_2 = \ln 2 / k = 1.80 \text{ day}$



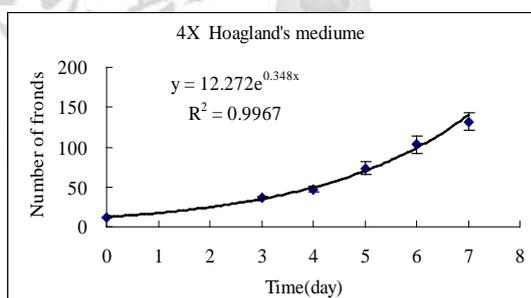
$T_2 = \ln 2 / k = 1.90 \text{ day}$



$T_2 = \ln 2 / k = 1.90 \text{ day}$



$T_2 = \ln 2 / k = 2.0 \text{ day}$

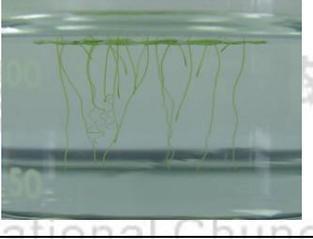
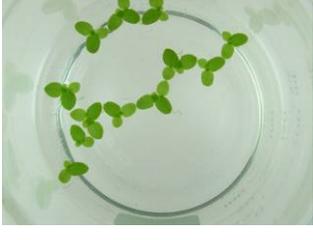


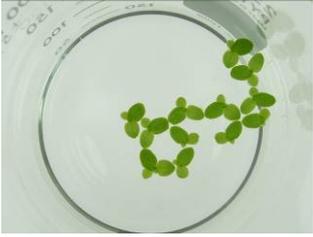
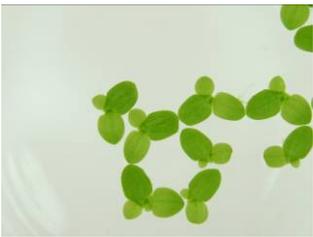
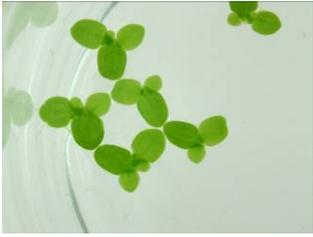
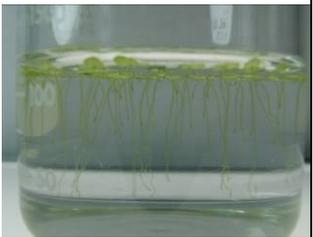
$T_2 = \ln 2 / k = 2.0 \text{ day}$

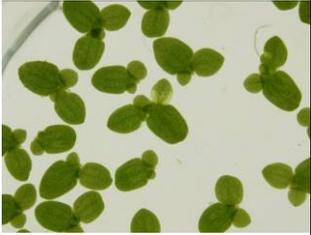
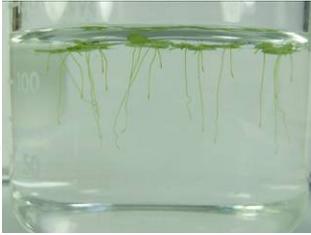
圖 9. 五種不同濃度 Hoagland 培養液下青萍的生長曲線

由表 3 顯示不同濃度的培養液，對青萍的生長速度及葉狀體外觀觀察，在觀察根系生長情形，在不同濃度培養液下生長，並無因培養液濃度的差異而抑制伸長。

表 3. 青萍在五種不同濃度培養液下，生長速度及外觀表現之情形

時間 稀釋倍數		3 天	4 天	7 天
		1/4X	FronD	
				
	Root			
1/2X	FronD			
				
	Root			

時間 稀釋倍數		3 天	4 天	7 天
		OR	FronD	
				
	Root			
2X	FronD			
				
	Root			

時間 稀釋倍數		3 天	4 天	7 天
		4X	Fron	
				
	Root			

National Chung Hsing University

五、十七種除草劑在國內水域環境中推薦之使用量

在台灣農民的常用除草劑在田間推廣使用的劑型多達 7 種 (如附錄 3, page 74), 有可濕性粉劑、水分散性粒劑、水懸劑、乳劑、粒劑、溶液、片劑等, 推廣使用的作物種類有多達 5 大類, (如: 水稻插秧(前、中、後期)、果樹作物、蔬菜作物、特用作物、雜糧作物)。在水域中的使用形式以粒劑使用量最大, 例如: 丁基拉草 5% 粒劑, 每公頃最大使用量為 40 Kg。

六、原體除草劑對青萍之毒性試驗

對照組青萍 (*Lemna aequinoctialis*) 的培養必須在 4 天內葉狀體數目增加達 2 倍以上，且白化 (chlorosis) 之葉狀體數目佔總葉狀體數目之比例必須小於 10 %。此外，對照組在 4 天時青萍葉狀體生長總數量至少達 40~50 片，以及第 7 天青萍葉狀體生長總數量至少達 125~160 片，C.V. 值 (Coefficient of Variation) 在 15% 以內，顯示試驗前後青萍生長狀況正常穩定。

表 4. 為原體除草劑對青萍之 4 天、7 天的 EC_{50} 值及線性迴歸分析，結果顯示不論 4 天或 7 天的劑量-反應曲線其 R^2 均大於 0.90 且 p 值 < 0.05 ，顯示原體除草劑濃度與青萍毒性試驗反應間具有顯著的線性關係。

青萍在原體除草劑毒性試驗後之危害癥狀比較，癥狀類型包括—黃化、白化、組織壞死、變形、皺折、隆起、根損壞等。在硫醯脲類 (Sulfonylurea) 的除草劑中，百速隆 (Pyrazosulfuron) 對青萍之 4 天及 7 天 EC_{50} 值分別為 $0.2 \mu\text{g/L}$ 及 $0.14 \mu\text{g/L}$ ，在癥狀方面由表 5、圖 11 顯示，百速隆對青萍會造成黃化、隆起、根受損，黃化現象由葉的基部開始，新葉較為嚴重，成熟葉維持綠色，隆起現象為葉狀體中間部位會突出於水面，而葉緣維持於水面上，而成為隆起現象，另外，根部生長也受影響。

在三嗪類 (Traizine) 的除草劑中，草脫淨 (Atrazine) 對青萍之 4 天及 7 天 EC_{50} 值分別為 $114 \mu\text{g/L}$ 及 $60.8 \mu\text{g/L}$ ，草滅淨 (Simazine) 對青萍之 4 天及 7 天 EC_{50} 值分別為 $167 \mu\text{g/L}$ 及 $90.1 \mu\text{g/L}$ ，草殺淨 (Ametrazine) 對青萍之 4 天及 7 天 EC_{50} 值分別為 $12.2 \mu\text{g/L}$ 及 $4.49 \mu\text{g/L}$ ，在癥狀方面，三嗪類 (Traizine) 的除草劑對青萍會造成黃化、根損壞，黃化現象。由整體葉狀體明顯比對照組

表 4. 青萍 (*Lemna aequinoctialis*)對十七種原體除草劑之劑量-反應曲線及 EC₅₀ 值

Herbicides	Conc. (%)	Duration (day)	EC ₅₀ ppb	Dose-response curve	R ²
			(μg/L)		
Pyrazosulfuron	97.0%	4	0.20(0.17~0.24)	Y=1.5579Log(X)+1.0982	0.96
百速隆		7	0.14(0.12~0.17)	Y=1.7385Log(X)+1.5018	0.96
Diuron	97.5%	4	9.02(8.11~10.3)	Y=2.2938Log(X)-2.1912	0.99
達有龍		7	5.68(5.21~6.88)	Y=2.1099Log(X)-1.5918	0.98
Liuron	99.5%	4	15.1(14.5~18.1)	Y=1.9978Log(X)-2.3552	0.97
理有龍		7	11.2(10.6~12.2)	Y=2.1332Log(X)-2.2414	0.99
Butachlor	98.0%	4	35.6(26.8~37.8)	Y=1.8817Log(X)+2.7342	0.92
丁基拉草		7	14.9(13.4~17.5)	Y=1.8410Log(X)+3.3625	0.97
Alachlor	99.5%	4	65.4(51.5~73.8)	Y=1.4715Log(X)-2.6710	0.96
拉草		7	24.3(22.5~26.6)	Y=1.8400Log(X)-2.5502	0.97
Metolachlor	98.0%	4	158 (131~173)	Y=2.0718Log(X)-4.5578	0.94
莫多草		7	68.8(61.6~74.6)	Y=1.9260Log(X)-3.5386	0.96
Ametryn	99.5%	4	12.2(10.6~13.8)	Y=1.6360Log(X)-1.7783	0.98
草殺淨		7	4.49(4.06~5.08)	Y=1.7691Log(X)-1.1536	0.98
Atrazine	98.0%	4	114 (106~122)	Y=2.2644Log(X)-4.6577	0.98
草脫淨		7	60.8(57.6~64.7)	Y=2.1604Log(X)-3.8538	0.99
Simazine	98.0%	4	167 (158~196)	Y=1.8413Log(X)-4.0905	0.97
草滅淨		7	90.1 (79.0~100)	Y=1.7931Log(X)-3.5049	0.98
Pendimethalin	98.0%	4	120 (58.6~161)	Y=1.1447Log(X)-2.3801	0.92
施得圃		7	23.0(20.0~29.1)	Y=1.8071Log(X)-2.4606	0.95

% Inhibition = (C - T) / C x 100%, (續)

C: fronds increase in control, T: fronds increase in test samples.

Dose response curve is determined by Probit model,

Y= Probit (%In), X=herbicide conc.

Numbers in parentheses represent 4day EC₅₀ with 95% confidence intervals

NOEC value determined by Dunnett's test (p ≤ 0.05)

(續)

表 4. 青萍 (*Lemna aequinoctialis*)對十七種原體除草劑之劑量-反應曲線及 EC₅₀ 值

Herbicides	Conc. (%)	Duration (day)	EC ₅₀ ppm	Dose-response curve	R ²
			(mg/L)		
Bentazone 本達龍	97.0%	4	1.87(1.64~1.97)	Y=4.7959Log(C)-15.6893	0.96
		7	1.09(1.01~1.17)	Y=3.9192Log(C)-11.9069	0.98
Glufosinate 固殺草	97.0%	4	1.91(1.83~1.95)	Y=4.7254Log(C)-1.3255	0.97
		7	1.42(1.27~1.52)	Y=5.8074Log(C)-0.8882	0.94
2,4-D 2-4 地	99.0%	4	12.5(4.62~16.46)	Y=0.8012Log(C)-3.2812	0.93
		7	2.28(2.19~2.56)	Y=1.5411Log(C)-5.1740	0.97
Glyphosate 嘉磷塞	98.0%	4	25.3(23.5~27.6)	Y=2.3904Log(C)-3.3539	0.93
		7	19.6(18.7~20.5)	Y=3.0589Log(C)-3.9540	0.97
Haloxypfop 甲基合氯氟	97.0%	4	≥ 50	-	-
		7	≥ 50	-	-
Quizalofop 快伏草	98.0%	4	≥ 50	-	-
		7	≥ 50	-	-
Fluroxypyr 氟氣比	99.0%	4	≥ 50	-	-
		7	≥ 50	-	-

% Inhibition = (C - T) / C x 100%,

C: fronds increase in control, T: fronds increase in test samples.

