

超低量巴拉刈(paraquat)在胡瓜及玉米植株之殘留及藥害診斷

蔣永正* 蔣慕琰

臺中縣霧峰鄉 農委會農業藥物毒物試驗所公害防治組

(接受日期：中華民國 92 年 11 月 2 日)

摘 要

蔣永正*、蔣慕琰 2003 超低量巴拉刈(paraquat)在胡瓜及玉米植株之殘留及藥害診斷 植保會刊 45 : 295 - 304

探討利用免疫分析法檢測植體巴拉刈(paraquat)殘留量，做為藥液飄散引起作物藥害之診斷依據與適用範圍。巴拉刈以 1.2 g ha^{-1} 超低劑量萌後噴施於 2-3 葉齡之胡瓜及玉米植株，定期調查植株藥害發生程度，株高、葉數、鮮重等生育性狀，及葉片葉綠素螢光變化，並配合免疫分析法檢測植體樣品之巴拉刈殘留量。巴拉刈處理胡瓜植株 3 日後，藥害發生率為 15%，6 日後達 25%，18 日後降至 11%；玉米在 6-12 日期間之藥害亦超過 10%，且 6 日後傷害最大（15%）；株高、葉數及鮮重等生育指標，以鮮重反應對藥劑較敏感，胡瓜及玉米分別在噴藥後 6-15 日及 6-9 日，其鮮重抑制率均高於 10%，但以胡瓜反應較為明顯。兩種測試作物之葉片葉綠素螢光異常反應，胡瓜則較玉米明顯，但差異範圍在 5% 內。植體巴拉刈殘留偵測顯示；玉米及胡瓜植株之藥劑消失速率有差別；施藥後 30 日，以免疫分析法仍可測得胡瓜及玉米植株殘留有 11.01 及 $5.07 \text{ ng (g fwt)}^{-1}$ 之巴拉刈。免疫分析可檢測之藥劑殘留日數較長，鮮重抑制反應則持續表現至 9-15 日，兩者配合藥害徵狀，可提供作物微量接觸巴拉刈後約 30 日之藥害診斷依據。

(關鍵詞：巴拉刈、藥害、葉綠素螢光、殘留量分析、酵素連結免疫分析)

緒 言

巴拉刈早在 1950 年代後期即開發為除草劑，1968 年始在臺灣茶園登記，目前

廣用於道路、非耕地、菜園及果園；為臺灣地區普遍使用之非選擇性萌後噴施型除草劑^(1, 7)；巴拉刈在植物細胞內會與 ferredoxin 競爭 PSI 光反應系統中之電子，

* 通訊作者。E-mail: cyj@tactri.gov.tw

影響 NADP⁺還原，降低光合作用的效率；同時由於自身的氧化還原作用，形成之自由基會破壞細胞的膜系結構；因此巴拉刈在光照下，會引起植物綠色組織發生水浸狀、黃白化及焦枯之藥害徵狀，但因為反應極為快速，通常在強光下兩小時左右，即發生明顯之外觀異常變化，且在短時間內形成褐化藥斑^(7, 8)。

巴拉刈引起之藥害，大都歸因於噴施時藥液的飄散，雖然巴拉刈在植體內的移動性低，通常僅作用在藥滴接觸的局部位置，但對於鄰近作物田內的幼嫩植株及組織，仍具有極強的殺傷力，造成植株乾枯或死亡^(5, 8)。一般除草劑因為對植物的活性高，可經由飄散、灌溉水污染、或土壤殘效等途徑，被非目標區敏感作物微量的接觸及吸收而發生藥害^(5, 6, 17)。目前的藥害案件診斷，以受害植株的徵狀辨識為主，除外觀形態的改變外，組織微細構造的異常，也列為重要的研判依據。但對作用機制相近的不同除草劑，有可能發生類似的藥害徵狀，同時大部分栽培者察覺植株生育異常時，往往都已經過相當時日，藥害進展之歷程也已進入末期；若接觸劑量過高，植株受害部位枯萎或脫落；劑量低時，外觀的典型徵狀，會隨著植株的長大，或病原蟲等的感染，而變得不明顯，增加了徵狀診斷在實際利用上的困難度⁽³⁾，因此藉助植體殘留藥劑的偵測，提供直接證據作為診斷上的輔助^(3, 5, 9)。一般經由飄散引起之作物藥害，因屬微量接觸，且植體表面及吸收之藥劑，也會被紫外光及植物本身代謝分解，因此要達到偵測植體內殘留藥劑之目的，亟需高靈敏度微量分析方法之配合。免疫分析法在專一性及靈敏度方面的特性，頗能符合上述需求，已上市之商品化試劑組，針對特定藥劑可達到 ppb，甚至 ppt 之最低偵測界限，且在樣品萃取及試驗操作步驟上簡便易行^(14, 18, 21, 22, 23)，藥害診斷上可利用為偵測特定藥劑在

