



EJ112199800073

植物保護學會會刊 40 : 73~79, 1998

# 三苯醋錫和嘉磷塞對水蚤 (*Scapholeberis kingi* Sars) 繁殖之影響評估

孫斐 翁愷慎 李國欽

臺中縣霧峰鄉 臺灣省農業藥物毒物試驗所

(接受日期：民國 87年 2月 10日)

## 摘 要

孫斐、翁愷慎、李國欽 1998 三苯醋錫和嘉磷塞對水蚤 (*Scapholeberis kingi* Sars) 繁殖之影響評估 植保會刊 40 : 73-79.

本研究評估水田殺螺劑三苯醋錫 (fentin acetate) 45% 可濕性粉劑和田埂用殺草劑嘉磷塞 (glyphosate) 41% 溶液對水蚤 (*Scapholeberis kingi* Sars) 繁殖的影響，利用14天測試期間內母蚤的存活數和小蚤產生總數為觀測因子，估計其對水蚤繁殖的無毒害濃度、最低影響濃度及慢毒性值。試驗結果顯示，三苯醋錫 45% 可濕性粉劑和嘉磷塞 41% 溶液對水蚤的48小時急毒性值分別為 0.012 mg/l (95% 可信賴界限為 0.0054 - 0.046 mg/l) 及 > 100 mg/l。三苯醋錫 45% 可濕性粉劑對水蚤繁殖的無毒害濃度為 < 0.00031 mg/l，遠低於田間最低推薦濃度；嘉磷塞 41% 溶液對水蚤的慢毒性影響估計值為 0.14 mg/l，建議環境中持續存在量應不超過此濃度。

(關鍵詞：水蚤、三苯醋錫、嘉磷塞、繁殖、無毒害濃度、最低影響濃度、慢毒性值)

## 緒言

在農藥對水生生物影響的研究上，一般多侷限於農藥對水生生物的急毒性偵測，急毒性試驗雖然容易進行藉以評估該農藥在短時間內造成水生生物本身之死亡或停止活動等可觀察之不利影響，但卻無法評估其對水生生物種族繁衍及水生生態系中食物鏈的

影響，在水質安全評估的應用上受到限制。水蚤在水域生態中具預警的功能<sup>(8)</sup>，且在實驗室中易於繁殖、生活史短 (3週)、任何齡期的水蚤在一年中均可隨時取得，對於進行一連數個世代的慢毒性試驗甚為方便，故成為水生毒理研究上常用的測試生物<sup>(15)</sup>。而在水質監測上，水蚤的繁殖是一敏感的判斷標準<sup>(1)</sup>。在水蚤的眾多品系中，荷蘭

Dutch實驗室因*Daphnia magna* 體型比較大(2.3—6.0 mm) 觀察容易, 故推薦做為標準測試生物<sup>(2)</sup>。但適合 *D. magna* 生活的水溫為攝氏20度以下, 在臺灣水稻田中並不普遍。有鑑於水蚤在水質監測上所扮演的重要角色, 筆者乃根據 Adema (1978) 所建議之測試生物選擇原則—以特定水域中常見且體型大小易於試驗觀察為主, 以本省水田、池沼和湖泊中常見的品系 *Scapholeberis kingi* Sars 為測試生物, 進行農藥對水生生物毒性的偵測。

一般農藥對蚤類的慢性毒性研究均採用生物終其一生暴露在測試藥劑中的方式進行<sup>(9, 10, 14)</sup>, 事實上在野外環境裡生物並非持續暴露在該劑量中, 以本省水田用藥三苯醋錫 45% 可濕性粉劑為例, 根據植保手冊<sup>(1)</sup>防治福壽螺(*Pomacea canaliculata* Lamarck)的推薦使用方式為施藥後水田淹水約7天。本研究的目的乃在利用水蚤 (*S. kingi* Sars) 為水質監測指標生物, 利用 USEPA (1985) 所建立的毒性物質對水生無脊椎動物繁殖影響評估分析方法<sup>(17)</sup> 及 OECD (1981)所推薦的蚤類繁殖試驗方法<sup>(12)</sup>, 評估本省水田及水產養殖池常用殺螺劑三苯醋錫 45% 可濕性粉劑及水田和養殖池畦畔常用殺草劑嘉磷塞 41% 溶液對水蚤繁殖的影響, 藉以評估此兩種農藥對淡水無脊椎動物族群發展潛力之影響。

