中華農業研究（Jour. Agric. Res. China）34(3)：292～298（1985）

柴油污染灌溉水源對水稻爲害徵狀之研究[1]

陳 美 華[2]

摘要 工業廢油污染農田，在本省逐漸成爲嚴重問題，其污染源主要來自：（1）燃料廢油，（2）潤滑油，尤其是用來洗滌與潤滑用之柴油。這些廢油隨著灌溉水源排入鄰近的農田後，首先抑制作物生長，然後進而損害作物，由於柴油屬於易揮發化合物，當其揮發後不易確定禍源。本研究目的即針對此，探討柴油污染水稻受害徵狀及組織變化，以便往後更易診斷禍源。

以臺農67號粳稻爲受試植物，分別添加0. 0.1, 0.5, 1, 2, 4cc柴油至1/5000are水稻秧苗盆栽中，每盆各植4株秧苗，每種處理三重複。處理後第二日，1, 2, 4cc柴油添加者出現急性損害徵狀，葉片萎黃且捲曲；第三日0.5cc處理亦呈葉片萎黃現象；第五日，則僅殘存 0.1cc處理之秧苗一株，其餘各柴油添加處理之秧苗皆枯死，葉片呈枯黃捲曲且佈有油漬，根部易斷腐爛且發黑。經光學顯微鏡及掃描電子顯微鏡觀察後，發現各添加柴油處理之秧苗其葉肉細胞外之泡狀細胞（Bulliform cells）皆呈破壞現象；且隨著柴油添加量增加，葉肉細胞損害程度愈嚴重，同時造成空化情形也愈嚴重。葉肉細胞中的葉綠體顆粒也遭破壞分解，使得受害部位殘留許多死細胞組織碎片。

以上結果顯示柴油確有害於秧苗，當添加0.5cc柴油於1/5000are盆栽，即可引起明顯損害，且當添加量提高至2cc柴油時，則外觀及組織皆呈急性損害。

在石油化學工業積極發展的今日，由於石油製品取代昔日煤炭成爲主要能源，使得油污染問題日趨嚴重，其可能造成污染的來源除原油探鑽、輸送、貯存、煉製過程外，尙包括大量的工業機械用油及高濃度油污廢水或廢棄殘油處理不當等，皆能造成環境污染，污染範圍所及極廣，涵蓋水、空氣、土壤等方面，例如對水的污染，包括河川海洋由於受到浮油減低氧傳送，阻礙魚貝類，藻類之生長，或油中部分有毒成分危及水中生物生長；對空氣的污染，由於油中大量揮發性碳氫化合物之揮發，不但污染空氣產生臭味、刺激性引起人體不適，且因光化學作用造成二次污染，危害動植物生長；對土壤的污染，則改變土壤性質，妨害作物生長。因此不良影響可謂普遍且深遠。

石油因產地，種類及煉造過程不同，在組成分與性質上有極大差異，但主要成分爲碳氫化合物稱爲「烴」（hydrocarbons），餘爲非烴化合物（non-hydrocarbons）。在這些烴類中，約有0.1%屬於致癌性物質，且絕大多爲多環狀芳香族化合物（polar cyclic aromatic），其中以萘（naphthalene），2，6一二甲基萘(2，6-dimethyl-naphthalene）及 aliphatic hydrocarbons 的毒性較大[7-10]，對植物的光合作用產生抑制[11,12]，ATP含量明顯減少，使葉片萎黃或枯死且幼苗枯萎[13,14]，並且使植株的胚芽生長及種子發芽受阻，延遲或降低發芽率[15]；水中生物也因油污染而致死率提高[16]，或使卵產生畸胚組織[17]。許多研究皆指出油毒性的强弱主要視其溶於水的部分（water-soluble fraction WSF）含量多寡而定[17,18]，因這些大半屬烴類之水溶性部分比油分子更易輸送進入生物體細胞內，危及生長與代謝。

1.臺灣省農業試驗所 研究報告第1232號。

2.本所農化系助理。臺灣省 臺中縣 霧峯鄉。

本省油污染農田作物案件屢有所聞，污染的問題主要來自工廠所排放燃料廢油及機械用油（包括洗滌與潤滑用之柴油）處理不當，隨污水或雨水任其流入灌溉水源溝渠，染黑溝壁，發出刺激性臭味，經排入農田後危害作物生長。因先前試驗中，發現柴油較重油對作物更具明顯毒害[1]，且柴油爲極易揮發性，事後常難確定禍源，故本研究目的即針對此柴油污染因素，進一步探討水稻作物受害徵狀及組織變化情形。