植體殘留之技術。

本研究以超低量巴拉刈處理胡瓜及玉米之 2-3 葉齡植株後，調查植株生育抑制及葉片葉綠素螢光反應的變化，同時評估藥害發生等級，並以免疫分析法定期偵測植體內巴拉刈殘留量；比較植株生育、葉片葉綠素螢光及藥劑殘留量變化與藥害發生等級之關係，提供巴拉刈飄散引起藥害之診斷依據。

材料與方法

供試材料及藥劑處理

2001 年 5 月至 10 月，於霧峰農業藥物毒物試驗所溫室內進行之盆栽試驗，採用農友種苗公司之清綠雜交一代胡瓜，及本地種台南白玉米為測試材料。種子直接播種於直徑 15 cm，高度 12 cm 之栽植盆中（裝土約 1.5 kg），於胡瓜、玉米生長至 2-3 葉完全展開時（播種後約 14 日），每盆間苗成一株。以手提式高壓碳瓶噴霧器，型號 LF-2 80° 之噴嘴，在壓力 2.1 kg cm⁻² 下，將 1.2 g ha⁻¹ 劑量之巴拉刈藥液，分別均勻噴施於植株上。每處理三重複，每重複兩盆。本研究所得結果均先進行 ANOVA 分析，並以 LSD 比較處理間之差異顯著性（ $P < 0.05$ ）。

植株藥害調查

於施藥前及施藥後四小時開始，每隔 3 日定期調查處理植株之株高、葉數及鮮重等農藝性狀，同時根據藥斑發生面積及葉片數，以百分率量化指標評級藥害發生程度（0 為無藥害，100 為全株乾枯）⁽¹⁷⁾，並記錄藥害徵狀及恢復情形。由植株外觀形態變化及生育抑制結果，分析比較施藥後不同時期之作物反應。

葉片葉綠素螢光測定

藥劑噴施後，每隔 3 日定期測定噴藥

時已完全展開之葉片葉綠素螢光，並記錄各項介量參數值（ F_0 ：葉綠素螢光上升起始值； F_m ：葉綠素螢光達到高峰之螢光值），同時計算 F_v/F_m 值（ $F_v = F_m - F_0$ ）之變化情形^(10, 19)。測定前先將葉片夾（leaf clip）夾住葉的上表面，經 30 分鐘暗處理後（將照光前所有正在進行之光反應作用完成，使測試之基準點一致），再連接於植物光合作用效率分析儀（Plant Efficiency Analyzer, Hansatech；光源為六個 LEDs 聚合成之穩定激發光，peak wavelength 為 650 nm，照在葉面之最高光強度為 3000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ）之感測器即可測得。測定結果以儀器所附分析軟體進行數據轉換及計算。

免疫分析法檢測植體巴拉刈殘留量

分析試藥組（RaPID Assays; OHMICRON）包括：不同濃度之巴拉刈標準品（standards），標識有巴拉刈之特定酵素連結體（enzyme conjugate），結合有巴拉刈抗體之磁球（magnetic particles），酵素反應呈色劑（color reagent），酵素反應終止劑（stopping solution），以及不含除草劑之 diluent / zero solution。將處理後之植株剪碎混合均勻，取適量樣品以 1:2~1:3 之比例加入丙酮浸泡 30 分鐘後，以 6000 g 離心 6 分鐘，取 100 μl 澄清液吹乾。加入 1 ml 之 diluent / zero solution 回溶後，取出 200 μl 置於試管中備用，樣品經萃取淨化後，加入分析試藥進行免疫反應。取 250 μl enzyme conjugate 及 500 μl magnetic particles 加入裝有樣品之試管中振盪，靜置 30 分鐘後，置於磁鐵架上，倒掉試管中未反應之液體，再拿開磁鐵架，以 1 ml 去離子水沖洗二次，加入 500 μl 呈色劑，靜置 20 分鐘進行呈色反應，最後加入 500 μl 終止劑停止反應。另以不同濃度之藥劑標準品，於分析儀中（RPA-1™ RaPID Photometric Analyzer, OHMICRON）選擇巴拉刈之特定測試項目，在 450 nm 波長下