Dose response curve is determined by Probit model,

Y= Probit (%In), X=herbicide conc.

Numbers in parentheses represent 4day EC₅₀ with 95% confidence intervals

NOEC value determined by Dunnett's test (p ≤ 0.05)

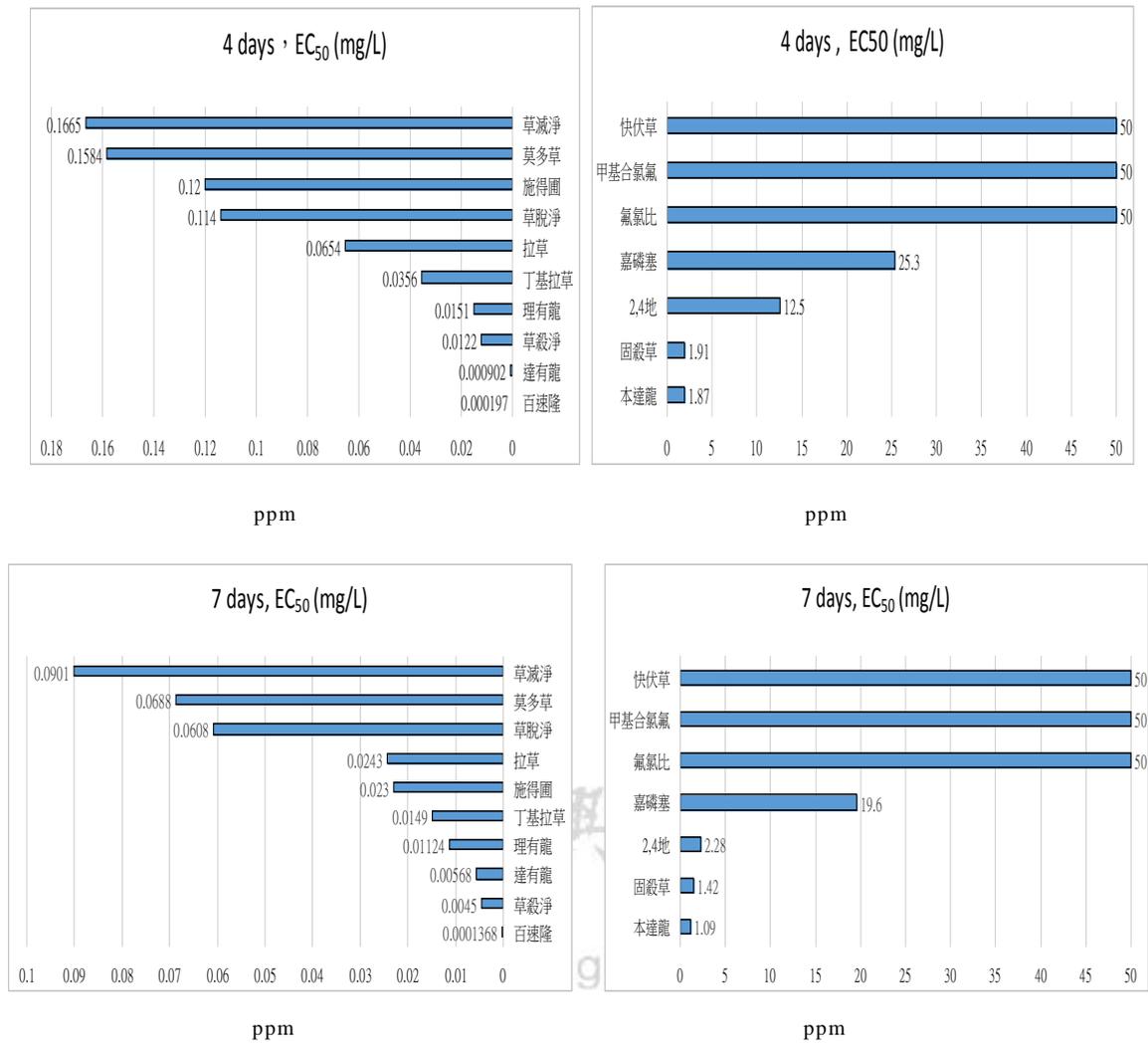


圖 10. 青萍 (*Lemna aequinoctialis*) 對十七種原體除草劑之 EC₅₀ 值之比較

表 5. 青萍 (*Lemna aequinoctialis*) 受十一種原體除草劑 EC₅₀ 劑量之危害癥狀

化學分類	除草劑	Conc. (%)	EC ₅₀ (ug/L)		黃化	白化	組織壞死	變形	皺折	突起	根損壞
			4day	7day							
硫醯脲類	百速隆	97.0%	0.2	0.14	+					+	+
三嗪類	草脫淨	98.0%	114	60.8	+						+
	草滅淨	98.0%	167	90.1	+						+
	草殺淨	99.5%	12.2	4.49	+						+
氯乙醯胺類	丁基拉草	98.0%	35.6	14.9	+		+				+
	拉草	99.5%	65.4	24.3	+		+				+
	莫多草	98.0%	158	68.8	+		+				+
二硝基苯胺類	施得圃	98.0%	120	23.0			+				+
化學分類	除草劑	Conc. (%)	EC ₅₀ (mg/L)		黃化	白化	組織壞死	變形	皺折	突起	根損壞
			4day	7day							
苯氧羧酸類	2,4-D	99.0%	12.5	2.28	+		+	+	+	+	
甘胺酸類	嘉磷塞	98.0%	25.3	19.6	+	+					+
吡啶羧酸類	氟氣比	99.0%	≥ 50	≥ 50						+	

葉狀體顏色為黃，呈黃綠色，根部生長也被抑制。

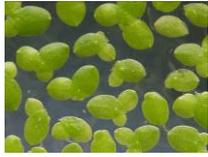
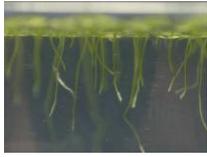
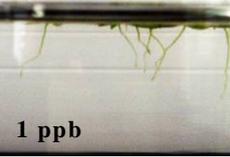
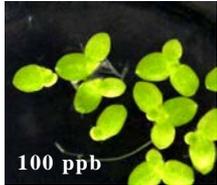
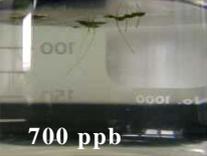
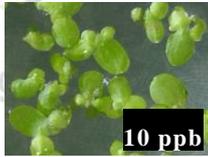
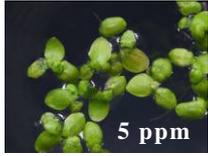
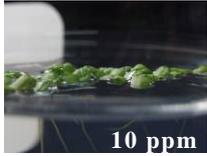
在氯乙醯胺類 (Chloroacetamide) 的除草劑中，丁基拉草 (Butachlor) 對青萍之 4 天及 7 天 EC₅₀ 值分別為 35.6 μg/L 及 14.9 μg/L，拉草 (Alachlor) 對青萍之 4 天及 7 天 EC₅₀ 值分別為 65.4 μg/L 及 24.3 μg/L，莫多草 (Metolachlor) 對青萍之 4 天及 7 天 EC₅₀ 值分別為 158 μg/L 及 68.8 μg/L，在癥狀方面，氯乙醯胺類 (Chloroacetamide) 的除草劑對青萍會造成黃化、組織壞死、根受

損，黃化現象主要以成熟葉較為嚴重，組織壞死現象主要以抑制新葉生長，而使新葉呈現水漬狀的情形，另根部會抑制生長。

在苯氧羧酸類 (Phenoxyacetic acid) 的除草劑中，2,4-D 對青萍之 4 天及 7 天 EC_{50} 值分別為 12.5 mg/L 及 2.28 mg/L，在癥狀方面 2,4-D 對青萍會造成黃化、組織壞死、皺折、隆起、變形，黃化現象主要以成熟葉較為嚴重，組織壞死現象主要以抑制新葉生長，而使新葉呈現水漬狀的情形，皺折現象在葉表面上呈現凹凸不平的皺折狀，隆起現象為葉狀體中間部位會突出於水面，而葉緣維持於水面上，而成為隆起現象，變形現象為葉狀體是呈長形而垂直方向生長於水中，並不是於水面平坦生長。

在甘氨酸類 (Glycine) 的除草劑中，嘉磷塞 (Glyphosate) 對青萍之 4 天及 7 天 EC_{50} 值分別為 25.3 mg/L 及 19.6 mg/L，在癥狀方面嘉磷塞對青萍會造成黃化、白化、根受損，黃化現象主要以新葉較為嚴重，白化現象為隨著濃度增加葉狀體會呈現白化，根部也抑制生長。在吡啶羧酸類 (Pyridinecarboxylic acid) 的除草劑中，氟氯比 (Fluroxypyr) 對青萍之 4 天及 7 天 EC_{50} 值都為 50 mg/L 以上，青萍的生長沒有受到抑制，特別的是葉狀體會有突起現象之癥狀，為葉狀體中間部位會突出於水面，而葉緣維持於水面上，而成為突起現象。

本試驗以青萍生長抑制的程度(4天及7天之曝露時間)來評估除草劑之毒性；由圖 10 結果顯示，百速隆對青萍毒性最強，草殺淨為次之，氟氯比、甲基合氯氟、快伏草對青萍具低毒性，及 2,4 地、嘉磷塞對青萍具輕毒性；其餘各原體除草劑對青萍均具劇毒性或中等毒性。

農藥化學分類	除草劑	癥狀描述	癥狀圖	
-	對照組	-		
Sulfonylurea 硫醯脲類	Pyrazo-sulfuron 百速隆	黃化 隆起 根受損		
Traizine 三嗪類	Atrazine 草脫淨	黃化 根損壞		
Traizine 三嗪類	Simazine 草滅淨	黃化 根損壞		
Chloroacetamide 氯乙醯胺類	Butachlor 丁基拉草	黃化 組織壞死		
Chloroacetamide 氯乙醯胺類	Alachlor 拉草	黃化 組織壞死		
Chloroacetamide 氯乙醯胺類	Metolachlor 莫多草	黃化 白化 組織壞死 根受損		
Phenoxycarbo xylic acid 苯氧羧酸類	2,4-D	黃化 組織壞死 皺折 隆起		

