

嘉磷塞(glyphosate)引起作物藥害與 莽草酸(shikimate)累積之關係

蔣永正* 蔣慕琰

台中縣霧峰鄉 農委會農業藥物毒物試驗所 公害防治組

(接受日期：2006年9月30日)

摘 要

蔣永正*、蔣慕琰 2006 嘉磷塞(glyphosate)引起作物藥害與莽草酸(shikimate)累積之關係 植保會刊 48：243 – 252

本研究以植株噴施及葉圓片浸泡藥液兩種處理方式，探討細胞內 shikimate 累積與嘉磷塞毒害之關係，作為藥害診斷依據及確定其適用之範圍。噴施 65-1,025 g ha⁻¹ 系列劑量之嘉磷塞，於 4-6 葉齡之玉米及胡瓜植株後，定期測定葉片內 shikimic acid 含量。以 65 g ha⁻¹ 劑量嘉磷塞噴施後 2 日，引起玉米葉片內之 shikimate 含量增加 2 倍，施用劑量提高為 1,025 g ha⁻¹ 時則上升至 2.9 倍，呈二次曲線之增加趨勢。胡瓜對測試藥劑亦有相近之反應趨勢，唯 shikimate 累積量明顯較玉米葉片為高。另以 512 g ha⁻¹ 之嘉磷塞噴施玉米植株，shikimate 之增加量自施藥後四小時之 1.1 倍上升為 14 日之 5.9 倍，施藥後 1 日即呈直線增加之趨勢。胡瓜之反應則以 1-4 日間之累積速率最為明顯。以 512 g ha⁻¹ 劑量之嘉磷塞噴施所造成之作物毒害程度以萵苣 98±1 % 最嚴重，番茄、甘藍、胡瓜及玉米次之，綠豆 45±5 % 較輕微；而在 shikimate 累積變化上亦以萵苣增加 21.7 倍最為明顯，番茄、甘藍、胡瓜及玉米介於 2.3-5.7 倍間，綠豆之 2.3 倍為較低。顯示不同作物遭受嘉磷塞毒害時，葉片內 shikimate 累積量均有提高，只是作物間之反應程度有明顯差異。本研究另以切離組織葉圓片為材料，發現玉米葉圓片在 25 ppm 嘉磷塞處理範圍內，葉片葉綠素含量逐漸減少至 25% 左右，shikimate 累積量亦隨藥劑濃度之提高明顯上升，最多增加至 1.4 倍。達 50 ppm 劑量時，葉綠素含量快速降低約 62%，shikimate 含量亦有明顯減少之趨勢，超過 125ppm 以上更較對照樣品減少 9-21%。顯示玉米葉圓片內 shikimate 累積對嘉磷塞之劑量反應在 25 ppm 範圍內。胡瓜葉圓片之 shikimate 累積量則隨測試劑量提高而上升。以 25 及 2500 ppm 嘉磷塞處理甘藍及萵苣葉圓片，其葉綠素及 shikimate 含量與玉米有近似之變化趨勢，綠豆及番茄之反應則與胡瓜葉圓片較為接近。

(關鍵詞：嘉磷塞、莽草酸、葉綠素、玉米、胡瓜、葉圓片)

* 通訊作者。E-mail: cyj@tactri.gov.tw

緒 言

嘉磷塞(glyphosate)為非選擇性系統型除草劑，植物莖葉吸收後，可經由輸導組織轉運至未與藥劑接觸之其他部位；主要作用機制為抑制細胞內 shikimate 路徑之 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase (EPSPS) 活性，影響 phenylalanine、tyrosine 及 tryptophan 三種芳香族胺基酸的合成，及木質素、花青素、酚類等二次代謝物的產生，導致植物的生育受阻死亡^(8, 12)。嘉磷塞於 1973 年即在臺灣登記，最早用於柑桔園之雜草防除，其後數年間陸續擴大使用對象，包括整地前水田、蔗園、茶園、大部分的果園、非耕地及水生雜草布袋蓮，為臺灣地區目前登記範圍最廣，且實際使用也最普遍之除草劑⁽³⁾；在有效成份每公頃 1.6-2.8 kg 施用量下，對一年生及大部分多年生雜草之控制效果良好；通常藥劑噴施後約 4-7 日，葉片上葉脈附近之葉肉組織，及生長點部位會先顯現黃白化之異常徵狀，其後植株生長停滯，最後導致組織潰爛褐化枯死，藥效完全發揮則需約 2-3 週；但高溫及強日照環境下，會加速嘉磷塞對植物的作用⁽⁵⁾。