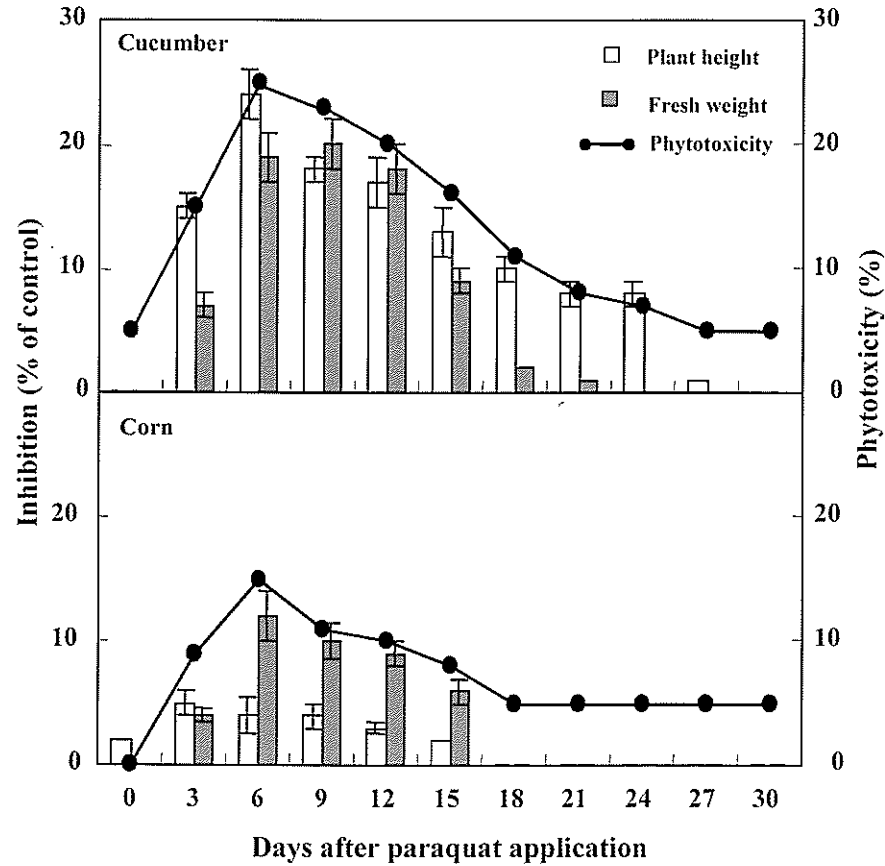
測量吸光值，求出濃度與吸光值之標準曲線，做為計算植體樣品中之藥劑殘留量⁽²⁰⁾。本研究中之免疫分析主要利用植體樣品中之除草劑分子，與標識有特定除草劑之酵素連結體，競爭結合有除草劑抗體之磁球進行免疫反應，再以酵素反應產物之呈色情形，決定樣品中除草劑濃度，因此呈色物之吸光值愈高，表示樣品中除草劑含量愈低；反之呈色愈淺，吸光值低，除草劑含量愈高。本研究中使用之免疫分析試藥組，對巴拉刈之最低偵測劑量（least detectable dose; LDD）為 0.02 ppb。

結果

植株生育及藥害調查

以 1.2 g ha⁻¹ 劑量之巴拉刈處理胡瓜植株，噴後四小時，葉面已出現不規則邊緣分散之黃褐化藥斑，3 日後轉變為局部黃化及壞疽現象，且徵狀更為明顯擴大。持續調查測試植株發育至五、六葉時（噴藥後一個月左右），因藥斑發生僅侷限於接觸到藥劑之二、三葉，新生葉則完全正常，因此藥害部分所占植株比例縮小；噴施後 6 日引起之最大藥害程度達 25% 左右，9 日後開始下降，三星期後低於 10% 以下（圖一）。同生育期之玉米對巴拉刈之反應則較胡瓜具忍受性；巴拉刈引起玉米植株褐化壞疽之藥害程度均低於 15%（圖一），處理後 6 日達最大藥害程度，兩星期後降至 10% 以下。

兩種測試作物之葉片發生數，於藥劑處理後與對照株差異不明顯（數據未列出）；但胡瓜株高在施藥後 3 日，即呈 15% 之抑制率，6 日後高達 24%，之後逐漸恢復生長，三星期後株高抑制率降至 10% 左右。巴拉刈對玉米株高之抑制率則均低於 5%，影響不明顯（圖一）。植株鮮重則與藥害發生有類似之反應趨勢（圖一）；噴施後 3 日胡瓜鮮重抑制率為 7%，6-12 日後高



圖一、巴拉刈對胡瓜及玉米生育之影響(巴拉刈處理劑量：胡瓜與玉米均為 1.2 g ha^{-1} ；0 天採樣在噴藥後四小時進行；藥害率為植體發生藥害部分占全株之百分比)。