## 材料與方法

### 供試藥劑

試驗藥劑三苯醋錫45%可濕性粉劑(大勝化學工業股份有限公司提供)和嘉磷塞41%溶液(億豐農化廠股份有限公司提供)分別以蒸餾水配製成30000 mg/l的貯存液備用, 試驗時再加以適當稀釋。

### 試驗生物的培育

水蚤 (*S. kingi* Sars) 採集自本省中部水稻田中, 參考 Edmondson<sup>(5)</sup> 分類檢索表鑑定品系後, 以中度硬水培育並餵以混合飼料 (1.5 ml/l)<sup>(17)</sup>。飼育溫度為攝氏25度, 16小時光照, 水中溶氧量大於水中空氣飽和度之60%, 大量培育時養殖密度為每公升30隻水蚤, 繁殖試驗時採單隻培育密度為每15毫升1隻水蚤, 每隔48小時更換培養液80%<sup>(12, 16)</sup>。

### 農藥對水蚤繁殖力影響試驗

各藥劑首先進行對水蚤的急毒性試驗, 即每15 ml培養液中加入50  $\mu$ l的藥液, 攪拌均勻後再接入初生蚤 (<1日齡) 1隻, 於24和48小時後分別觀察記錄水蚤中毒情形 (利用玻璃吸管製造供試藥液的晃動, 以15秒內不能引發水蚤觸角活動者為中毒)<sup>(11)</sup>。以 Probit analysis方法<sup>(7)</sup>算出導致水蚤50%不活動之濃度 (effective concentration, EC<sub>50</sub>)。利用48小時的EC<sub>50</sub>值為基礎, 以EC<sub>50</sub>值的1/2或1/10為稀釋倍數, 選擇至少5個系列濃度處理同胎之初生蚤 (<1日齡) 各10隻, 以不同胎之初生蚤重覆進行3次, 對照組亦同, 試驗觀察期為14天<sup>(12)</sup>。觀察並記錄水蚤每日產小蚤的數目及試驗期間的死亡情形等資料。對照組之死亡率在第一胎小蚤出生前大於20%或在試驗結束前大於30%, 則整組試驗重做。

### 繁殖力影響試驗結果統計分析方法

毒性物質對水蚤族群繁殖力影響的評估乃參考USEPA<sup>(17)</sup> 毒性物質對水生無脊椎動物族群繁殖力影響評估的方法, 以母蚤的平均產蚤數做為指標, 而各處理濃度之母蚤的平均產蚤數的計算則綜合了毒性物質對母蚤死亡和繁殖的影響, 即將所獲得之母蚤死亡數及產生小蚤總數資料分別進行統計:

1. 以 Fisher's Exact Test<sup>(6, 13)</sup> 測試各處理

組與對照組間母蚤之死亡是否有顯著差異存在。

2.各處理組母蚤死亡率與對照組無顯著差異存在者，以Dunnnett's Procedure<sup>(3,4)</sup>進一步分析各處理對母蚤繁殖力的影響，母蚤在產小蚤前死亡則不再考慮母蚤死亡對繁殖之影響。

慢毒性值的訂定：根據上述分析結果可得到不影響水蚤繁殖之最高濃度，即為無毒害濃度 (no observed effect concentration, NOEC)，及最低導致水蚤繁殖受影響的濃度，即為最低影響濃度 (lowest observed effect concentration, LOEC)，再利用下列公式計算不同藥劑會影響水蚤族群的慢毒性值 (chronic value, ChV) 藉以評估藥劑對水生物繁殖影響的潛力：

$$\text{ChV} = \text{antilog} \left( (\log \text{NOEC} + \log \text{LOEC}) / 2 \right)$$