嘉磷塞引起作物藥害，歸因於施用時的失誤而噴及鄰近植株，由於藥劑吸收後很快傳導至植株各部位，且容易累積在代謝活性高之生長旺盛組織，即使微量接觸也會隨作物的種類及大小，表現不同之受害程度，甚至對多年生果樹次年萌發之枝芽也有殘留效應⁽⁴⁾。目前藥害診斷仍以徵狀辨識為主，但大部分栽培者察覺作物生育異常，往往是在接觸藥劑後的相當時日，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菌、蟲等的感染變得不明顯；

尤其對可能發生類似徵狀的不同除草劑，更增加了徵狀診斷在實際利用上的困難度^(4, 16)。近年來由於嘉磷塞抗性植物發生頻繁，為了快速檢測出抗性品系，有關嘉磷塞毒害之非破壞性偵測方法研究頗受重視，shikimate 累積之劑量反應亦為其中重要項目之一^(11, 13, 15)。嘉磷塞的作用機制是與 preEPSPS 及 shikimate-3-phosphate(S-3-P) 先形成 enzyme-S-3-P-glyphosate 之複合體，以抑制 preEPSPS 進入葉綠體，因而阻礙葉綠體內 shikimate 路徑之進行^(1, 8, 12)。因此嘉磷塞處理之植株，在外觀形態尚未顯示藥害徵狀時，實際已造成 shikimate 的明顯累積；水稻 14 日秧苗及白菜 5 日幼苗經嘉磷塞噴施後，隨處理天數及濃度的增加，shikimate 含量會逐漸提高⁽²⁾。此外由於嘉磷塞被植物吸收後會快速傳導至植株各部位，且主要累積在根及莖頂等分裂旺盛組織，尤其是敏感植物於嘉磷塞處理後，會造成幼嫩葉片中所含之 shikimate 大量累積^(2, 10, 19)。本研究依據嘉磷塞處理後引起細胞內 shikimate 累積的作用^(12, 17, 18)，分析嘉磷塞在不同處理劑量及時間，所引起植物之藥害程度與 shikimate 含量變化之相關性。針對植株噴施及葉圓片浸泡之處理方式，比較葉片內 shikimate 含量的變化差異，除確立嘉磷塞引起植物毒害與 shikimate 含量增加之相關性，同時作為嘉磷塞藥害診斷之依據及選擇適用範圍之參考。

材料與方法

植株噴施試驗

盆栽試驗採用之測試材料為購自農友種苗公司之玉米(*Zea mays*, 華珍 3 號)、胡瓜(*Cucumis sativus*, 清綠)、甘藍(*Brassica oleracea*, 高峰甘藍)、番茄(*Lycopersicon esculentum*, 農友 301)及萵苣(*Lactuca sativa*, 尖葉種)，及由台南區農業改良場提供之綠豆

(*Vigna radiata*, 朴子)等種子。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), 於玉米及胡瓜生長至 2-3 葉完全展開時(播種後約 11-15 天), 每盆間苗成一株。種植後 2 星期(葉齡 4-6 葉)時以高壓二氧化碳人工噴藥機, 噴嘴型號 LF-2 80°, 噴幅 50 cm, 在壓力 2.1 kg cm⁻² 下, 將 65 - 1025 g ha⁻¹ 系列稀釋劑量之嘉磷塞(億豐農化廠股份有限公司, 41%液劑)均勻噴施於植株上。於噴後 4 小時及 1、2、4、8、14 日採樣, 測定葉片內 shikimate 含量。

甘藍、番茄、萵苣及綠豆植株亦於 4-6 葉齡時, 以 512 g ha⁻¹ 之嘉磷塞均勻噴施於植株上。於噴後 14 日採樣, 測定葉片內 shikimate 含量, 及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)⁽¹⁶⁾, 並記錄藥害徵狀及恢復情形, 以分析作物受害與 shikimate 累積量變化之關係。

本研究各試驗均為三重複, 每重複兩盆。劑量反應資料以回歸分析方法, 估算 shikimate 累積量與嘉磷塞處理劑量之關係。不同測試作物之各項調查分析結果以 mean±SE 表示。