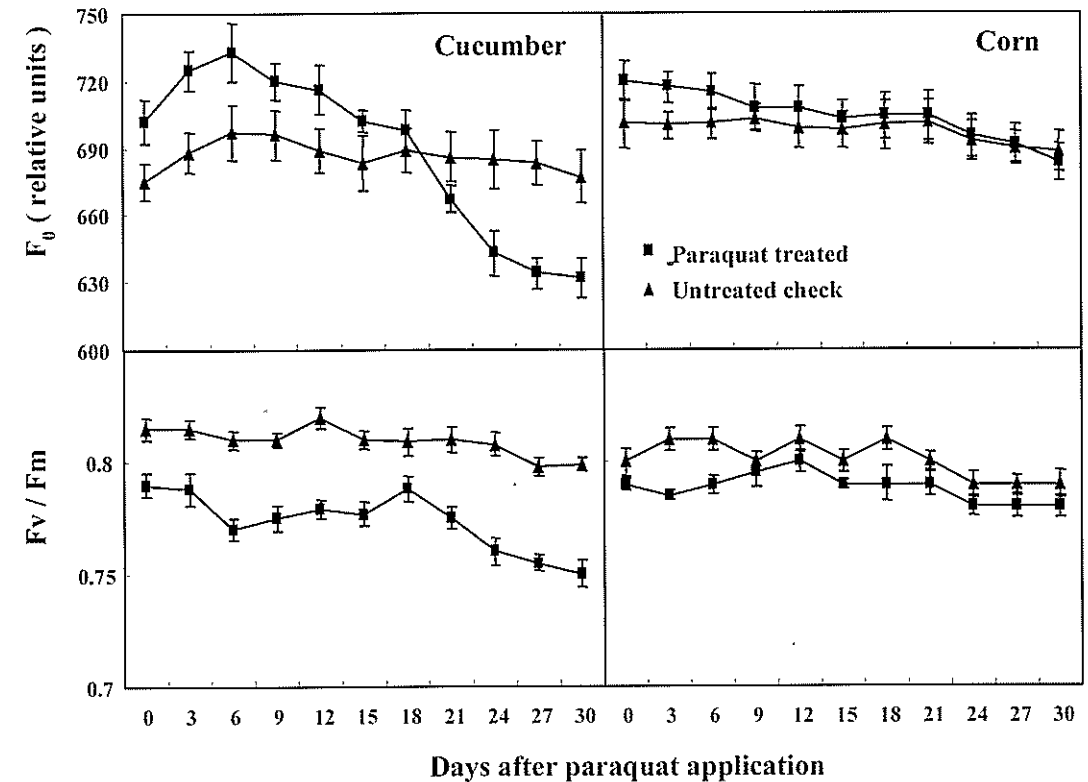
Fig. 1. Effect of paraquat on plant growth of cucumber and corn. (Paraquat was applied at 1.2 g ha^{-1} to cucumber and corn plants; initial sampling time was 4 h after paraquat application; visual injury rating: 0 indicates no injury, 100 indicates complete destruction.)

達 20%，兩星期後開始恢復生長，至三星期後與對照株無明顯差異。玉米鮮重抑制則在處理後 6-9 日達 10% 左右，兩星期後與對照株差異降至 5% 以內。

葉片葉綠素螢光變化之影響

噴施 1.2 g ha^{-1} 劑量之巴拉刈於胡瓜植株四小時後，測定完全展開之第三葉片葉綠素螢光；發現 F_0 值較對照葉片明顯上升，可能與巴拉刈會抑制葉綠體類囊膜上

之電子正常傳遞速率，因而降低葉片光合作用效率有關，持續至 6 日後，兩者差距逐漸縮小，至 18 日後數值趨於相近，但三星期後，對照株之 F_0 值反而較藥劑處理過之葉片略高，可能與葉片捕光系統已遭受破壞有關；此可由接觸過巴拉刈之葉片，會快速老化之觀察得以證實。藥劑處理後之 F_v/F_m 值變化，分布在 0.75-0.79 範圍內，與對照的 0.80-0.82 差異不大(圖二)；但與大部分健康植株之 F_v/F_m 值(0.80-0.83)



圖二、巴拉刈對胡瓜及玉米葉片葉綠素螢光反應之影響。

Fig. 2. Changes in the values of F_0 and F_v/F_m for cucumber and corn plants after paraquat treatment.