材料與方法

一、供試材料

1.供試油料：中油出品之高級柴油，成分爲 C：86%，H：13%，S：0.5%，N及O：0.5%以下[2,3]）。

2.供試植物：粳稻，臺農67號品種。

二、試驗方法

1.供試植物試驗：將生育良好之秧苗，插至1/5000are盆栽土中，土壤取自農試所農場。每盆各植四株，生長十日後，分別添加 0, 0.1, 0.5, 1, 2, 4cc柴油於盆栽中，每處理各三重覆，置於溫室生長，比較水稻可能受害情形，記錄觀察受害徵狀並採受害葉片檢視組織構造。

2.植株葉片組織之構造研究

（1）石蠟切片配合光學顯微鏡（LM）觀察[4]：將正常與受害葉片，經 Craff III 固定 Johansen氏之t-butyl alcohol一系列不同濃度脫水→滲蠟→埋蠟→切片機切成10mμ石蠟帶→以蛋白甘油粘劑粘蠟帶於載玻片上→染色等處理步驟，即可在 LM下觀察葉片橫切面構造。

（2）石蠟切片配合掃描式電子顯微鏡（SEM）觀察[19]：將（1）切好之 10mμ石蠟片展粘於18×18mm蓋玻片→二甲苯（xylene）脫蠟→無水酒精洗滌→自然乾燥→以銀膠將玻片粘於鋁製標本台（specimen stub）→鍍金→在Hitachi 520 SEM下觀察葉片表面微細立體構造。

結果與討論

一、植株受害徵狀之觀察

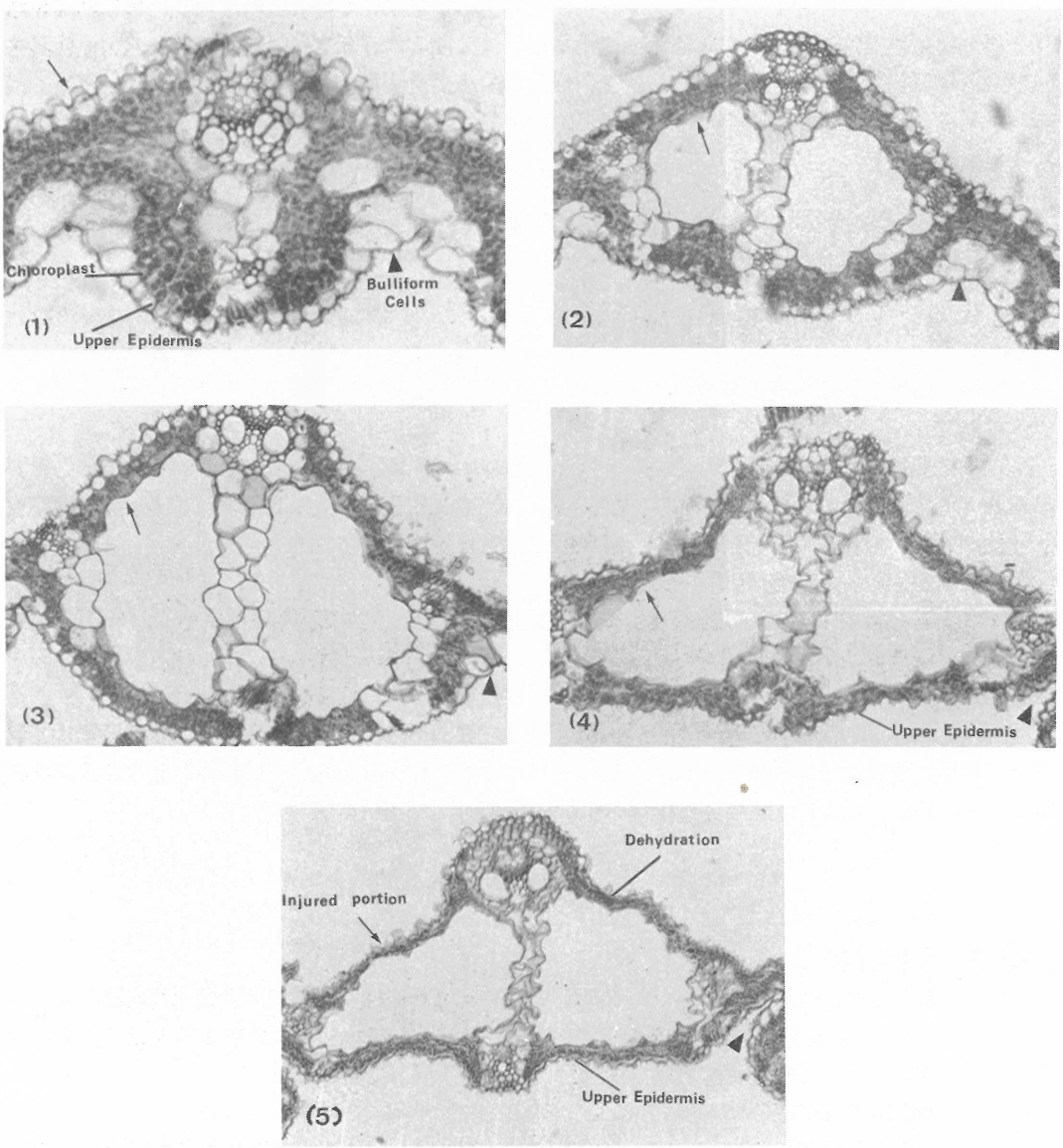
柴油添加量1, 2, 4cc者，秧苗在第二日即呈受害徵狀，葉片捲曲與萎黃，尤以 4cc處理尙佈有油污。第三日時0.5cc處理也出現枯黃現象。至第五日時，僅殘存0.1cc 處理秧苗1株而已，其餘秧苗皆受柴油毒害枯死。此外除葉片有明顯徵狀外，根部亦呈腐爛發黑易斷現象。