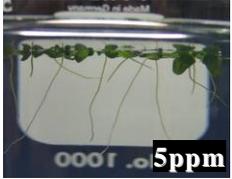
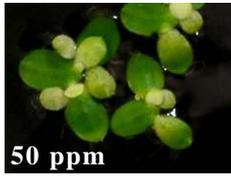
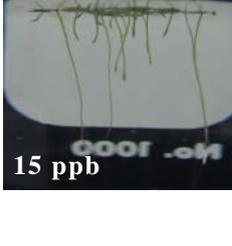
Phenoxy-carboxylic acid 苯氧羧酸類	2,4-D	變形 根受損	 5 ppm	 5ppm
Glycine 甘胺酸類	Glyphosate 嘉磷塞	黃化 白化 根受損	 50 ppm	 20ppm
Pyridine-carboxylic acid 吡啶羧酸類	Fluroxypyr 氟氯比	隆起	 1ppm	
Dinityoaniline 二硝基苯胺類	Pendimethalin 施得圃	組織壞死 根受損	 15 ppb	 15 ppb

圖 11. 青萍 (*Lemna aequinoctialis*) 受十一種原體除草劑危害之癥狀

七、成品除草劑對青萍之毒性試驗

在成品除草劑對本土青萍在除草劑毒性試驗中，丁基拉草 (Butachlor) 對青萍之 4 天及 7 天 EC_{50} 值分別為 0.08 mg/L 及 0.03 mg/L(表 6)，在癥狀方面，丁基拉草對青萍會造成組織壞死、根受損現象，葉片顏色為黃色及黃綠色，另外，根部也被抑制伸長(表 7、圖 12)。嘉磷塞 (Glyphosate) 對青萍之 4 天及 7 天 EC_{50} 值分別為 12.2 mg/L 及 7.9 mg/L(表 6)，在癥狀方面，嘉磷塞對青萍會造成葉片白化、組織壞死、根受損現象，以成熟葉為嚴重，根部也被抑制伸長(表 7、圖 12)。施得圃 (Pendimeth) 對青萍之 4 天及 7 天 EC_{50} 值分別為 0.047 mg/L 及 0.026 mg/L(表 6)，在癥狀方面，施得圃對青萍會造成葉片顏色為黃色及黃綠色、組織壞死(抑制新葉生長，新葉呈水漬狀)、突起(基部突出於水面)(表 7、圖 12)。

National Chung Hsing University

表 6. 青萍 (*Lemna aequinoctialis*) 對三種成品除草劑之劑量-反應曲線及 EC_{50} 值

Herbicides	Conc. (%)	Duration (day)	EC ₅₀ ppm	Dose-response curve	R ²
			(mg/L)		
Butachlor	32%	4	0.08(0.06~0.11)	Y=1.1733Log(C)+1.2856	0.96
丁基拉草		7	0.03(0.03~0.16)	Y=1.2173Log(C)+1.8771	0.91
Glyphosate	41%	4	12.2 (11.8~12.7)	Y=2.8773Log(C)-3.13.2	0.99
嘉磷塞		7	7.9 (7.6~8.5)	Y=3.5183Log(C)-3.1685	0.98
Pendimeth	34%	4	0.047(0.038~0.054)	Y=1.9202Log(C)+2.5445	0.97
施得圃		7	0.026(0.02~0.029)	Y=2.6699Log(C)+4.2544	0.94

表 7. 青萍 (*Lemna aequinoctialis*) 受三種成品除草劑 EC₅₀ 劑量之危害癥狀

化學分類	除草劑	Conc. (%)	EC ₅₀ (mg/L)		黃化	白化	組織壞死	變形	皺折	突起	根損壞
			4 day	7 day							
氯乙醯胺類	丁基拉草	32%	0.08	0.03			+				+
甘胺酸類	嘉磷塞	41%	12.2	7.9		+	+				+
二硝基苯胺類	施得圃	34%	0.047	0.026			+			+	+

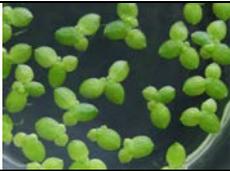
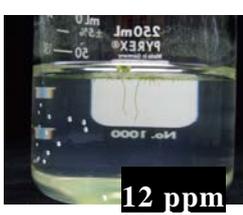
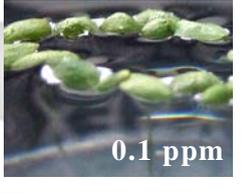
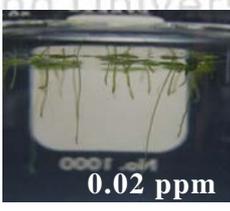
農藥化學分類	除草劑	癥狀描述	癥狀圖	
	對照組	-		
氯乙醯胺類	Butachlor 丁基拉草	組織壞死 根損壞	 0.5 ppm	 0.25 ppm
甘胺酸類	Glyphosate 嘉磷塞	白化 組織壞死 根損壞	 12 ppm	 12 ppm
二硝基 苯胺類	Pendimeth 施得圃	組織壞死 突起 根損壞	 0.1 ppm	 0.1 ppm
			 0.02 ppm	

圖 12. 青萍 (*Lemna aequinoctialis*) 受三種成品除草劑危害之癥狀

八、除草劑的原體及成品對青萍 EC₅₀ 值之比較

本論文結果以丁基拉草、嘉磷塞、施得圃的原體及成品除草劑對青萍 EC₅₀ 值的濃度作比較如表 8 所示，丁基拉草的原體及成品藥劑對青萍 EC₅₀ 值的濃度中，原體藥劑對青萍的毒性比成品藥劑對青萍的毒性較為敏感；嘉磷塞的原體及成品藥劑對青萍 EC₅₀ 值濃度中，成品藥劑對青萍的毒性較原體藥劑對青萍的毒性較為敏感；施得圃的原體藥劑與成品藥劑對青萍毒性之比較，在 4 天 EC₅₀ 值的濃度中，成品藥劑的毒性比原體藥劑的毒性較為敏感，另外，在 7 天 EC₅₀ 值的濃度中，原體及成品之兩種藥劑濃度對青萍之毒性是一致性的。所以，成品除草劑所含的添加物質對青萍會造成毒性之潛在風險。

表 8. 原體與成品除草劑對青萍 EC₅₀ 值之比較

Pesticides	Conc. (%)	Toxicity Value (mg/L)	
		(4 day, EC ₅₀)	(7 day, EC ₅₀)
Butachlor (丁基拉草)	98%	0.0356	0.0149
	32%	0.08	0.03
Glyphosate (嘉磷塞)	98%	25.3	19.6
	41%	12.2	7.9
Pendimethalin (施得圃)	98%	0.12	0.023
	34%	0.047	0.026

九、成品除草劑在水域環境中可能存在的濃度與原體除草劑對青萍抑制率(%)的濃度之比較

本論文結果，成品除草劑在水域環境中可能存在的濃度 (estimated environmental concentration, EEC) 與原體除草劑對青萍的抑制率(%)濃度之比較。以嘉磷塞、丁基拉草、施得圃三種除草劑之水域環境中推薦使用量的濃度分別為 6.33 mg/L、5.73 mg/L、2.22 mg/L，經 4 天及 7 天的生長抑制試驗，其對青萍之生長抑制率(%)如表 9 所示，三種成品體除草劑對青萍之生長抑制試驗結果，再比對原體除草劑對青萍之抑制率(%)為多少濃度。

表 9. 成品除草劑在水域環境中可能存在的濃度與原體除草劑對青萍抑制率(%)的濃度之比較

Pesticides	Conc. (%)	4 day		毒性	7 day		毒性
		(mg/L)	In%		(mg/L)	In%	
Glyphosate 嘉磷塞	41%	6.33	3.1%	-	6.33	35.5%	敏感
	98%	10	13.5%	敏感	13 15	25.5% 40.7%	-
Butachlor 丁基拉草	32%	5.73	74%	-	5.73	90.0%	-
	98%	0.1	72.6%	敏感	0.1	90%	敏感
Pendimethalin 施得圃	34%	2.22	53.1%	-	2.22	84.7%	敏感
	98%	0.196	54.4%	敏感	78.4	86.8%	-

嘉磷塞在 4 天及 7 天對青萍的生長抑制試驗中，在水域環境中可能存在的濃度 (estimated environmental concentration, EEC) 為 6.33 mg/L，對青萍生長抑制率(%)分別為 3.1%及 35.5%，再比對原體除草劑對青萍 4 天及 7 天的生長抑制率(%)分別為 13.5%

及 25.5% ~ 40.7% 之間，其濃度為 10 mg/L 及 13~15 mg/L；比對結果如表 9 所示，在 4 天的生長抑制試驗中，原體藥劑濃度比 EEC 的濃度來得低，其對毒性的敏感度較高。在 7 天的生長抑制試驗中，EEC 的濃度比原體藥劑濃度來得低，其對毒性的敏感度較高。

丁基拉草在 4 天及 7 天對青萍之生長抑制試驗中，在水域環境中可能存在的濃度 (estimated environmental concentration, EEC) 為 5.73 mg/L，對青萍 4 天及 7 天的生長抑制率(%)分別為 74% 及 90%，再比對原體除草劑對青萍 4 天及 7 天的生長抑制率(%)分別為 72.6% 及 90%，而兩者濃度的抑制率為 0.1 mg/L，如表 9 所示，此藥劑在相同抑制率(%)之濃度，以原體藥劑濃度比 EEC 的濃度來得低，其對毒性的敏感度較高。

施得圃在 4 天及 7 天對青萍之生長抑制試驗中，在水域環境中可能存在的濃度 (estimated environmental concentration, EEC) 為 2.22 mg/L，對青萍 4 天及 7 天的生長抑制率(%)為 53.1% 及 84.7%，再比對原體藥劑在 4 天及 7 天生長抑制率(%)為 54.4% 及 86.8%，而兩者濃度抑制濃度為 0.196 mg/L 及 78.4 mg/L，如表 9 顯示，在相同抑制率(%)下，在 4 天的生長抑制試驗中，原體藥劑濃度比 EEC 的濃度來得低，其對毒性的敏感度較高；在 7 天生長抑制試驗中，EEC 的濃度比原體藥劑的濃度較低，其對毒性的敏感度較高。