葉圓片浸藥試驗

將前述盆栽 4-6 葉齡之玉米及胡瓜植株, 分別摘取莖頂完全展開之上位葉, 取直徑 0.6 cm 之葉圓片 30 片, 以 20 ml 不同濃度之嘉磷塞藥液處理, 並置於 25 °C 及 300 μE m⁻² s⁻¹ 光強度下照光四小時後取出, 並以去離子水洗淨, 其中 25 個葉圓片用為測定 shikimate 含量, 另外 5 個葉圓片用為測定葉片之葉綠素含量。

甘藍、番茄、萵苣及綠豆之 4-6 葉齡植株, 亦分別如上述之玉米及胡瓜處理方式, 測定葉片 shikimate 及葉綠素含量。

本研究各試驗均為三重複, 每重複兩盆。不同測試作物之各項調查分析結果以 mean±SE 表示。

葉片 shikimate 含量分析

樣品萃取及檢測: 樣品先以液氮研磨至粉碎, 再加入 0.25 N HCl 繼續研磨; 樣品鮮重與 HCl 體積之比例分布在 1:1 至 1:3 範圍內, 萃取液並置於 25,000 xg 下離心 15 分鐘, 收集上清液作為 shikimate 分析用。檢測 shikimate 主要依據 Singh 及 Shaner (1998)⁽²¹⁾ 的比色法略作修正; 將 50 μl 之 shikimate 萃取液加入 0.5 ml 之 1% periodic acid 溶液, 靜置 3 小時將 shikimic acid 氧化後, 再與 0.5 ml 之 1 N NaOH 及 0.3 ml 之 0.1 M glycine 均勻混合後, 於 380 nm 波長下量測吸光度, 並經由 shikimate 標準曲線換算出樣品中濃度。每處理樣品之 shikimate 含量以每克鮮重為基礎, 再換算為處理與對照樣品百分比型式之數據, 以比較處理間差異。

葉片葉綠素含量分析

葉圓片以液氮粉碎後, 加入 5 ml 之 80% acetone 研磨均質, 萃取液以 1,000 xg 離心 15 分鐘後取上清液, 於 645 及 663 nm 波長下量測吸光度。每處理樣品之葉綠素含量以每克(g)鮮重為基礎, 換算公式⁽⁷⁾為

$$\text{葉綠素含量(mg g fwt}^{-1}\text{)} = [(20.29 \times A_{645} + 8.02 \times A_{663}) \times \text{總液量} \times \text{稀釋倍數}] / \text{葉片重(g)}$$

結 果

植株噴施試驗

將 65-1,025 g ha⁻¹ 系列稀釋之嘉磷塞劑量, 分別噴施於 4-6 葉齡之玉米及胡瓜植株, 調查不同處理下引起 shikimate 累積量之變化, 玉米及胡瓜對照株之含量分別為 35±5 及 46±8 μmol gfw⁻¹。嘉磷塞以 65 g ha⁻¹ 劑量噴施後 2 日, 引起玉米葉片內之 shikimate 含量增加 2 倍, 噴施劑量為 1,025 g ha⁻¹ 時則上升為 2.9 倍, shikimate 含量隨

噴施劑量之提高呈二次曲線之增加趨勢(圖一)。胡瓜對測試藥劑亦有近似之反應，只是同一劑量下 shikimate 累積量較玉米葉片明顯為高(圖一)。噴施劑量由 65 g ha^{-1} 提高為 $1,025 \text{ g ha}^{-1}$ 時，於施用後 2 日葉片增加之 shikimate 含量由 2.2 倍上升至 4 倍(圖一)。胡瓜葉片內引起 shikimate 增加 3 倍所需之劑量為 256 g ha^{-1} ，玉米則為 $1,025 \text{ g ha}^{-1}$ 劑量(圖一)。