相比較仍為異常反應。同時亦於處理後 3 日開始緩緩下降，6 日後低至 0.77 (對照為 0.81)，之後逐漸上升，三星期後卻又開始明顯下降，此與 F_0 值之變化期程有相似趨勢。玉米葉片之葉綠素螢光反應， F_0 與 F_v/F_m 值分別較對照葉片略為升高及降低，但差異不明顯(圖二)。

免疫分析法檢測植體中巴拉刈之殘留量

利用免疫分析試劑組內所附 0、50、250、500 ppt 之巴拉刈標準液，進行免疫反應後建立之標準曲線，做為植體內藥劑殘留量之計算依據。巴拉刈以 1.2 g ha^{-1} 劑量噴施胡瓜及玉米植株後，經一個月連續採樣分析殘留量；顯示試驗中對照株樣品

內之巴拉刈含量，均小於最低偵測劑量(表一)。噴後四小時之胡瓜植株藥劑殘留量為 $63.59 \text{ ?g (g fwt)}^{-1}$ ，6 日後降至 $38.83 \text{ ?g (g fwt)}^{-1}$ ，為噴藥當日之 61%，21 日後持續減少至 32%，至 30 日仍可測得 $11.01 \text{ ?g (g fwt)}^{-1}$ 之巴拉刈(表一)。玉米植株在噴後四小時檢測之藥劑殘留量較胡瓜略高，為 $81.51 \text{ ?g (g fwt)}^{-1}$ ，6 日後降至 $52.07 \text{ ?g (g fwt)}^{-1}$ ，為噴藥當日之 64%，15 日後減少為噴藥當日之 27%，30 日測得之殘留巴拉刈為 $5.07 \text{ ?g (g fwt)}^{-1}$ (表一)。比較兩種測試作物接觸微量巴拉刈後，玉米植株在噴後四小時測得之殘留量較胡瓜略高，但在處理兩星期後之藥劑消失速率卻明顯加快，因此 30 日測得的數值反而較胡瓜為低。

表一、免疫分析法偵測胡瓜及玉米萌後處理巴拉刈之植體殘留量¹⁾Table 1. Paraquat residues in cucumber and corn detected by a magnetic particle-based ELISA¹⁾

Days after application	Residual level (ng gfw^{-1}) ²⁾	
	Cucumber	Corn
0	63.59 \pm 0.18	81.51 \pm 0.35
3	49.79 \pm 0.13	70.04 \pm 0.31
6	38.83 \pm 0.11	52.07 \pm 0.19
9	22.59 \pm 0.14	45.54 \pm 0.15
12	22.35 \pm 0.06	36.21 \pm 0.18
15	21.82 \pm 0.11	21.83 \pm 0.09
18	21.12 \pm 0.10	15.38 \pm 0.12
21	20.06 \pm 0.05	10.01 \pm 0.11
24	17.65 \pm 0.08	8.76 \pm 0.09
27	13.42 \pm 0.05	6.80 \pm 0.09
30	11.01 \pm 0.05	5.07 \pm 0.09

¹⁾ Paraquat was applied at 1.2 g ha⁻¹ to cucumber and corn plants; initial sampling time was 4 h after paraquat application.

²⁾ Mean values of paraquat detected using the immunoassay were 0.43 \pm 0.05 and 0.56 \pm 0.02 ng (g fwt)⁻¹ on non-treated cucumber and corn, respectively.

表二、巴拉刈引起胡瓜及玉米植株發生異常生育反應之天數¹⁾Table 2. Occurrence time for phytotoxicity and growth inhibition of cucumber and corn plants caused by paraquat¹⁾

Investigated items	Cucumber	Corn
Phytotoxicity (injury > 10 %)	3-18 DAA ²⁾	6-12 DAA
Agronomic characteristic		
Plant height (inhibition > 10 %)	3-18 DAA	—
Leaf number (inhibition > 10 %)	—	—
Fresh weight (inhibition > 10 %)	6-15 DAA	6-9 DAA
Chlorophyll fluorescence		
F ₀ (abnormality > 5 %)	3-6 DAA	—
Fv/Fm (abnormality > 5 %)	6-12 DAA	—
Paraquat residue (ng (g fwt)^{-1})	4 h-30 DAA	4 h-30 DAA

¹⁾ Paraquat was applied at 1.2 g ha⁻¹ to cucumber and corn plants.

²⁾ DAA: days after application.