結果可知，即使環境中的推薦用量條件下，也有可能對水生生物造成毒害的潛在危險之影響。

十、七種除草劑對本土青萍 (*Lemna aequinoctialis*) 與國外常用水生生物之毒性試驗結果比較

七種除草劑(草殺淨、草脫淨、丁基拉草、氟氣比、莫多草、快伏草、草滅淨)，對本土青萍與國外文獻常用水生生物物種之毒性試驗結果比較(表 10)，由 EC₅₀ 值可顯示，藻類的毒性反應濃度比青萍較敏感的除草劑有草殺淨及草滅淨；鯉魚的毒性反應濃度比青萍、吳郭魚較敏感的除草劑有嘉磷塞。

青萍的毒性反應濃度比藻類、吳郭魚、草魚、泥鰱、鰻魚、淡水長腳大蝦、白鯰、斑馬魚等較敏感的除草劑有丁基拉草；青萍的毒性反應濃度比 *L. minor*、*L. gibba* 較敏感的除草劑有莫多草；青萍的毒性反應濃度比吳郭魚、泥鰱、鯉魚較敏感的除草劑有 2,4 地。另外，草脫淨、氟氣比、快伏草對青萍及藻類的毒性反應濃度具有一致性。

經由比較結果可得知，沒有任何一種水生生物能代表毒性反應最為敏感，但本土青萍在常用除草劑之毒性反應濃度都有顯著之效應。

表 10. 本土青萍 (*L. aequinoctialis*) 與國外常用水生生物之除草劑毒性試驗結果比較

Pesticides	Species	test duration (day)	EC ₅₀ (mg/L)	Ref.
Ametryn (草殺淨)	<i>L. aequinoctialis</i>	4day	0.0122	
	<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	4day	0.0003	2
	<i>L. aequinoctialis</i>	7day	0.0045	
	<i>Scenedesmus capricornutum</i>	7day	0.0036	1
Atrazine (草脫淨)	<i>L. aequinoctialis</i>	4day	0.114	
	<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	4day	0.145	2
	<i>Scenedesmus capricornutum</i>	4day	0.13	1
Butachlor (丁基拉草)	<i>L. aequinoctialis</i>	4day	0.0356	
	<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	4day	3.63	2
	Tilapia	4day	0.857	5
	Grass carp	4day	0.2083	5
	Loach	4day	0.357	5
	Eel	4day	<0.25	5
	<i>Macrobranchium rosenbergii</i>	4day	7.708	5
	<i>Hypophthalmichthys molitrix</i>	4day	0.134	6
	<i>Brachydanio rerio</i>	4day	0.49	7
Fluroxypyr (氟氣比)	<i>L. aequinoctialis</i>	4day	≥51	
	<i>Scenedesmus capricornutum</i>	4day	101	1
Metolachlor (莫多草)	<i>L. aequinoctialis</i>	4day	0.1584	
	<i>L. minor</i>	4day	0.343	4
	<i>Scenedesmus subspicatus</i>	4day	0.1	1
	<i>L. aequinoctialis</i>	7day	0.0688	
	<i>L. gibba</i>	7day	0.546	3
Quizalofop (快伏草)	<i>L. aequinoctialis</i>	4day	≥50	
	<i>Scenedesmus pannonicus</i>	4day	>3.2	1
Simazine (草滅淨)	<i>L. aequinoctialis</i>	4day	0.1665	
	<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	4day	0.082	2
2,4-D (2,4地)	<i>L. aequinoctialis</i>	4day	12.5	
	Tilapia	4day	87.5	5
	Loach	4day	36.111	5
	Common carp	4day	50	5
Glyphosate (嘉磷塞)	<i>L. aequinoctialis</i>	4day	25.3	
	Tilapia	4day	7.382	5
	Common carp	4day	4.978	5

Ref.

^{1.} Tomlin, 2002

^{2.} 馬建義, 2000

^{3.} Day, 1996

^{4.} Fairchild, 1997

^{5.} 林天生等人, 1990

^{6.} 范立民等人, 2005

^{7.} 常菊花, 2012

十一、十七種常用除草劑水域中推薦用量對青萍的風險評估及危險商數

在表 11 顯示，17 種原體除草劑中，百速隆對青萍毒性最強，草殺淨次之，除了氟氣比、甲基合氣氟、快伏草對青萍具低毒性 (toxicity criteria = IV) 外，另有 2,4-D、嘉磷塞此二種原體除草劑對青萍均具輕毒性 (toxicity criteria = III)，其餘各原體除草劑對青萍均具劇毒性或中等毒性 (toxicity criteria = I or II)。

表 11. 十七種常用除草劑水域中推薦用量對青萍的風險評估

Pesticides	Conc. (%)	Toxicity Value(mg/L)		EEC (mg/L)	Toxicity Criteria ¹⁾	Risk Assessment ²⁾
		(4 day, EC ₅₀)	(7 day, EC ₅₀)			
Alachlor (拉草)	99.5	0.0654	0.0243	7.52	I	D
Ametryn (草殺淨)	99.5	0.0122	0.0045	6.25	I	D
Atrazine (草脫淨)	98.0	0.114	0.0608	10.00	I	D
Bentazone (本達龍)	97.0	1.87	1.09	4.41	II	D
Butachlor (丁基拉草)	98.0	0.0356	0.0149	5.73	I	D
2,4-D-sodium salt monohydrate	99.0	12.5	2.28	8.00	III	S
Diuron (達有龍)	97.5	0.000902	0.00568	8.00	I	D
Fluroxypyr-1-methylheptylester (氟氣比)	99.0	≥ 50	≥ 50	1.48	IV	S
Glufosinate ammonium (固殺草)	97.0	1.91	1.42	2.25	II	D
Glyphosate (嘉磷塞)	98.0	25.3	19.6	6.33	III	S
Haloxyfop-2-ethoxyethyl (甲基合氣氟)	97.0	≥ 50	≥ 50	0.35	IV	S
Linuron (理有龍)	99.5	0.0151	0.01124	1.67	I	D
Metolachlor (莫多草)	98.0	0.1584	0.0688	8.33	I	D
Quizalofop (快伏草)	98.0	≥ 50	≥ 50	0.33	IV	S
Pendimethalin (施得圃)	98.0	0.12	0.023	2.22	I	D
Pyrazosulfuron-ethyl (百速隆)	97.0	0.000197	0.0001368	0.17	I	D
Simazine (草滅淨)	98.0	0.1665	0.0901	6.25	I	D

1) Toxicity Criteria:

Toxicity classification	Acute toxicity to freshwater fish LC ₅₀ (4 day)	Acute toxicity to freshwater invertebrate EC ₅₀ (48hr)
High toxicity I	≤ 1mg/l	≤ 1mg/l
Middle toxicity II	> 1 - ≤ 10mg/l	> 1 - ≤ 10mg/l
Light toxicity III	> 10 - ≤ 100mg/l	> 10 - ≤ 100mg/l
Low toxicity IV	> 100mg/l	> 100mg/l

2) Risk Assessment:

D: 即使在推薦的使用條件下，對水生生物也有潛在危險。

S: 在推薦條件下對水生生物是安全的。

依各除草劑在水域中最大推薦用量，估算水域環境中可能存在的濃度(estimated environmental concentration, EEC) (其中水稻中的水深以 3 cm 計)，針對各不同劑型農藥在推薦用量下對青萍的安全進行風險評估(risk assessmetnt)，結果亦只有 2,4-D(99%)、氟氯比(99%)、嘉磷塞(98%)、甲基合氯氟(97%)、快伏草(98%)在推薦用量下對水生生物是安全的。

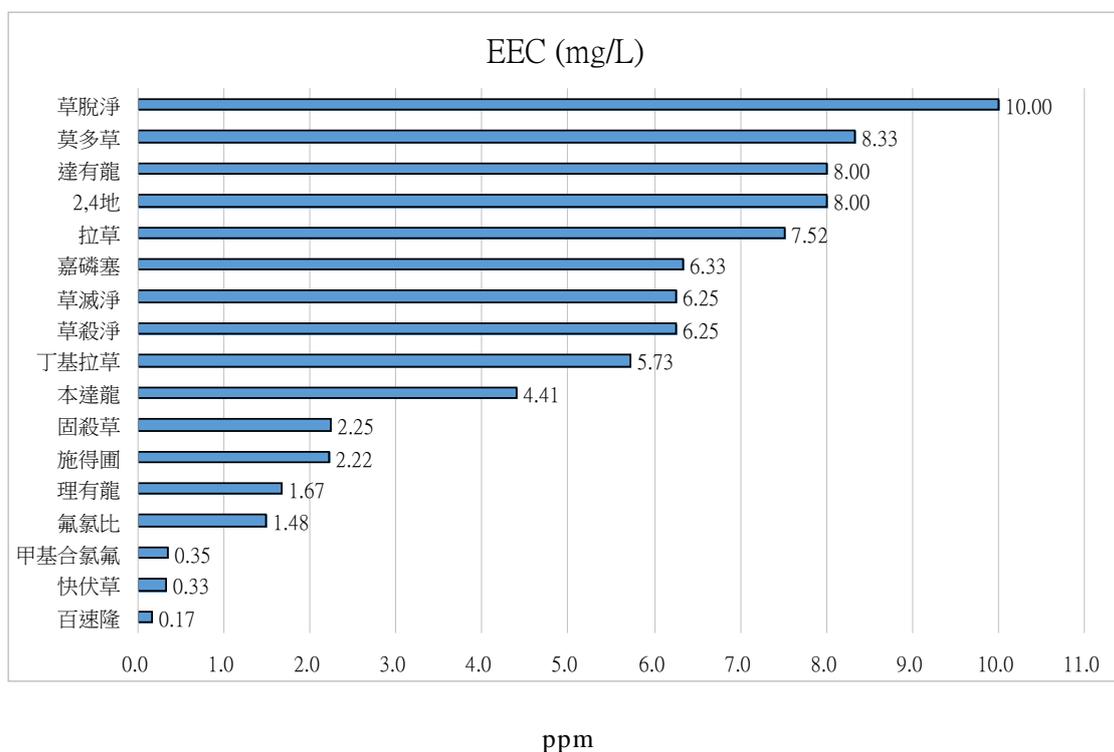


圖 13. 十七種常用除草劑在水域環境中可能存在的濃度對青萍之風險評估

由表 12、圖 14 可知，依其對各類水生生物的毒性及水域環境中預測濃度(以一次施藥計)，分別計算 RQ (risk quotient) 值。其中，只有嘉磷塞(98%)的 RQ < 1，其餘各除草劑對水生生物的 RQ 值均很高。