二、光學顯微鏡之葉片橫切面觀察

鑑於柴油處理秧苗後第三日，除 0.1cc處理未有明顯徵狀，餘皆呈枯黃現象；爲觀察同一時期之受害徵狀，僅採0.5至4cc處理之葉片做切片檢查。結果發現柴油添加量與葉肉細胞被破壞程度有正相關性，添加量越多，受害範圍越大（圖一：（1）—（5）↓所示）；尤以添加 2, 4cc者表皮細胞遭破壞有極明顯變形，難辨出表皮細胞排列結構（圖一之（4）（5））。另外在 0.5cc處理發現泡狀細胞（Bulliform celk）已呈輕微破壞現象，這種情形在其他各組更是明顯可見（圖一▲所示）。而葉肉細胞被破壞後所造成的空間，也隨柴油添加量增加，破壞越嚴重且空間越大。在未添加柴油之正常葉片中，葉肉細胞內有排列整齊的葉綠體顆粒（chloroplast），但在 4cc處理則無法辨出各葉綠體顆粒（圖一之（1）（5）），這種現象可經SEM進一步加以觀察證實。

三、掃描電子顯微鏡（SEM）之葉片構造觀察

以石蠟切片製成之葉片標本，經 SEM 觀察後，明顯地發現葉肉細胞內的葉綠體顆粒，因遭柴油損害破壞分解或碎片擠壓一起（圖二之（2）至（5）中⇩所示），同時鄰近葉肉細胞外的表皮細胞，亦遭傷害失去原有結構扭曲變形。



圖一 水稻葉片橫切面

Fig.1. Cross-section of rice leaf

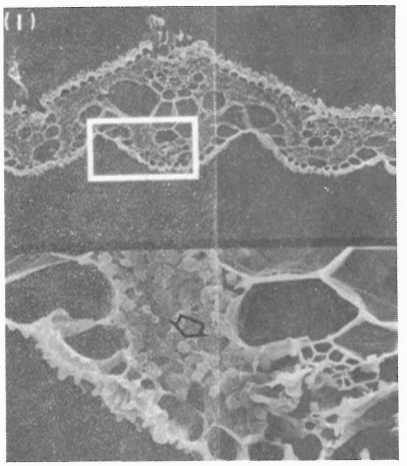
(1) 未添加柴油之對照處理 (X800)
Control treatment of adding 0ml diesel oil (X800)

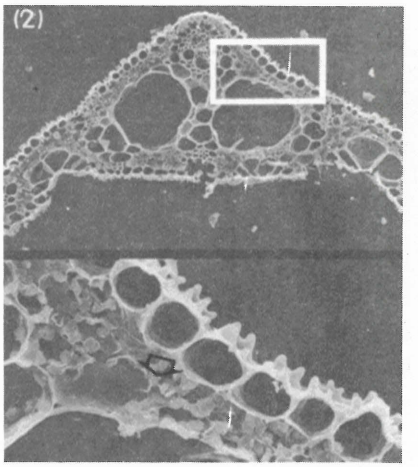
(2) 添加 0.5cc 柴油之處理 (X800)
Treatment of adding 0.5ml diesel oil (X800)

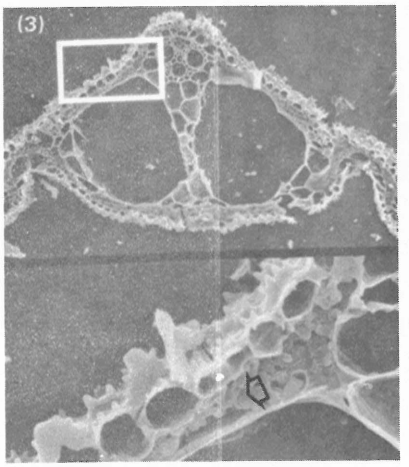
(3) 添加 1cc 柴油之處理 (X800)
Treatment of adding 1ml diesel oil (X800)