## 結果與討論

表一所列為三苯醋錫 45% 可濕性粉劑和嘉磷塞 41% 溶液對水蚤 (*S. kingi* Sars) 的急毒性試驗結果及植物保護手冊上推薦水田中福壽螺 防除和水田畦畔雜草防除時藥劑最低用量<sup>(1)</sup>。三苯醋錫 45% 可濕性粉劑對水蚤的48小時急毒性值 (0.012 mg/l) 低於田間最低用量 (1.8 mg/l)，顯示就急毒性觀點而言，三苯醋錫 45% 可濕性粉劑在水域的推廣使用對水蚤的族群存活將造成

很大的威脅。進一步評估兩種藥劑對水蚤繁殖的影響，水蚤經兩種藥劑不同濃度分別處理14天後的存活情形經以 Fisher's Exact Test 分析後顯示 (見表二)，以三苯醋錫處理者，在 0.010 mg/l濃度下，三次重覆中有兩次重覆顯示母蚤在試驗期間的死亡數與對照組有顯著差異存在。為安全起見，將不致影響母蚤繁殖潛力的濃度定在 0.0050 mg/l，亦即視在高於0.0050 mg/l濃度時，具繁殖潛力的水蚤因個體的存活已明顯受到影響，故推測整個群族的繁殖也將受到影響。以嘉磷塞處理者，在 6.2 mg/l濃度下，三個重覆均顯示母蚤的死亡數與對照組有顯著差異存在，故將不致影響母蚤繁殖潛力的濃度定在3.1mg/l。

表三所列為三苯醋錫 45% 可濕性粉劑和嘉磷塞 41% 溶液在不致影響母蚤存活的各濃度處理下，經Dunnnett's Procedure<sup>(3,4)</sup>分析後每一母蚤平均產蚤數，以三苯醋錫處理者，測試的5個濃度三次重覆均顯示母蚤的平均產蚤數與對照組有顯著的差異，亦即均會使水蚤族群的繁殖受到顯著影響，故知三苯醋錫 45% 可濕性粉劑對水蚤的無毒害濃度 (NOEC) 應小於最低測試濃度 0.00031 mg/l，而此濃度值為急毒性值的百分之一、田間推薦最低濃度值之千分之一以下值得注意。以嘉磷塞41%溶液處理者，在 0.097 mg/l處理濃度下三次重覆均顯示母蚤的平均產蚤數與對照組無顯著的差異，但在 0.20 mg/l處理濃度下三次重覆中

表一、兩種農藥對水蚤 (*Scapholeberis kingi* Sars) 的急毒性及田間推薦用量

Table 1. Acute toxicity (48 hours) and applied concentration of pesticides to water flea (*Scapholeberis kingi* Sars)

Pesticides	EC <sub>50</sub> (95% confidence limits)(mg/l)	Applicable concentration (mg/l) <sup>1)</sup>
fentin acetate 45% WP	0.012 (0.0054-0.046)	1.8
glyphosate 41% S <sup>2)</sup>	>100	17

<sup>1)</sup>  $\text{Applicable concentration} = \frac{\text{Material concentration} \times \text{Application rate/ha}}{\text{Volume of water (in liters) of rice field and depth (3 cm) .}$

<sup>2)</sup> The density of glyphosate 41% S = 1.74 g/cm<sup>3</sup>.

表二、三苯醋錫和嘉磷塞不同處理濃度對供試水蚤(*Scapholeberis kingi* Sars)存活的影响  
 Table 2. Effect of different treatments with fentin acetate and glyphosate on the survival of *Scapholeberis kingi* Sars