表 12. 十七種常用除草劑水域中推薦用量對青萍的危險商數

Pesticides	Conc. (%)	Toxicity Value (mg/L)		EEC ²⁾ (mg/L)	RQ ¹⁾	Risk quotient level ³⁾
		(4 day, EC ₅₀)	(7 day, EC ₅₀)			
Alachlor (拉草)	99.5	0.0654	0.0243	7.52	309	leve4
Ametryn (草殺淨)	99.5	0.0122	0.0045	6.25	1389	leve4
Atrazine (草脫淨)	98.0	0.114	0.0608	10.00	164	leve4
Bentazone (本達龍)	97.0	1.87	1.09	4.41	4.05	leve4
Butachlor (丁基拉草)	98.0	0.0356	0.0149	5.73	385	leve4
2,4-D-sodium salt monohydrate	99.0	12.5	2.28	8.00	3.51	leve4
Diuron (達有龍)	97.5	0.000902	0.00568	8.00	1408	leve4
Fluroxypyr-1-methylheptylester (氟氣比)	99.0	≥ 50	≥ 50	1.48	-	-
Glufosinate ammonium (固殺草)	97.0	1.91	1.42	2.25	1.58	leve4
Glyphosate (嘉磷塞)	98.0	25.3	19.6	6.33	0.32	leve3
Haloxypop-2-ethoxyethyl (甲基合氣氟)	97.0	≥ 50	≥ 50	0.35	-	-
Linuron (理有龍)	99.5	0.0151	0.01124	1.67	149	leve4
Metolachlor (莫多草)	98.0	0.1584	0.0688	8.33	121	leve4
Quizalofop (快伏草)	98.0	≥ 50	≥ 50	0.33	-	-
Pendimethalin (施得圃)	98.0	0.12	0.023	2.22	96.5	leve4
Pyrazosulfuron-ethyl (百速隆)	97.0	0.000197	0.0001368	0.17	1243	leve4
Simazine (草滅淨)	98.0	0.1665	0.0901	6.25	69	leve4

1) RQ = EEC / (7 day, EC₅₀)

$$2) \text{ EEC (mg/L)} = \frac{\text{最大施用量(kg)} \times 1000 \text{ kg/g} \times 1000 \text{ mg/g}}{\text{水深(cm)} \times \text{每公頃面積 (cm}^2\text{)} \times 0.001 \text{ l/mL}}$$

各成品藥劑密度以1計；
水稻田水位以3cm計。

3) 風險商數等級 (Risk quotient level) : 1、2、3 及 4 分別表示 RQ值 < 0.05、介於 0.05 至0.1 之間、介於 0.1至0.5 之間及 > 0.5。

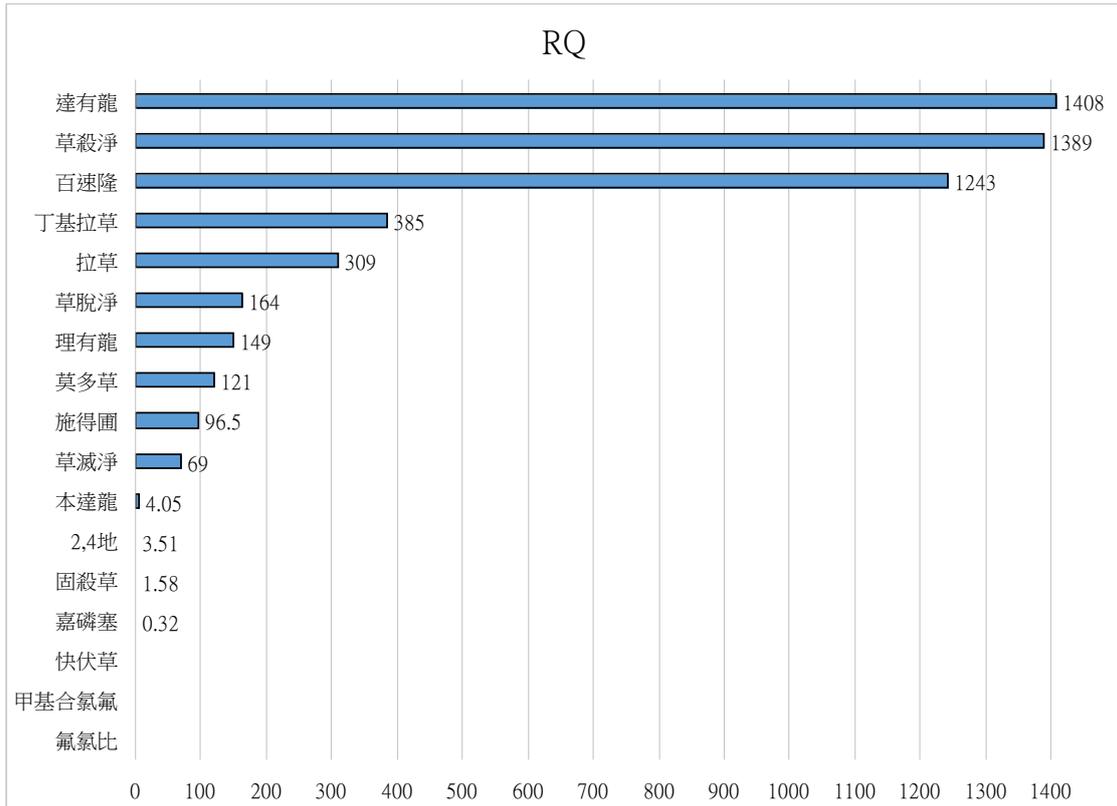


圖 14. 十七種常用除草劑水域中推薦用量對青萍的危險商數 (risk quotient, RQ)

伍、討論

一、浮萍的無性繁殖

浮萍屬於單子葉被子水生植物分佈於世界各地，是水域中常見的漂浮性維管植物，形態簡單僅具有葉片及根部，生長快速，主要進行無性繁殖，可在 pH 3.5~10 之環境下生長(Sandra, 2010)，生長週期短，約 2~3 天繁殖一代，生產量每 36 hr 增加一倍，大大縮短了生產週期(朱擘榮等，2010)。本研究透過試驗觀察青萍出芽生殖之過程(如圖 4)，生長期於第二天開始由葉基部長出新葉，第三天再長出新葉，同時一株分裂為二株植株，第五天，青萍生長為三株，以 3 至 4 片葉為一株，三片葉狀體為 1 條根系，四片葉狀體為 2 條根系，據此生殖方式持續生長，青萍葉狀體生長 2 倍數量的時間平均約 2 天。此結果顯示，青萍的無性繁殖方式及生長情形與前人研究相符。

二、培養液的篩選

浮萍葉狀體數目之增殖速度會因品種、營養液、光照及水等因素之影響而不同，根據 EPA 之規範選擇二種培養液在 Hoagland-E 系列為培育國外品種的 *L. minor* (EC, 2007) pH 值弱酸性(pH 5.50~5.53) 及 20X AAP 系列為培育國外品種的 *L. gibba* (OECD, 2006) pH 值為弱鹼性。本研究探討本土青萍在兩種培養液的生長情形(圖 5)，結果顯示青萍在 Hoagland-E 培養液培育 7 天後，葉狀體數目明顯高於 20X AAP 培養液的青萍，而葉狀體數目倍增時間(doubling time)分別為 2.2 天及 3.4 天；由外觀觀察青萍(圖 6)以 Hoagland-E 培養液中的青萍較為健康，而 20X

AAP 培養液中的葉狀體有白化及黃化現象。本實驗結果顯示本土青萍 (*Lemna aequinoctialis*) 適合於弱酸性的培養環境中生長。

三、受試浮萍的篩選

除草劑的生物活性檢測是除草劑研發應用過程中重要工作，常用之實驗材料多種多樣。早在 20 世紀 50 年代，就有使用浮萍 (*L. minor*) 來檢測苯氧類除草劑毒性效應之文獻。此後，浮萍科中 *Spirodela polyrrhiza*、*Lemna gibba*、*Lemna minor*、*Lemna pausicostata* 等不同屬材料，也被廣泛利用於除草劑篩選及作用效果的評估。已知浮萍亞科有 5 屬 38 種，被指用於毒性試驗只有 *L. minor* (加拿大和歐洲) 和 *L. gibba* (美國) 兩種。本論文首先擬建立本土浮萍科植物培育方法，以 Hoagland-E 為主要培養液，選用本土浮萍科植物青萍屬之青萍 (*Lemna aequinoctialis*)、斑萍屬之紫萍 (*Landoltia punctate*) 及紫萍屬之水萍 (*Spirodela polyrrhiza*)，在 Hoagland-E 培養液下 (pH 5.5)，其生長試驗結果如圖 7 顯示，青萍、紫萍、水萍之葉狀體數目增殖 2 倍的時間分別為 2 天、2.5 天及 2.4 天；比較三種浮萍葉狀體數目增殖 2 倍的時間，以青萍葉狀體數目增殖 2 倍的時間最短，表示其生長的速率最快。所以，本研究篩選最適合的本土浮萍科植物青萍 (*Lemna aequinoctialis*) 作為毒性試驗之物種，以生長快速為優勢條件之外，比對國外選用的 *Lemna minor* 及 *Lemna gibba* 兩種對除草劑之毒性更敏感。

四、毒性試驗方法

浮萍生長抑制試驗是由 ISO (ISO 20079, 2005 年) 和 OECD (OECD 221) 的國際通行標準方法，可利用於化學物質、農藥

及水域環境中，污染物質溶解於水中之標準化試驗指標。選用浮萍作為試驗物種，通常使用 *Lemna gibba* 來進行，優先用於經合組織(OECD)的農藥篩選。ISO 和 OECD 的毒性測試都使用 *Lemna minor*。特別是 *Lemna minor* ST 是一種廣泛使用於基因克隆來檢測環境毒素的標的物種。

本實驗供試的十七種除草劑對青萍的毒性試驗結果證明，本土浮萍科植物青萍對除草劑之敏感度不具有一致性，沒有一種水生植物一直是最敏感的。即使在一套水生動物的毒性試驗標準方法下，可能需要利用水生植物物種來進行毒性測試，建立農藥(除草劑)對水域環境影響生態毒理風險評估的參考數值。此外，本研究證實除草劑對本土水生植物青萍具有顯著的毒害效應。

本論文建立本土青萍對除草劑毒性試驗之標準方法，適合於實驗室作為穩定生長試驗的標準方法，結果會有顯著的毒性反應，並作為除草劑對非目標水生植物之毒性評估。至於是否適用於在實際田間水域中除草劑殘留量之毒性檢測，有待進一步深入探討研究。