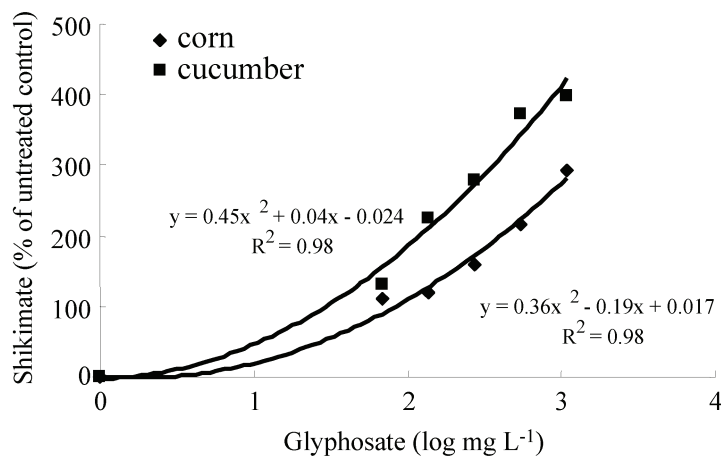
以 512 g ha^{-1} 之嘉磷塞噴施於 4-6 葉齡之玉米及胡瓜植株上，於施藥後四小時及 1、2、4、8、14 日採樣測定 shikimate 含量變化。玉米植株之 shikimate 含量從嘉磷塞噴施後四小時之 $37 \pm 2 \text{ } \mu\text{mol gfw}^{-1}$ 增加至 14 日之 $205 \pm 12 \text{ } \mu\text{mol gfw}^{-1}$ (為對照之 1.1-5.9 倍)，施藥後 1 日起即呈直線增加之趨勢(圖二)。嘉磷塞對胡瓜 shikimate 含量之影響則以 1-4 日間之累積速率最為明顯，shikimate 累積量由 1.7 倍增至 4.2 倍，但在 4 日後之累積速率並未顯著增加，至 14 日增為 5.6 倍(圖二)。

另以 512 g ha^{-1} 劑量之嘉磷塞分別噴施於 4-6 葉齡之甘藍、番茄、萵苣及綠豆植

株上，於施藥後 14 日採樣，調查藥害發生程度及測定 shikimate 含量之變化。研究發現葉片黃化、乾枯為嘉磷塞引起作物藥害之主要徵狀。嘉磷塞造成萵苣之毒害高達 $98 \pm 1 \%$ 最為嚴重，番茄、甘藍、胡瓜及玉米次之，綠豆 $45 \pm 5 \%$ 較輕微(表一)。Shikimate 累積量之變化亦以萵苣增加為 22.7 倍最明顯，胡瓜、玉米、番茄及甘藍介於 5.6 -6.7 倍間，綠豆 3.3 倍為最低(表一)。結果顯示不同作物遭受嘉磷塞毒害時，葉片內之 shikimate 累積量亦隨之增加，顯然作物藥害程度較嚴重者，其 shikimate 累積變化之幅度也較大(表一)。

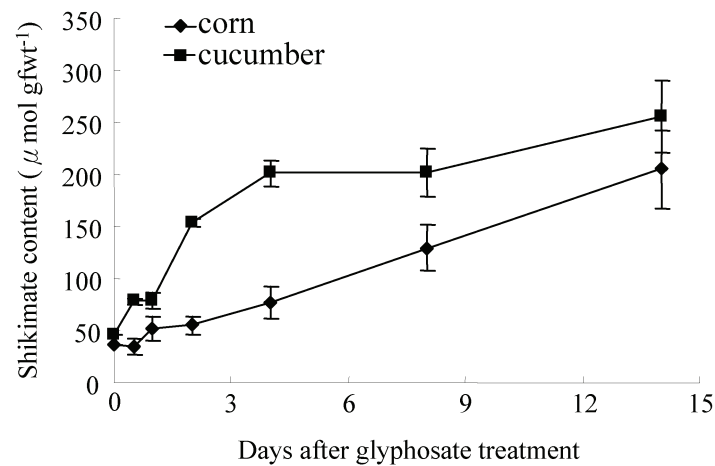
葉圓片浸藥試驗

取自玉米及胡瓜植株莖頂已展開上位葉之葉圓片，以不同濃度之嘉磷塞藥液處理，經照光處理後測定樣品中 shikimate 及葉綠素含量。在低於 25 ppm 以下之範圍內，葉綠素含量隨藥劑濃度提高而減少，25 ppm 時下降約 25%，shikimate 累積量則明顯上升，最高增為 1.4 倍(圖三)。處理劑量提高至 50 ppm 時，玉米葉圓片內葉綠素



圖一、玉米及胡瓜幼苗於嘉磷塞噴施後 2 日葉片內 shikimate 含量變化。玉米及胡瓜未處理對照株之 shikimate 含量分別為 35 ± 5 及 $46 \pm 8 \text{ } \mu\text{mol gfw}^{-1}$ 。

Fig. 1. Shikimate in leaf part of corn and cucumber seedlings 2 days after glyphosate treatment at different rates. Shikimate in untreated control plants of both corn and cucumber were 35 ± 5 and $46 \pm 8 \text{ } \mu\text{mol gfw}^{-1}$, respectively.