Treatment (mg/l)	No. of treated adult (death)						Mortality no effect concentration (mg/l)
	Repeat 1		Repeat 2		Repeat 3		
fentin acetate 45% WP							0.0050
Control	10(1)		10(1)		10(0)		
0.00031	10(2)	NS <sup>1)</sup>	10(3)	NS	10(1)	NS	
0.00061	10(1)	NS	10(2)	NS	10(0)	NS	
0.0012	10(2)	NS	10(3)	NS	10(1)	NS	
0.0025	10(1)	NS	10(5)	NS	10(2)	NS	
0.0050	10(1)	NS	10(5)	NS	10(1)	NS	
0.010	10(6)	S <sup>2)</sup>	10(6)	S	10(5)	NS	
glyphosate 41% S							3.1
Control	10(1)		10(1)		10(0)		
0.097	10(1)	NS	10(1)	NS	10(1)	NS	
0.20	10(1)	NS	10(1)	NS	10(1)	NS	
0.39	10(0)	NS	10(0)	NS	10(0)	NS	
0.78	10(0)	NS	10(1)	NS	10(0)	NS	
1.6	10(3)	NS	10(0)	NS	10(2)	NS	
3.1	10(2)	NS	10(0)	NS	10(2)	NS	
6.2	10(10)	S	10(10)	S	10(10)	S	

<sup>1)</sup>NS: Mortality was not significantly different from the control (conducted after Fisher's Exact Test).

<sup>2)</sup>S : Mortality was significantly different from the control (conducted after Fisher's Exact Test).

表三、不同藥劑處理濃度對水蚤 (*Scapholeberis kingi* Sars) 繁殖的影响

Table 3. Effect of different pesticides treatment on the reproduction of *Scapholeberis kingi* Sars

Treatment (mg/l)	Mean no. of young produced/adult						NOEC (mg/l)	LOEC mg/l)	Chronic value (mg/l)
	Repeat 1		Repeat 2		Repeat 3				
fentin acetate 45% WP							< 0.00031		
Control	32		36		36				
0.00031	5.0	S	5.3	S	11	S			
0.00061	8.0	S	6.9	S	9.8	S			
0.0012	3.1	S	6.6	S	7.5	S			
0.0025	2.8	S	2.3	S	3.5	S			
0.0050	6.3	S	3.3	S	2.8	S			
glyphosate 41% S							0.097	0.20	0.14
Control	36		30		33				
0.049	36		26		34				
0.097	32		28		30				
0.20	27	S	19		22	S			
0.39	18	S	13	S	18	S			
0.78	11	S	12	S	10	S			
1.6	5.3	S	7.3	S	7.1	S			
3.1	2.7	S	1.3	S	1.4	S			

S : Reproduction was significantly different from control (at p = 0.05), Dunnett's Procedure was carried out using the total number of live young produced by each adult female flea.

有兩次的結果顯示母蚤的平均產蚤數與對照組有顯著的差異，隨處理劑量的提高，母蚤的平均產蚤數也降低，為保障水蚤族群的安全，無毒害濃度訂在較低的濃度即 0.097 mg/l，最低會對水蚤繁殖造成影響的濃度 (LOEC) 則訂在 0.2 mg/l，以此結果估算慢毒性值 (ChV) 為 0.14 mg/l，約為田間推薦濃度的百分之一。

化學物質對水生生物毒性試驗的目的在估計這些物質對水生生物“安全”或“無影響”的濃度<sup>(2)</sup>。綜合上述試驗結果，急毒性試驗結果並不能充分顯示農藥對水蚤的危害潛力，在水質的管理上，應考慮農藥對水生生物的慢毒性，如繁殖的影響。完善的水質管理，應同時考慮農藥對至少三種不同生物，包括植物、魚類及水生無脊椎動物各一種的慢毒性資料<sup>(17)</sup>，而以三種生物均可忍受的最高濃度為評估值，針對水資源用途的不同訂定水質管理標準，例如在水生生物保護區，根據本試驗結果就水生無脊椎動物的直接保護而言，水中嘉磷塞的持續存在含量應限制在會導致慢毒性影響的濃度 0.14 mg/l 以下。