陸、結論

本論文擬建立台灣本土浮萍科植物之人工培育系統，此三種浮萍的生長速度以青萍較快，其倍增時間(doubling time)約 2.0 天，水萍為 2.4 天，紫萍為 2.5 天。

本土青萍 (*Lemna aequinoctialis* Welwitsch) 植物有利於實驗室進行人工培育及生長抑制試驗。雖然目前沒有發現任何一種水生植物能代表最敏感的物種，但本土浮萍科植物青萍 (*Lemna aequinoctialis* Welwitsch)，對除草劑的敏感性較國外品種的 *Lemna minor* 及 *Lemna gibba* 為高，且對青萍的 EC₅₀ 值濃度都有顯著之毒性效應，可做為對大型水生植物的農藥風險評估之參考。

目前探討農藥對水域生態之毒理研究均著重於魚類、水蚤及藻類，缺乏對水生維管植物之毒理資料。青萍毒性試驗較藻類毒性試驗方法尤佳。青萍生長抑制試驗具有物種體積小，構造簡單，實驗操作簡便，其葉狀體大小可以清楚觀察葉部癥狀，且不需額外儀器設備或複雜的培養系統，更能對有顏色或混濁度高的工業、都市廢水做為植物毒性評估。此青萍毒性試驗適合用於水污染案件的簡易生物鑑定，以及農藥對水生植物之毒性評估。

本試驗結果顯示，不同除草劑對青萍的毒性有不同的影響。在十七種常用除草劑中，以硫醯脲類(百速隆)毒性最強。三嗪類(草殺淨)次之；除了氟氣比、甲基合氣氟、快伏草對青萍具低毒

性外，另有 2,4-D、嘉磷塞二種原體除草劑對青萍均具輕毒性，其餘各原體除草劑對青萍均具劇毒性或中等毒性。所以，要避免不當使用對浮萍毒性較強的除草劑，因為有些除草劑雖在低濃度也會造成鄰近水生植物嚴重的毒害。



柒、參考文獻

- 于彩虹、黃瑩、胡琳娜、付茂然、林榮華、曲薈夢、周艷明、姜輝。2013。
農藥對水生植物風險評估研究進展。安全與環境學報 13(4)：1-5。
- 王一雄。2004。農藥污染對作物的影響。植物重要防疫病害診斷鑑定技術
研習會專刊(三)。73-96。
- 方麗萍。2017。農藥在台灣一甲子。初版。92-151。苗栗：玉田地。
- 方麗萍。2017。2016年台灣除草劑市場概況。中華民國雜草學會會刊 38：
185-189。
- 方麗萍。2011。2010年臺灣除草劑市場概要。中華民國雜草學會簡訊。第
40期。<http://wssroc.agron.ntu.edu.tw/newsletter/Files/01040.pdf>。上網
日期：2017-03-16。
- 朱晔榮、馬榮、劉清岱、戎清清。2010。浮萍相關研究的幾方面重要進展。
45(4)：4~6。
- 李國欽。2000。農藥之特性及安全有效之使用。再版。技術專刊 58：14~20
頁。
- 李敏郎。2011。農藥的種類介紹。1~14頁。花卉初階班栽培管理訓練班講
義。
- 呂秀英、魏孟麗、呂椿堂。2006。用 Excel 解決農業研究資料統計分析的
方法(四)-相關與迴歸。技術服務 67：27-30。
- 林天生、湯弘吉。1990。六種農藥對吳郭魚、草魚、鯉魚、泥鰱、鰻魚、
淡水長腳大蝦之急性毒試驗。台灣省水產試驗所試驗報告 49：143 -
149。
- 林浩譚。1999。農藥安全性評估。107~122頁。行政院農業委員會農業藥
物毒試驗所編印。
- 范立民、馬曉燕、胡庚東、陳家長。2005。除草劑丁草胺對兩種魚的急性
毒性研究。浙江海洋學院學報 24(4)：377-379。
- 邱彥璋。2011。水生生物在環境毒性檢測之應用。藥毒所專題報導。第 102
期。
- 吳純宜、莊雅雲、李貽華、徐慈鴻。2009。六種重金屬之浮萍毒性試驗。

- 植保學會會刊 51:69-82。
- 孫斐、翁愷慎、李國欽。2002。常用有機磷劑農藥對水生生物風險評估。植保學會會刊 44(3)：171-183。
- 徐慈鴻、李貽華、蔣慕琰。2002。工業區周邊水質調查及其對水生植物青萍之毒性評估。植保學會會刊 44：157-169。
- 徐慈鴻、李貽華、黃偉銘。2005。養豬廢水處理廠放流水水質分析對青萍生長之影響。中華民國雜草學會會刊 26(2)：135。
- 馬建義、陳杰。2000。24種除草劑對蛋白核小球藻生長的效應。環境化學 19(6)：518-523。
- 常菊花。2012。丁草胺對斑馬魚的內分泌干擾效應研究。南京農業大學。博士學位論文。
- 國立台灣大學植物標本館。2012。台灣植物資訊整合查詢系統。
<http://tai2.ntu.edu.tw>。上網日期：2017-03-21。
- 黃明星、朱思思、張秋鴻。2016。浮萍研究進展。生物學雜誌 33(3)：92~97。
- 張欽江、張樂婷、張曼曼、陳曉君、黎臻、鄭天罡、王芳。2014。浮萍暴發控制技術與機理的研究與展望。廣東農業科學。第一期。155~160。
- 楊遠波、劉和義、林讚標。2001。台灣維管束植物簡誌。第五卷。378頁。台北：行政院農業委員會。
- 費雯綺。王玉美編、2000。植物保護手冊。行政院農業委員會農藥技術諮議委員會審定。行政院農業委員會藥物毒物試驗所編印。
- 農藥一路發。www.ag168.com 上網日期：2017-03-16。
- 農業資訊服務網(2015)。2010國內成品農藥銷售統計表。
https://pesticide.baphiq.gov.tw/web/Insecticides_MenuItem9_1S.aspx?no=34 上網日期：2017-03-16。
- 農藥作用機制及化學分類檢索：<http://ogserv.tactri.gov.tw/moa/> 上網日期：2017-03-21。
- 台灣養耕共生協會。<http://twaquaponics.blogspot.com> 網日期：2017-06-13。
- 種云霄、胡洪營、錢易。2003。大型水生植物在水污染治理中的應用研究進展。環境污染治理技術與設備 4(2)：36~40。
- 劉婷婷、鄭欣、閔振廣、劉徵濤。2014。水生態基準大型水生植物受試生物篩選。農業環境科學學報 33(11)：2204-2212。
- 劉明宗。2002。除草劑抗性的發展：抗性雜草和抗性作物。中華民國雜草

- 學會。23(1)：53-64。
- 蔡竹固。1996。殺草劑之化學分類。嘉義農專農藝學報 28：21-43。
- 蔡錦燕、洪明昌、劉俊宏、王冠登、吳宗孟。2017。植物分子農場在水產功能性飼料上之開發與應用。農業生技產業季刊。動物生技 51：37~42。
- 蔣永正、蔣慕琰。2008。常用除草劑之特性與應用。作物診斷與農藥安全使用技術手冊。205-226 頁。
- 蔣永正、蔣慕琰。2006。農藥雜草與除草劑要覽。39~65 頁。
- 蔣永正。2011。除草劑毒性及環境安全性。中華民國雜草會刊 32：117-131。
- 鄭敦仁。2012。農藥產業未來展望。www.taca.com.tw/doc/農藥產業發展0515.ppt。上網日期：2017-02-06
- 嚴雪、沈國興、嚴國安。1998。水生植物毒性試驗及在生態風險評價中的作用。上海環境科學 17(7)：24~39。
- Aida, M., Itoh, K., Ikeda, H., Harada, N., Ishii, Y., and Usui, K. 2004. Susceptibilities of some aquatic ferns to a paddy herbicide bensulfuron methyl. *Weed Biol. Manag.* 4：127-135.
- APHA (American public health Association). 2005. American Water Works Association, and Water Pollution Control Federation. Standard methods for the examination of water and wastewater, 21st ed. American Public Health Association, Washington, DC, USA.
- Appenroth, K. J., Sree, K. S., Fakhoorian, T., Lam, E. 2015. Resurgence of duckweed research and applications: report from the 3rd International Duckweed Conference. *Plant Molecular Biology* 89(6)：647-654.
- Allama, A., Tawfika, A., Negma, A., Yoshimurab, C., and Fleiflec, Amr. 2015. Treatment of Drainage Water Containing Pharmaceuticals Using Duckweed (*Lemna gibba*). *Energy Procedia* 74：973-980.
- Babu, T.S., Akhtar, T.A., Lampi, M.A., Tripuranthakam, S., Dixon, D.G., and Greenberg, B.M. 2003. “Similar Stress Responses Are Elicited by Copper and Ultraviolet Radiation in the Aquatic Plant *Lemna gibba*: Implication of Reactive Oxygen Species as Common Signals.” *Plant and Cell Physiology* 44：1320-1329.
- Barks, P.M., Laird, R.A. 2016. A multigenerational effect of parental age on offspring size but not fitness in common duckweed (*Lemna minor*).

- Journal of evolutionary biology 29(4) : 748-756.
- Bergmann, B.A., Cheng, J., Classen, J., Stomp, A.M. 2000. *In Virto* Selection of duckweed geographical isolates for potential use in swine lagoon effluent renovation. *Bioresource technology* 73 : 13-20.
- Bian, J., Berninger, J.P., Fulton, B.A., and Brooks, B.W. 2013. “Nutrient Stoichiometry and Concentrations Influence Silver Toxicity in the Aquatic Macrophyte *Lemna gibba*.” *Science of the Total Environment* 449 : 229-236.
- Blinova, I. 2004. Use of freshwater algae and duckweeds for phytotoxicity testing. *Environmental Toxicology* 19 : 425-428.
- Brain, R.A., and Cedergreen, N. 2009. “Biomarkers in Aquatic Plants: Selection and Utility.” *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology* 198: 49-109.
- Cox, K.M., Peele, C. G., Chloroplast transformation of duckweed United States patent Application 20050044593, Publication Date : 2005,2,24.
- Day, K.E., Hodge, V. 1996. The toxicity of the herbicide metolachlor, some transformation products and a commercial safener to an alga (*Selenastrum capricornutum*), a Cyanophyte (*Anabaena cylindrica*) and a Macrophyte (*Lemna gibba*). *Water Quality Research Journal of Canada* 31(1):197-214.
- Duruibe, J.O., Ogwuegbu, M.C., and Egwurugwu, J. N. 2007. Heavy metal pollution and human biotoxic effects. *International Journal of Physical Sciences* 2 : 112-118.
- EC (Environment Canada). 2007. Biological test method –Test for measuring the inhibition of growth using the freshwater macrophyte *Lemna minor*. 2nd ed. Environmental Protection Service, Report EPS 1/RM/37. Ottawa: Method development and Applications section, Environmental Technology Centre, Environment Canada.
- Fairchild, J.F., Ruessler, D.S., Haverland, P.S., Carlson, A.R. 1997. Comparative sensitivity of *Selenastrum capricornutum* and *Lemna minor* to sixteen herbicides. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 32(4) : 353–357.
- Goswami, C., Majumder, A., Misra, A.K., and Bandyopadhyay, K. 2014.