巴拉刈藥害診斷分析

以 1.2 g ha⁻¹ 劑量之巴拉刈分別處理胡瓜及玉米 2-3 葉齡植株，比較外觀形態藥害發生程度，株高、葉數、鮮重等生育抑制，葉片葉綠素螢光異常反應，及植體內

殘留巴拉刈之可檢測天數 (表二)；顯示胡瓜在處理後 3-18 日期間，藥害程度均超過 10%，玉米發生同等級藥害之天數較晚且較早恢復 (6-12 日)；株高、葉數及鮮重等生育指標中，葉片數幾乎不受巴拉刈處理

之影響，胡瓜株高則在 3-18 日期間之抑制率大於 10%，但兩種測試作物之鮮重，分別在噴藥後 6 日至 9 或 15 日期間之抑制率高於 10%；即鮮重對巴拉刈之反應較其他兩者敏感。葉片葉綠素螢光之異常僅出現在胡瓜上，但影響不明顯且易恢復。植體巴拉刈殘留之可偵測天數，在胡瓜及玉米均為 30 日。比較各項與巴拉刈引起藥害有關之分析，以免疫分析法偵測藥劑殘留之持續天數最久，其次為鮮重反應，兩者配合藥害徵狀，可提供作物接觸微量巴拉刈後約 30 日之藥害診斷期限。此外兩種測試作物對巴拉刈之反應亦不相同，玉米具有較高之藥劑忍受性。

討 論

巴拉刈具有產生自由基氧化膜脂之特性，強光下導致植物綠色部位迅速出現褐化乾枯之藥斑，但在植體內因為傳導距離有限，一般僅影響局部細胞的活性，大部分植物仍會恢復正常的生育^(7, 8)。田間巴拉刈噴施時，粒徑細小之藥滴往往會隨風飄散，導致周圍田區內作物接觸到微量的藥劑而引起藥斑，對短期栽培之葉菜類等作物，在短短一個月內即需採收之情況下，有可能無法恢復正常外觀而影響產品品質。本研究以 1.2 g ha⁻¹ 超低劑量巴拉刈，施用於 2-3 葉齡之玉米及胡瓜植株上，四小時後已出現褐化乾枯之典型藥害徵狀，雖然作物間的藥斑大小與發生頻度不同，但藥害程度在一星期後均停止擴展，只是胡瓜因為較敏感，處理後三星期左右，植株並未完全恢復生育，因此藥害部位仍占整體植株之 10% 左右 (圖一)。植株鮮重的測量顯示：施藥後一至二星期間，出現 10% 以上之生長抑制現象 (圖一)；較之株高及葉數對藥劑的反應敏感。胡瓜株高在處理後 3 日亦呈現 15% 之抑制率，且在 18 日仍較對照株明顯矮化 (抑制率

10%)，可能與巴拉刈噴及莖頂，影響生長點細胞的正常生育有關。葉綠素螢光反應為一敏感之非破壞性光合作用偵測指標，但容易受到植株生長勢，及溫度、日照強度等氣候環境對葉片生理之影響，且對不同種類之逆境，並無專一之表現型式 (pattern)，凡是影響光合作用效率之因子，不論是捕捉光子的能力，或光反應系統中的電子傳遞速率，均會造成葉綠素螢光相關參數測值之改變^(2, 10, 25)。巴拉刈為接觸型藥劑，所引起之藥害徵狀多為局部現象，在測定葉綠素螢光反應時，因藥斑分布的面積及頻度，影響螢光測定的位置，一般在表達植株整體藥害反應上，較系統性藥劑不具代表性 (圖二)。測試胡瓜在巴拉刈噴施初期，Fo 及 Fv/Fm 值即呈現異常變化，但試驗中亦觀察到藥劑處理過之葉片，較對照株有提早老化之趨勢，可能與 Fv/Fm 值在施藥後兩星期左右，仍有 5% 左右之異常有關；亦即巴拉刈處理對葉片光合作用效率有明顯之抑制 (表二)。

植體內除草劑殘留分析結果可提供藥害診斷之直接證據；利用光電比色計及層析儀檢測巴拉刈頗具穩定性及專一性^(4, 24)。但在田間實際狀況下，栽培者意識到藥害發生時，往往距離噴藥已有一段時間，此時大部分藥劑在環境中被分解，或在植體內代謝至極低量，若為微量接觸引起之藥害，殘留在植體的藥劑量，更是低於傳統儀器分析所能偵測之最低限度，提高樣品中殘留藥劑檢測之困難度。免疫分析法具有高靈敏度及專一性之特性；Paraquat RaPID 分析試藥組 (RaPID assay kits) 雖為多株抗體，但在進行交叉反應 (cross reactivities) 時，與其他類似化合物如 diquat；對此抗體有不同程度之反應，因此兩種化合物可檢測到之最低劑量範圍有很大的差異；巴拉刈為 0.02 ppb，diquat 為 112 ppb，針對植體中殘留之特定除草劑檢測，表現相當程度的專一