圖二、玉米及胡瓜植株處理嘉磷塞後之 shikimate 含量變化。

Fig. 2. Shikimate accumulation in leaves of corn and cucumber seedlings within 14 days after treatment with 512 g/ha of glyphosate.

表一、嘉磷塞引起作物毒害及 shikimate 含量之變化

Table 1. Phytotoxicity and shikimate accumulation in tested crops 14 days after treatment with 512 g ha⁻¹ of glyphosate

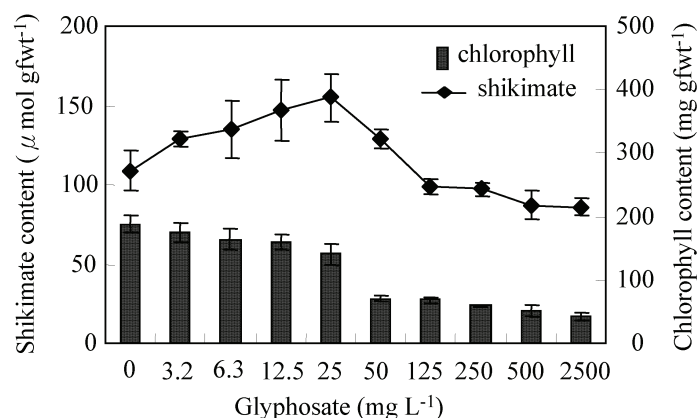
Crop	Phytotoxicity (%)	Shikimate accumulation (μmol gfw ⁻¹)
Cabbage	78±7	296±11 (673 %) ¹⁾
Corn	60±2	205±11 (586 %)
Cucumber	73±9	256±11 (557 %)
Lettuce	98±1	250±11 (2273 %)
Mungbean	45±5	131±11 (328 %)
Tomato	89±3	233±11 (597 %)

¹⁾Values in parenthesis were the percentage of untreated plants.

含量降低 62%左右, shikimate 含量反較 25 ppm 時減少約 20%, 且隨劑量增加有逐漸減少之趨勢, 達 125 ppm 以上之處理時, shikimate 含量均較對照樣品降約 9-21%(圖三)。玉米葉圓片之外觀觀察顯示, 在 25 及 50 ppm 處理下, 葉色由 20%之局部黃化轉變為 80%以上之褐化現象。胡瓜葉圓片之葉綠素及 shikimate 含量變化與玉米反應有明顯差異(圖四)。葉圓片之外觀變化以黃化為主要徵狀。最高劑量 2500 ppm 處理

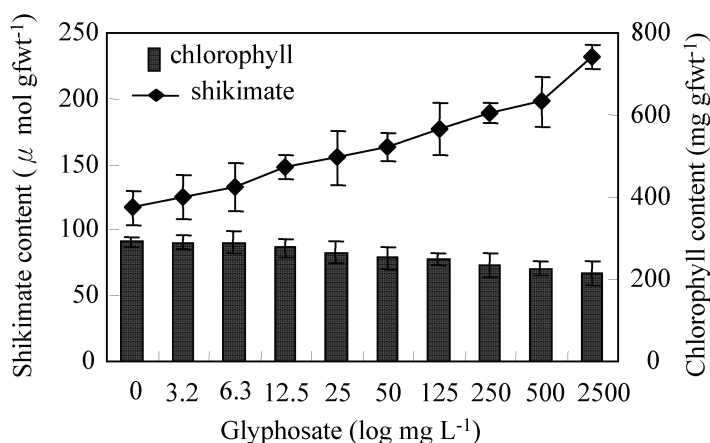
下, 葉綠素含量減少約 27%, shikimate 增加約 91%。胡瓜葉圓片之葉綠素及 shikimate 含量在處理劑量範圍內, 與嘉磷塞均顯示明顯之劑量反應關係(圖四)。

選擇玉米葉圓片內引起 shikimate 含量變化趨勢迥異之 25 及 2500 ppm 劑量, 處理甘藍、番茄、萵苣及綠豆植株已展開上位葉之葉圓片, 照光後測定樣品中 shikimate 及葉綠素含量。甘藍葉圓片在 25 ppm 處理下, 葉綠素含量降低約 19%,



圖三、不同劑量嘉磷塞處理後之玉米葉圓片內 shikimate 及葉綠素含量變化。

Fig. 3. Changes in the contents of shikimate and chlorophyll of corn leaf discs as influenced by different rates of glyphosate.