- “Arsenic Uptake by *Lemna minor* in Hydroponic System.” International Journal of Phytoremediation 16: 1221-1227.
- Gubbins, E.J., Batty, L.C., and Lead, J.R. 2011. “Phytotoxicity of Silver Nanoparticles to *Lemna minor* L.” Environmental Pollution 159: 1551-1559.
- Hou, W.H., Chen, X., Song, G. L., Wang, Q.H., and Chang, C.C. 2007. Effects of copper and cadmium on heavy metal polluted waterbody restoration by duckweed (*Lemna minor*). Plant Physiol Biochem 45 : 62-69.
- ISO (International Organization for Standardization). 2005. Water quality – Determination of the toxic effect of water constituents and waste water on Duckweed (*Lemna minor*) – Duckweed growth inhibition test. Final Draft ISO/FDIS 20079. Geneva: International Organization for Standardization.
- Kolpin, D.W., Thurman, E.M., Linhart, S. M. 1998. The environmental occurrence of herbicides: the importance of degradates in groundwater. Arch environ contam toxicol 35(3) : 385–390.
- Lahive, E., O’Halloran, J., Jansen, M.A.K. 2011. Differential sensitivity of four *Lemnaceae* species to zinc sulphate. Environmental and Experimental Botany 71(1) : 25-33.
- Landolt, E. and Kandeler, R. 1987. The family of *Lemnaceae* - a monographic study. Vol. 2, Phytochemistry, physiology, application, bibliography. Veroff. Geobot. Inst. ETH, Zurich, L: 638.
- Les, D.H., Crawford, D.J., Landolt, E., Gabel, J.D. and Kimball, R.T. 2002. Phylogeny and Systematics of *Lemnaceae*, the duckweed family. Systematic Botany 27 (2): 221-240.
- Li, J., Jain, M., Vunsh, R., Vishnevetsky, J., Hanania, U., Flaishman, M., Perl, A., Edelman, M. 2004. Callus induction and regeneration in *Spirodela* and *Lemna*. Plant Cell Reports 22(7):457 ~464.
- Matthias, E. 2001. Duckweed growth inhibition tests and standardization. LemnaTec GmbH. Schumanstrasse 18, 52146 Würselen, Germany.
- Mohan, B. S., Hosetti, B. B. 1999. Aquatic plants for toxicity assessment. Environmental Research 81(4) : 259-274.

- Mukherjee, S., Kumar, S. 2005. Adsorptive uptake of arsenic(V) from water by aquatic fern *Salvinia natans*. *Journal of Water Supply Research and Technology* 54 (1) : 47-53.
- Müller, R., Berghahn, R., Hilt, S. 2010. Herbicide effects of metazachlor on duckweed (*Lemna minor* and *Spirodela polyrhiza*) in test systems with different trophic status and complexity. *J Environ Sci Health B*. 45(2):95-101.
- OECD (2006). Organization of Economic Cooperation and Development, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 2 Effects on Biotic Systems , Test No. 221: *Lemna sp.* Growth Inhibition Test., OECD 11 July 2006. Pages: 1-22.
- Radic, S., Stipanicev, D., Cvjetko, P. 2011. Duckweed *Lemna minor* as a tool for testing toxicity and genotoxicity of surface waters. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 74 : 182–187.
- Sallenave, R., Fomin, A. 1977. Some advantages of the duckweed test to assess the toxicity of environmental samples. *Acta Hydrochim. Hydrobiol.* 25 : 135-140.
- Sandra, R. B., 2012. Biomonitoring of surface waters using Duckweed (*Lemna minor* L.). BALWOIS 2010 - Ohrid, Republic of Macedonia.
https://bib.irb.hr/datoteka/472495.balwois_paper_Radic666_2.pdf
- Sen A. K., Bhattacharyya M. 1994. Studies of uptake and toxic effects of Ni (II) on *Salvinia natans*. *Water, Air & Soil Pollution* 78 (1-2) : 141-152.
- Sree, K. S., Bog, M., Appenroth, K. J. 2016. Taxonomy of duckweeds (*Lemnaceae*), potential new crop plants. *Emirates Journal of Food and Agriculture* 28(5) : 291-302.
- Stomp. A.M., Rajbhandari N., Method for producing stably transformed duckweed using microprojectile bombardment. United States Patent 7161064. Publication Date : 2007,1:9.
- Tomlin, C. D. S. 2002. The E- Pesticide Manual. Version 2.2, British crop protection council.
- US EPA (US Environmental Protection Agency). 1996. Ecological effects test guidelines OCSPP 850.4400: Aquatic Plant Toxicity Test Using *Lemna*

spp.

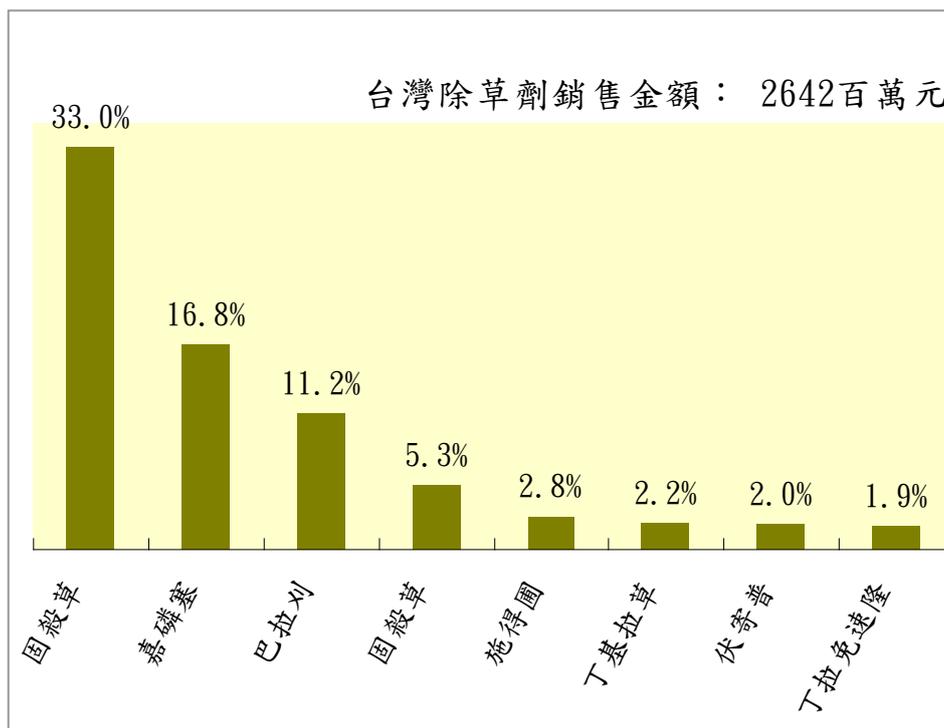
- Van der Spiegel, M., Noordam, M.Y., and van der Fels-Klerx, H.J. 2013. Safety of novel protein sources (insects, microalgae, seaweed, duckweed, and rapeseed) and legislative aspects for their application in food and feed production. *Comprehensive reviews in food science and food safety* 12(6) : 662–678.
- Verdisson, S., M. Couderchety, M., and Vernet, G. 2001. Effects of procymidone, fldioxonil and pyrimethanil on two non-target aquatic plants. *Chemosphere*. 44(3) : 467-474.
- Vulliet, E., Emmelin, C., Chovelon, J.M., Chouteau, C., Clement, B. 2004. Assessment of the toxicity of triasulfuron and its photoproducts using aquatic organisms. *Environ Toxicol Chem*. 23(12):2837-2843.
- Wang, W. 1990. Literature review on duckweed toxicity testing. *Environ. Res.* 52 : 7-22.
- Wang, W., Freemark, K., 1995. The use of plants for environmental monitoring and assessment. *Ecotoxicology and Environment Safety* 30:289-301.
- Žaltauskait, J., Sujetovien, G., Cypait, A., Aužbikaviciut, A. 2014. Lemna minor as a tool for wastewater toxicity assessment and pollutants removal agent. The 9th International Conference “ENVIRONMENTAL ENGINEERING”. Vilnius, Lithuania.
- Ziegler, P., Sree, K.S., and Appenroth k.-J. 2016. Duckweeds for water remediation and toxicity testing. *Toxicological & Environmental Chemistry* Vol.98 (10):1127-1154.