性，實用上降低了延遲採樣的限制。免疫反應有可能因為樣品的不同、萃取溶劑的差異，產生所謂基質效應的干擾，而影響偵測結果^(11, 12, 13, 15, 16, 26)，因此針對特定作物之微量除草劑檢測，必須比較同種作物之對照植株基礎測值，與受害株的差異範圍，藉以判定所測得藥劑在植體內的實際殘留量。

超低量巴拉刈處理 2-3 葉齡之胡瓜及玉米植株後一星期內，引起外觀異常及抑制鮮重等，施藥後 18 日兩者均恢復至與對照植株表現相近；葉綠素螢光在植株受害初期，外觀徵狀尚不明顯時，即可反應出內部生理變化，但接觸型藥劑僅造成植株局部性藥斑，需要增加測定點數以彌補代表性之不足；同時由試驗結果顯示；受害葉片易於老化，偵測葉綠素螢光反應之適用期短且專一性低。施藥後 30 日利用免疫分析法仍可測得植體殘留之巴拉刈，在研判作物是否接觸到除草劑上提供了直接的佐證，只是需考慮不同作物間之測值差異，需以同種作物之對照株測值作為比對的基礎，不致因免疫分析法偵測靈敏度過高，導致與事實不盡相符之推論。

免疫分析法靈敏度高，操作簡易可同時處理大量樣品，且所測得之藥劑殘留量變化與藥害徵狀評級、生育抑制及葉綠素螢光異常，亦有明顯關係（表二），除可快速提供藥害診斷上之直接證據外，亦有延長檢測期限之實用價值。但除草劑之商品化免疫試劑仍不普遍，因此目前可供應用之藥劑種類不多且價格昂貴，實為免疫分析法目前應用在藥害診斷上的主要限制因子。

引用文獻

1. 費雯綺、王玉美 編。2002。植物保護手冊。行政院農委會農業藥物毒物試驗所編印。臺中。652-759 頁。
2. 蔡玉萍、蔣慕琰、朱德民。1996。草殺

淨所引起植物之型態異常及葉綠素螢光之變化。中華民國雜草會刊 17：27-42。

3. 蔡玉萍、蔣永正、蔣慕琰、朱德民。1999。草殺淨 (Ametryn) 引起作物藥害之免疫分析。中華農藝 9：11-18。
4. 蔣永正、蔣慕琰。1996。稻作淺水環境下水中巴拉刈之消退及殘留活性。中華民國雜草會刊 17：47-57。
5. 蔣永正、蔣慕琰。2002。農藥藥害的發生與診斷。行政院農委會農業藥物毒物試驗所印行。臺中。122-124 頁。
6. 蔣永正、蔣慕琰、劉威廷、蔡瑞真。1999。稻田田水殘留之百速隆 (pyrazosulfuron-ethyl) 引起非目標作物藥害之潛力。植保會刊 41：67-78。
7. 蔣慕琰、蔣永正。2001。農田雜草管理及除草劑簡介。行政院農委會農業藥物毒物試驗所出版。臺中。69 頁。
8. Devine, M. D., Duke, S. O., and Fedtke, C. 1993. Physiology of herbicide action. Prentice-Hall, UK. 441pp.
9. Ferris, I. G., and Haigh, B. M. 1992. Prediction of herbicide persistence and phytotoxicity of residues. pp. 193-201. In: J. H. Combellack, K. J. Levick, J. Parsons, and R. G. Richardson [eds.], Proc. 1st National Weed Control Congress, Melbourne, Australia.
10. Habash, D., Percival, M. P., and Baker, N. R. 1985. Rapid chlorophyll fluorescence technique for the study of penetration of photosynthetically active herbicides into leaf tissue. Weed Res. 25: 389-395.
11. Hall, J. C., Deschamps, R. J. A., and McDermott, M. R. 1990. Immunoassays to detect and quantify herbicides in the environment. Weed Technol. 4: 226-234.
12. Hardy, C. L., and Hurburgh, Jr. C. R. 1994. Immunoassay detection of

herbicide residues in corn. Cereal Chem. 71(2): 107-111.