圖四、不同劑量嘉磷塞處理後之胡瓜葉圓片內 shikimate 及葉綠素含量變化。

Fig. 4. Changes in the contents of shikimate and chlorophyll of cucumber leaf discs as influenced by different rates of glyphosate.

shikimate 累積為對照株之 1.7 倍量，2500 ppm 時葉綠素降低達 65%，shikimate 亦減少為對照株之 86% (表二)。萵苣亦有類似之變化趨勢，高劑量處理雖僅引起葉綠素含量減低約 16%，但 shikimate 含量並未隨劑量提高呈現增加現象，只是仍有累積現象發生 (分別增加 1.8 倍及 1.1 倍) (表二)。甘藍及萵苣之 shikimate 含量在 25 及 2500 ppm 嘉磷塞處理下，與玉米葉圓片有相近似之變化趨勢 (表二)。綠豆葉圓片經

25 及 2500 ppm 藥劑處理，其葉綠素含量分別減少約 7% 及 15%，shikimate 含量則增加 1.7 及 2.1 倍 (表二)。番茄之反應與綠豆相近，高劑量處理下，葉綠素含量降低約 22%，shikimate 含量增加為低劑量 2 倍 (表二)。綠豆及番茄之反應則與胡瓜葉圓片較為接近 (表二)。以切離之葉圓片處理藥劑的方式，亦顯現出 shikimate 之累積隨劑量、時間及測試作物之類別有不同的反應趨勢。

表二、嘉磷塞對作物葉圓片葉綠素及 shikimate 含量變化之影響

Table 2. Chlorophyll content and shikimate accumulation in leaf discs after incubation in different concentrations of glyphosate for 4 hours

Crop	Glyphosate			
	25 mg L ⁻¹		2500 mg L ⁻¹	
	Chlorophyll content (mg gfw ⁻¹)	Shikimate accumulation (μ mol gfw ⁻¹)	Chlorophyll content (mg gfw ⁻¹)	Shikimate accumulation (μ mol gfw ⁻¹)
Cabbage	252±10(81 %) ¹⁾	185±7(167 %)	109±16(35 %)	96±6 (86 %)
Corn	158±17(75 %)	151±15(139 %)	45±7(35 %)	86±5(21 %)
Cucumber	256±27(91 %)	149±21(118 %)	205±30(73 %)	241±9 (191 %)
Lettuce	201±12(90 %)	81±2(279 %)	188±5(84 %)	62±12 (210 %)
Mungbean	283±31(93 %)	160±5(165 %)	259±22(85 %)	206±8 (212 %)
Tomato	312±28(89 %)	107±3(129 %)	273±19(78 %)	217±11(261 %)

¹⁾ Values in parenthesis were the percentages of untreated plants.

討 論

一般耕地及非耕地使用嘉磷塞極為普遍，因此常常因為誤噴引起非目標作物的藥害。嘉磷塞在植體內的作用為系統性緩效型藥劑，通常施用後數日才可觀察到明顯的受害徵狀，10-20 日後導致植株死亡⁽¹²⁾。此與抑制側鏈胺基酸合成路徑之硫醯尿素類除草劑，在植體內引起分生組織黃化、壞疽等枯萎現象極為相似^(4, 12)，往往增加嘉磷塞藥害診斷上的複雜性，因此亟需建立一種可賴以區分之快速檢測方法。本研究中玉米及胡瓜等測試植株噴施嘉磷塞後，葉片內 shikimate 累積量隨藥劑濃度的提高及處理日數的增加，有明顯上升之趨勢(圖一、二)，顯示細胞內 shikimate 代謝路徑已受到藥劑的阻斷，類似結果亦出現在經嘉磷塞處理之香附子幼芽⁽²³⁾，苜蓿草細胞株⁽⁹⁾及蕎麥下胚軸^(6, 14)。此外施用嘉磷塞 23-750 g ha⁻¹ 於萌芽後 14 日之大豆植株，經 1 至 4 日後分析 shikimate 含量均已超過對照株 10 倍以上；萌芽後 35 日之玉米植株施用 750 g ha⁻¹ 嘉磷塞，亦會出現

shikimate 累積現象；甚至經嘉磷塞殺死之黃化乾枯組織，亦可偵測到高量之 shikimate⁽²⁾。因此檢測 shikimate 之累積量變化，可利用為嘉磷塞藥害診斷之直接佐證，甚至應用為飄散等微量接觸所引起之非目標作物的藥害研判。