附錄 1. 台灣 8 大除草劑銷售金額及數量(2015-2016)

排行	英文 普通名稱	中文 普通名稱	劑型	2016 銷售金額 (百萬元)	2016 銷售數量 (公噸)	2015 銷售金額 (百萬元)	2015 銷售數量 (公噸)
1	Glufosinate- Ammonium	固殺草	13.5SL	873	3310	696	2013
2	Glyphosate	嘉磷塞	41SL	444	4535	368	3200
3	Paraquat	巴拉刈	24SL	297	2460	310	2800
4	Glufosinate- Ammonium	固殺草	18.02SL	140	324	140	347
5	Pendimethalin	施得圃	34EC	73	389	74	386
6	Butachlor	丁基拉草	5G	59	3180	54	2975
7	Fluazifop-Butyl	伏寄普	17.5EC	54	104	49	94
8	Butachlor+Bens ulfuron-methyl	丁拉免速隆	2.583G	50	1532	43	1397
1-8小計				1990	15834	1734	13212
1-8市場佔有率				75%	77%	72%	74%
台灣除草劑總市場				2642	20680	2399	17843

參考資料：方麗萍。2017。農藥在台灣一甲子。台灣農藥市場。
註：SL：溶液 G：粒劑 EC：乳劑

附錄 2. 台灣 8 大除草劑銷售市場佔有率(2016)



國立中興大學 (方麗萍, 2017)

National Chung Hsing University

附錄 3. ½ strength Hoagland- E 培養液之組成

Composition	M.W.	Stock solution conc.	Use m/L
MgSO ₄ ·7H ₂ O	M=246.48g	24.6 g/100mL	0.50 mL
Ca(NO ₃) ₂ · 4H ₂ O	M=236.15g/mol	23.6 g/100mL	1.15 mL
KH ₂ PO ₄	M=136.09g/mol	13.6 g/100mL	0.25 mL
KNO ₃	M=101.11g/mol	10.1 g/100mL	1.25 mL
Micronutrients			
H ₃ BO ₃	M=61.83g/mol	2.86 g/L	0.25 mL
MnCl ₂ ·4H ₂ O		1.82 g/L	
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	M=287.54	0.22 g/L	
Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	M=241.95	0.09 g/L	
CuSO ₄ ·5H ₂ O	M=249.68g/mol	0.09 g/L	
Fe-EDTA solution			
FeCl ₃ · 6H ₂ O	M=270.33g/mol	0.121 g/250 mL	10 mL
EDTA	M=292.24	0.375 g/250 mL	

備註：

1. 以 NaOH 或 HCl 調整 pH 值至 5.50~5.53。
2. F-EDTA 配製後，利用抽氣泵無菌過濾，並用鋁箔紙包覆避光。
3. Stock solution 配製好後，請保存於 4°C 冰箱。

附錄 4. 20X AAP 培養液之組成

Stock solution No.	Chemicals composition	Concentration in stock solution (g/•L)*	Concentration in prepare medium (mg/•L)*	Prepared medium	
				Element	Concentration (mg/•L)*
A1	NaNO ₃	26	510	Na;N	190;84
	MgCl ₂ .6H ₂ O	12	240	Mg	58.08
	CaCl ₂ .2H ₂ O	4.4	90	Ca	24.04
A2	MgSO ₄ .7H ₂ O	15	290	S	38.22
A3	K ₂ HPO ₄ .3H ₂ O	1.4	30	K;P	9.4;3.7
B	H ₃ BO ₃	0.19	3.7	B	0.65
	MnCl ₂ .4H ₂ O	0.42	8.3	Mn	2.3
	FeCl ₃ .6H ₂ O	0.16	3.2	Fe	0.66
	Na ₂ EDTA.2H ₂ O	0.30	6.0	-	-
	ZnCl ₂	3.3 mg/L	66 µg/L	Zn	31 µg/L
	CoCl ₂ .6H ₂ O	1.4 mg/L	29 µg/L	Co	7.1 µg/L
	Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	7.3 mg/L	145 µg/L	Mo	58 µg/L
	CuCl ₂ .2H ₂ O	0.012 mg/L	0.24 µg/L	Cu	0.080 µg/L
C	NaHCO ₃	15	300	Na;C	220; 43

*Unless noted

以 NaOH 及 HCl 調整 pH 值至 7.5±0.1。

附錄 5. 十七種除草劑的化學分類及作用機制

作用機制	HRAC	化學分類及有效成分名稱	WSSA
抑制乙醯輔酶 A 羧化酶； 抑制脂肪酸合成 (Inhibition of acetyl CoA carboxylase (ACCase))	A	<u>芳氧苯氧丙酸酯類</u> (aryloxyphenoxypropionate) 甲基合氯氟 (haloxyfop-P-methyl)、 快伏草 (quizalofop-P-ethyl)	1
抑制乙醯乳酸合成酶； 抑制枝鏈胺基酸合成 (Inhibition of acetolactate synthase ALS (acetohydroxyacid synthase AHAS))	B	<u>硫醯脲類 (sulfonyleurea)</u> 百速隆 (pyrazosulfuronethyl)	2
在光合系統 II 抑制光合作用 (Inhibition of photosynthesis at photosystem II)	C1	<u>三嗪類 (triazine)</u> 草殺淨 (ametryn)、草脫淨 (atrazine)、 草滅淨 (simazine)	5
	C2	<u>尿素類 (urea)</u> 理有龍 (linuron)、達有龍 (diuron)	7
在光合系統 II 抑制光合作用 (Inhibition of photosynthesis at photosystem II)	C3	<u>苯併噻二嗪酮類 (benzothiadiazinone)</u> 本達隆 (bentazone)	6
抑制 EPSP 合成酶 (Inhibition of EPSP 5-enolpyruvylshikimate3-phosphate) synthase)	G	<u>甘胺酸類 (glycine)</u> 嘉磷塞 (glyphosate)	9
抑制麩醯胺酸合成酶 (Inhibition of glutamine synthetase)	H	<u>次磷酸類 (phosphinic acid)</u> 固殺草 (glufosinate-ammonium)	10
抑制微管集結 (Microtubule assembly inhibition)	K1	<u>二硝基苯胺類 (dinitroaniline)</u> 施得圃 (pendimethalin)、	3
抑制細胞分裂 (Inhibition of VLCFAs (inhibition of cell division))	K3	<u>氯乙醯胺類 (chloroacetamide)</u> 丁基拉草 (butachlor)、拉草 (alachlor)、莫多草 (metolachlor)	15
合成生長素 - 作用類 似吲哚乙酸 (Action like indole acetic acid (synthetic auxins))	O	<u>苯氧羧酸類 (phenoxyacetic acid)</u> 二四地 (2,4-D) <u>吡啶羧酸類 (pyridine carboxylic acid)</u> 氟氯比 (fluroxypyr-meptyl)	4

*除草劑抗藥性行動委員會 HRAC (Herbicide Resistance Action Committee) <http://www.hracglobal.com>

**美國雜草學會 WSSA (Weed Science Society of America) <http://wssa.net/>

參考資料：2016 農藥作用機制分類檢索 藥毒所編制

附錄 6. 台灣常用十七種除草劑在農業作物之推薦使用量之情形

Pesticides	Conc. (%)	Formulation	Recommended Crop	Max.Used in Aquatic Region(kg or liter / ha)
百速隆	10	可濕性粉劑	水稻(插秧後)	0.5
百速隆	10	片劑	水稻(插秧後)	0.5
達有龍	80	水分散性粒劑	果樹作物(柑桔、鳳梨)	2~3
達有龍	80	水分散性粒劑	特用作物(蔗園、茶)	2
達有龍	80	水分散性粒劑	特用作物(亞麻)	0.5
達有龍	80	可濕性粉劑	果樹作物(柑桔、鳳梨)	2~3
達有龍	80	可濕性粉劑	特用作物(蔗園、茶)	2
達有龍	80	可濕性粉劑	特用作物(亞麻)	0.5
達有龍	80	水懸劑	果樹作物(鳳梨)	4
草殺淨	25	乳劑	果樹作物(蓮霧)	7.5
理有龍	50	可濕性粉劑	雜糧作物(落花生)	1
理有龍	50	可濕性粉劑	雜糧作物(大豆)	1.2~1.5
理有龍	50	可濕性粉劑	蔬菜作物(蘆筍)	1.5
理有龍	45	可濕性粉劑	特用作物(茶)	2
丁基拉草	5	粒劑	水稻(中間作直播)	25
丁基拉草	5	粒劑	水稻(插秧前、秧田、插秧後)	30
丁基拉草	5	粒劑	水稻(濕田直播)	40
丁基拉草	32	乳劑	水稻(插秧前)	5~6
丁基拉草	58.8	乳劑	水稻(插秧後)	2.5~3
丁基拉草	58.8	乳劑	蔬菜作物(菠菜)	1
拉草	10	粒劑	雜糧作物(落花生)	20~24
拉草	10	粒劑	蔬菜作物(甘藍、番茄)	15
拉草	45.1	乳劑	雜糧作物(大豆)	4~5
拉草	45.1	乳劑	蔬菜作物(花椰菜)	2
草脫淨	50	可濕性粉劑	果樹作物(鳳梨)	4~6
草脫淨	50	可濕性粉劑	特用作物(蔗園)	3.2
巴拉刈	24	溶液	水稻(耕犁前)、特用作物(茶園)	2~4
施得圃	5	粒劑	水稻(插秧後)	30
施得圃	34	乳劑	雜糧作物(落花生)	5~6
施得圃	34	乳劑	雜糧作物(大豆)、蔬菜作物(洋蔥、番茄)	2.5
施得圃	34	乳劑	雜糧作物(大豆)、特用作物(菸草)	3~4.5
施得圃	34	乳劑	蔬菜作物(蒜)	3.5
施得圃	75	可顯性粉劑	蔬菜作物(洋葱)	1.3
施得圃	34	乳劑	蔬菜作物(甘藍)	2
施得圃	34	乳劑	蔬菜作物(蘿蔔)	1.5~2
莫多草	50	乳劑	雜糧作物(落花生、大豆)	4~5
草殺淨	25	乳劑	果樹作物(蓮霧)	7.5
2,4-D(鈉鹽)	80	可溶性粉劑	特用作物(蔗園)	2~3
本達龍	44.1	溶液	水稻(秧田、中期、濕田直播、中間作直播)	3
本達龍	44.1	溶液	水稻(中期)	1.5~2
本達龍	7.3	粒劑	水稻(中期)	35
固殺草	5.66	溶液	蔬菜作物(甘藍、西瓜)	8
固殺草	13.5	溶液	蔬菜作物(胡瓜、洋香瓜、甜椒)	3
固殺草	13.5	溶液	果樹作物(香蕉)	7
固殺草	13.5	溶液	果樹作物(葡萄、木瓜)	5
固殺草	18.02	溶液	果樹作物(柑桔)	5~10
嘉磷塞異丙胺鹽	41	溶液	水稻-畦畔	3
嘉磷塞異丙胺鹽	41	溶液	水稻(耕犁前田面、畦畔)、果樹作物(柑	4~5
嘉磷塞異丙胺鹽	41	溶液	桔、鳳梨、葡萄、檬果、荔枝、梅、枇杷、	5~6
嘉磷塞異丙胺鹽	41	溶液	番石榴)、特用作物(蔗園、茶)	6~7
嘉磷塞異丙胺鹽	41	溶液	果樹作物(柑桔、梅)	4~6
嘉磷塞異丙胺鹽	15.1	溶液	果樹作物(桃)	12
甲基合氣氟	10.6	乳劑	水稻(畦畔)	1
甲基合氣氟	10.6	乳劑	雜糧作物(大豆)	0.5
快伏草	5	乳劑	雜糧作物(落花生、西瓜)	1.5
快伏草	5	乳劑	雜糧作物(大豆)	2
氟氣比	29.64	乳劑	果樹作物(柑桔)	1.5