13. Jourdan, S. W., Scutellaro, A. M., Hayes, M. C., and Herzog, D. P. 1994. A new sample preparation system for immunoassay detection of pesticides on fruit. Poster Presented at the California Pesticide Residue Workshop. Ohmicron Corporation, Newtown, PA.
14. Jung, F., Gee, S. J., Harrison, R. O., Goodrow, M. H., Karu, A. E., Braun, A. L., Li, Q. X., and Hammock, B. D. 1989. Use of immunochemical techniques for the analysis of pesticides. Pestic. Sci. 26: 303-317.
15. Lawruk, T. S., Hottenstein, C. S., Herzog, D. P., and Rubio, F. M. 1992. Quantification of alachlor in water by a novel magnetic particle-based ELISA. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 48: 643-650.
16. Lawruk, T. S., Hottenstein, C. S., Fleeker, J. R., Hall, J. C. D., Herzog, P., and Rubio, F. M. 1994. Quantification of 2,4-D and related chlorophenoxy herbicides by a magnetic particle-based ELISA. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 52: 538-545.
17. Monaco, T. J., Bonanno, A. R., and Baron, J. J. 1986. Herbicide injury: diagnosis, causes, prevention and remedial action. pp. 399-428. In N. D. Camper [ed.], Research Methods in Weed Science. Southern Weed Science Society, USA.
18. Muldoon, M. T., and Nelson, J. O. 1994. Pesticide waste treatment monitoring of s-triazines using immunoassay. J. Agric. Food Chem. 42: 1686-1692.
19. Richard, Jr. E. P., Goss, J. R., Arntzen, C. J., and Slife, F. W. 1983. Determination of herbicide inhibition of photosynthetic electron transport by fluorescence. Weed Sci. 31: 361-367.
20. Selisker, M. Y., Herzog, D. P., Erber, R. D., Fleeker, J. R., and Itak, J. A. 1995. Determination of paraquat in fruits and vegetables by a magnetic particle based enzyme-linked immunosorbent assay. J. Agric. Food Chem. 43: 544-547.
21. Sherman, T. D., and Vanghn, K. C. 1991. Immunology in weed science. Weed Sci. 39: 514-520.
22. Stearman, G. K., and Anams, V. D. 1992. Atrazine soil extraction techniques for enzyme immunoassay microtiter plate analysis. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 48: 144-151.
23. Stearman, G. K., and Wells, M. J. M. 1993. Enzyme immunoassay microliter plate response to atrazine and metolachlor in potentially interfering matrices. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 51: 588-595.
24. Takino, M., Daishima, S., and Yamaguchi, K. 2000. Determination of diquat and paraquat in water by liquid chromatography/electrospray-mass spectrometry using volatile ion-pairing reagents. Anal. Science 16: 707-711.
25. Voss, M., Renger, G., Kotter, C., and Graber, P. 1984. Fluorometric detection of photosystem II herbicide penetration and detoxification in whole leaves. Weed Sci. 32: 675-680.
26. Wigfield, Y. Y., and Grant, R. 1993. Analysis for atrazine in fortified cornmeal and corns using a commercially available enzyme immunoassay microliter plate. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 51: 171-177.

ABSTRACT

Chiang, Y. J.*, and **Chiang, M. Y.** 2003. **Effect of an ultra-low rate of paraquat application on corn and cucumber: phytotoxicity and residue detection.** Plant Prot. Bull. 45: 295 – 304. (Plant Toxicology Division, Taiwan Agricultural Chemicals and Toxic Substances Research Institute, Wufeng, Taichung, Taiwan 413, ROC)

Paraquat is a widely used herbicide for controlling upland weeds in Taiwan. Spraying under unfavorable field conditions often results in drift and injury to crops in adjacent farmland. Simple and sensitive methods for detecting responsible agents are very useful in the diagnosis of phytotoxicity of non-target plants. In this study, we detected paraquat residues in corn and cucumber by immunoassay. Paraquat was sprayed over the top of potted plants at the 2- to 3-leaf stage at a rate of 1.2 g ha^{-1} . Characteristic symptoms, agronomic parameters, and changes in chlorophyll fluorescence were also investigated. Paraquat-treated plants showed localized necrotic spots on cucumber and corn leaves. Phytotoxicity of paraquat treatment at 1.2 g ha^{-1} on cucumber and corn was observed at 3-18 and 6-12 days after application, respectively. There was a $>10\%$ of reduction in fresh weight of treated crops at 6-15 and 6 – 9 days after application for corn and cucumber, respectively. Paraquat-treated plants resulted in higher initial fluorescence (F_0) but lower F_v/F_m . However, these changes were not significant. At 30 days after application, 11.01 and $5.07 \text{ ng (g fwt)}^{-1}$ of paraquat could be still detected using this immunoassay on cucumber and corn, respectively. The immunoassay provides a longer detection period and additional information on the diagnosis of paraquat in addition to visual symptoms.

(Key words: paraquat, phytotoxicity, chlorophyll fluorescence, residual analysis, ELISA)

*Corresponding author. E-mail: cyj@tactri.gov.tw