嘉磷塞在許多植物體內均會導致 shikimate 的累積，但植物物種間對藥劑忍受性的差異，會改變處理劑量及時間的影響程度；以 23 g ha⁻¹ 半致死量處理白樺樹幼苗 24 到 96 小時期間，shikimate 的累積量會逐漸減少，由生理反應之數據顯示植株已慢慢恢復生長，在 shikimate 代謝路徑趨於正常情形下不會發生累積現象⁽²²⁾。但以 5 及 10 μ M 濃度之嘉磷塞處理東京白菜，5 日後 shikimate 含量增加不明顯，但高於 20 μ M 之處理濃度卻有明顯增加現象，80 μ M 時則增加為對照的 3 倍，顯示 shikimate 的累積發生在特定濃度以上之藥劑處理情況下；但品種間的反應有差異，以低濃度嘉磷塞處理青江白菜 5 日後，shikimate 含量卻較未處理株有明顯增加⁽²⁾。

本研究中以不同作物之葉圓片測試

shikimate 累積反應與藥劑濃度之相關性分析，玉米葉圓片在嘉磷塞 25 ppm 處理範圍內，shikimate 含量會隨劑量提高增加，同時葉綠素含量也明顯減少(圖三、表二)，顯示 shikimate 之累積與嘉磷塞引起之毒害密切相關，但超過 25 ppm 以上，葉片遭受藥劑之生理破壞高達 50% (葉綠素減少 62~65%) (圖三、表二)，此時 shikimate 之生成可能已受到顯著影響，導致較未處理葉片含量為低之表現。胡瓜葉圓片內 shikimate 累積對嘉磷塞之劑量反應範圍則可達 2500 ppm (圖四三、表二)。其他測試作物間之反應亦可依據玉米及胡瓜之表現，歸納出兩種不同之反應類型。因此以 shikimate 累積量分析作為嘉磷塞評估應用時，應以同時期、同地區、同種類正常生育之植株作為比較的基礎，較能得到接近事實之診斷結果⁽²⁰⁾。

引用文獻

- 張韻如、蔡文福。1998。嘉磷塞對植物的藥害與 EPSPS 活性的關係。雜草會刊 19：73-86。
- 張韻如、蔡文福。1998。嘉磷塞在土壤中之吸附特性及其對青江菜(*Brassica chinensis* L.) 幼苗之殘毒藥害。博士論文。160 頁。
- 費雯綺、王玉美。2004。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。第 701-799 頁。
- 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。第 122-124 頁。
- 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。
- Amrhein, N., Deus, B., Gehrke, P., and Steinrucken, H. C. 1980. The site of inhibition of the shikimate pathway by glyphosate. II. Interference by glyphosate with chorismate formation *in vivo* and *in vitro*. Plant Physiol. 66: 830-834.
- Arnon, D. I. 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts polyphenol oxidase in *Beta vulgaris*. Plant Physiol. 24: 1-15.
- Ashton, F. M., and Crafts, A. S. 1981. Mode of action of herbicide. John Wiley & Sons. Inc. pp. 15-19.
- Binarova, P., Cvikrova, M., Havlicky, R., Eder, J., and Plevkova, J. 1994. Changes of shikimate pathway in glyphosate tolerant alfalfa cell lines with reduced embryogenic ability. Biol. Plant. 36: 65-73.
- Cole, D. J., and Dodge, A. D. 1980. Some biochemical effects of glyphosate on plant meristems. J. Exp. Bot. 31: 1665-1674.
- Culpepper, A. S., Grey, T. L., Vencill, W. K., Kichler, J. M., Webster, T. M., Brown, S. M., York, A. C., Davis, J. W., and Hanna, W. W. 2006. Glyphosate-resistant Palmer amaranth (*Amaranthus palmeri*) confirmed in Georgia. Weed Sci. 54: 620-626.
- Devine, M. D., Duke, S. O., and Fedtke, C. 1993. Physiology of herbicide action. Prentice-Hall, UK. 441pp.
- Escorial, M. C., Sixto, H., Garcia-Baudin, J. M., and Chueca, M. C. 2001. A rapid method to determine cereal plant response to glyphosate. Weed Technol. 15: 697-702.
- Hollander, H., and Amrhein, N. 1980. The site of inhibition of the shikimate pathway by glyphosate. I. Inhibition by glyphosate of phenylpropanoid synthesis in buckwheat (*Fagopyrum esculentum*