## 謝 辭

本文相關數據，承蒙農藥所農藥化學系馮海東研究員協助統計分析，特申謝忱。

## 引用文獻

1. 未具名 1994 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臺灣省政府農林廳編印 625 頁。
2. Adema, D. M. M. 1978. *Daphnia magna* as a test animal in acute and chronic toxicity tests. *Hydrobiologia* 59: 125-134.
3. Dunnett, C. W. 1955. Multiple comparison procedure for comparing several treatments with a control. *J. Amer. Statist. Assoc.* 50: 1096-1121.
4. Dunnett, C. W. 1964. New table for multiple comparisons with a control. *Biometrics* 20: 482.
5. Edmondson, W. T. 1959. *Ward and whipple's freshwater biology*, 2nd ed. Wiley & Sons. Inc. New York.
6. Finney, D. J. 1948. The Fisher-Yates test of significance in 2 x 2 contingency tables. *Biometrika* 35: 145-156.
7. Finney, D. J. 1971. *Probit analysis*. 3rd ed., Cambridge University Press, London. pp. 333
8. Gulati, R. D. 1978. The ecology of common planktonic crustacea of the freshwaters in the Netherlands. *Hydrobiologia* 59: 101-102.
9. Hanazato, T. 1991. Effects of long- and short-term exposure to carbaryl on survival, growth and reproduction of *Daphnia ambigua*. *Environ. Pollu.* 74: 139-148.
10. Krishnan, M., and Chockalingan, S. 1989. Toxic and sublethal effects of endosulfan and carbaryl on growth and reproduction of *Moina micrura* Kurz (Cladocera: Moinidae). *Environ. Pollut.* 56: 319-326.
11. Nishiuchi, Y. 1974. Testing methods for the toxicity of agricultural chemicals to aquatic organisms. *Japan Pestic. Infor.* 19: 15-19.
12. OECD 1981. *Daphnia* sp., 14-day reproduction test. pages 15 In OECD guidelines for testing of chemicals. Section 2: Effects on biotic systems. OECD Publication Office, 2, Rue And're-Pascal, 75775, Paris Cedex 16, France.
13. Person, E. S., and Hartley, T. O. 1962. *Biometrika tables for statisticians*. Vol. 1.

- Cambridge Univ. Press, England.
14. Schober, U., and Lampert, W. 1977. Effects of sublethal concentrations of the herbicide Atrazin on growth and reproduction of *Daphnia pulex*. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 17: 269-277.
  15. Ten Berge, W. 1978. Breeding *Daphnia magna*. Hydrobiologia 59: 121-123.
  16. USEPA 1975. Methods for acute toxicity tests with fish, macroinvertebrates and amphibians. Environmental Research Laboratory, U. S. Environmental Protection Agency, Duluth, Minnesota. EPA-660/3-75 -009.
  17. USEPA 1985. Short-term methods for estimating the chronic toxicity of effluents and receiving waters to freshwater organisms. U.S. Environmental Protection Agency, Environmental Monitoring and Support Laboratory, Cincinnati, Ohio. EPA/600/4-85-014.

## ABSTRACT

**Sun, F., Wong, S. S. and Li, G. C. 1998. Evaluating the effect of fentin acetate and glyphosate on reproduction of *Scapholeberis kingi* Sars Plant Prot. Bull. 40 : 73-79. (Residue Control Department, Taiwan Agricultural Chemicals and Toxic Substances Research Institute, Wufeng, Taichung, Taiwan, R.O.C.)**

This study evaluated exactly how two pesticides (fentin acetate 45% WP and glyphosate 41% S), that are commonly used in the paddy fields of Taiwan, influence reproduction of the water flea (*Scapholeberis kingi* Sars). Both mortality and reproduction per adult female flea during 14 days of test periods were recorded. This study also determined no observed effect concentration (NOEC), lowest observed effect concentration (LOEC) and chronic value (ChV) of pesticides to water flea. The 48 hours effective concentration of fentin acetate and glyphosate to water flea were 0.012 mg/l (95% confidence limits were 0.0054 - 0.046 mg/l) and > 100 mg/l, respectively. NOEC of fentin acetate to water flea was < 0.00031 mg/l, i.e. significantly lower than the concentration applied to the paddy field. Moreover, NOEC and LOEC values were used to evaluate the chronic value of glyphosate 41% S for the water flea. Based on those results, we recommend a limit concentration (0.14 mg/l) as a threshold for environmental pollution.

( Key words: water flea, *Scapholeberis kingi*, fentin acetate, glyphosate, reproduction, no observed effect concentration, lowest observed effect concentration, chronic value )