- Moench). *Plant Physiol.* 66: 823-829.
15. Koger, C. H., Shaner, D. L., Henry, W. B., Nadler-Hassar, T., Thomas W. E., and Wilcut, J. W. 2005. Assessment of two non destructive assays for detecting glyphosate resistance in horseweed (*Conyza canadensis*). *Weed Sci.* 53: 438-445.
 16. 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.
 17. Muller, T. C., Massey, J. H., Hayes, R. M., Main, C. L., and Stewart, Jr. C. N. 2003. Shikimate accumulates in both glyphosate-sensitive and glyphosate-resistant horseweed (*Conyza canadensis* L. Cronq.). *J. Agric. Food Chem.* 51: 680-684.
 18. Perez-Jones, A., Park, K. W., and Shaner, D. 2005. Identification of glyphosate-resistant Italian ryegrass (*Lolium multiflorum*) in Oregon. *Weed Sci.* 53: 775-779.
 19. Rubin, J. L., Gaines, C. G., and Jensen, R. A. 1984. Glyphosate inhibition of 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase from suspension-cultured of *Nicotiana silvestris*. *Plant Physiol.* 75: 8439-8450.
 20. Shaner, D. L., Nadler-Hassar, T., Henry, W. B., and Koger, C. H. 2005. A rapid *in vivo* shikimate accumulation assay with excised leaf discs. *Weed Sci.* 53: 769-774.
 21. Singh, B. K., and Shaner, D. L. 1998. Rapid determination of glyphosate injury to plants and identification of glyphosate-resistant plants. *Weed Technol.* 12:527-530.
 22. Stasiak, M. A., Hofstra, G., and Fletcher, R. A. 1992. Physiological changes induced in birch seedlings by sub-lethal applications of glyphosate. *Can. J. Forest. Res.* 22: 812-817.
 23. Wang, C. Y. 2001. Effect of glyphosate on aromatic amino acid metabolism in purple nutsedge (*Cyperus rotundus*). *Weed Technol.* 15: 628-635.

ABSTRACT

Chiang, Y. J.*, and **Chiang M. Y.** 2006. **Analysis of shikimate accumulation for diagnosis of glyphosate injury to crops.** Plant Prot. Bull. 48: 243-252. (Taiwan Agriculture Chemicals and Toxic Substances Research Institute, Wufeng, Taichung 41358, Taiwan (ROC))

Glyphosate is a broad-spectrum non-selective systemic herbicide. It has been registered for postemergence application at 1.6-2.8 kg ha⁻¹ to control most established weeds in the fields in Taiwan. It shows a strong herbicidal activity at a low application rate against a wide range of upland weeds, and inadequate use could result in phytotoxicity of crops in farmland bordering the sprayed area. Simple and sensitive methods for detecting the responsible agent are very useful in the diagnosis of phytotoxicity. Glyphosate inhibits the biosynthesis of aromatic amino acids, and causes accumulation of shikimate in plants. This research was conducted to investigate the relationship between phytotoxicity and shikimate accumulation caused by glyphosate for diagnosis of herbicide injury. Both corn and cucumber plants at 4-6 leaf stage were treated with glyphosate at various dosages. Affected plants showed leaf yellowing, crinkle and reduction of leaf size. Foliar application of glyphosate at 65-1,025 g ha⁻¹ resulted in the rapid accumulation of shikimate in corn and cucumber plants within 14 days. High dosage of glyphosate caused marked accumulation of shikimate. There was a close relationship between phytotoxicity and shikimate accumulation of glyphosate-treated plants. This suggested that high level of shikimate content in an affected plant was an indication of glyphosate injury. Leaf discs assay were used to measure changes in shikimate accumulation in a solution containing glyphosate. Shikimate accumulation in corn leaf discs reached a maximum at 25 ppm glyphosate, but decreased markedly at 50 ppm. Chlorophyll content of corn leaf discs declined to 62 % compared to untreated samples. At the concentrations ranging from 25 to 2,500 ppm, there was a linear relationship between accumulation of shikimate in excised leaf discs of cucumber and the amount of glyphosate applied. It clearly differentiated corn from cucumber when leaf discs were used in the test.

(Key words: glyphosate, shikimate, chlorophyll, corn, cucumber, leaf disc)

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