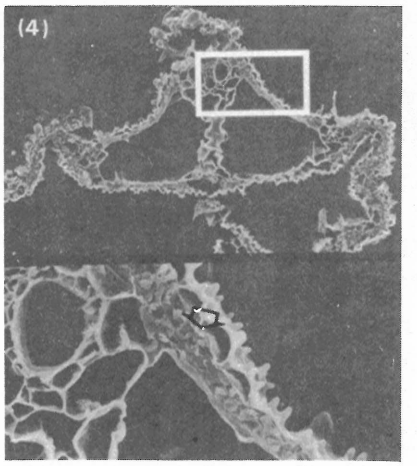
(4) 添加 2cc 柴油之處理 (X800)
Treatment of adding 2ml diesel oil (X800)

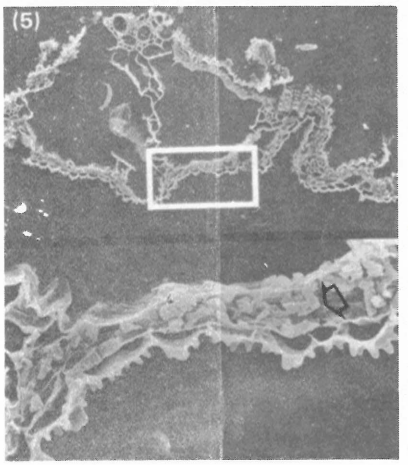
(5) 添加 4cc 柴油之處理 (X600)
Treatment of adding 4ml diesel oil (X600)











圖二 掃描電子顯微鏡下水稻之葉片
Fig.2. Rice leaf under scanning electron microscope

(1) 未添加柴油之對照處理（X150）（X750）
Control treatment of adding 0ml diesel oil (X150) (X750)

(2) 添加 0.5cc 柴油之處理（X150）（X750）
Treatment of adding 0.5 ml diesel oil (X150) (X750)

(3) 添加 1cc 柴油之處理（X150）（X750）
Treatment of adding 1 ml diesel oil (X150) (X750)

(4) 添加 2cc 柴油之處理（X150）（X750）
Treatment of adding 2 ml diesel oil (X150) (X750)

(5) 添加 2cc 柴油之處理（X150）（X750）
Treatment of adding 4 ml diesel oil (X150) (X750)

觀察秧苗葉片受害徵狀皆呈捲曲或枯萎，推測因上表皮組織之泡狀細胞（bulliform cells）被破壞（圖一中▲所示），而此種細胞與葉片膨壓有關，故使葉片捲曲；另一原因，則可能因柴油有如物理性柵欄（physical barrier）阻隔或減少根部對氧氣和水分攝取，使葉片水分供應不足，泡狀細胞無法發揮功能。Amakiri等人[13]同樣認爲由於原油之物理疏水（water-repellent）特性阻礙水分與氧輸送，而使玉米發芽率降低且延遲發芽期。正因水分、氧被阻絕吸收，更不利於氣體交換，使光合作用被抑制，也妨礙ATP形成時之氧化磷酸化（oxidative phosphorylation），減少 ATP 產生，進而危及產生能量之代謝過程，使植株葉片呈萎黃，生長受到抑制而遲緩[8,11,13,14]。Watts 等[14]更指出當植株遭油污染爲害後，雖添加NH_4NO_3改善氮素營養，仍無法減輕萎黃情形。

水稻屬於單子葉植物，其葉肉綠色薄壁細胞未分化成明顯的柵狀與海綿組織，在正常葉片中可見顏色與細胞間隙一致的葉肉細胞（圖一之（1），但當遭柴油毒害時，則葉肉細胞及其中葉綠體顆粒皆破壞分解成碎片之死細胞堆擠一起，形成空化現象，且空化範圍隨柴油添加量增加而擴大（圖一、二之（2）至（5）），尤其添加 2, 4cc柴油處理組受害更嚴重，使得鄰近葉肉細胞之表皮細胞皆呈脫水現象，失去原有結構而變形。推測其原因，可能與柴油中有毒化合物有關，因這些化合物包括（1）芳香烴類：如苯（benzene）、甲苯（toluene）、二甲苯（xylene）、萘（naphthalene）、菲（phenanthrene）等（2）含氧化合物：如甲酚（cresol）、萘酚（naphthol）等（3）含氮化合物：如喹啉（quinoline）、吡啶（pyridine）等（4）含硫化合物：如噻吩（thiophene）、一硫化合物、二硫化合物、硫化氫、硫醇等[5]，幾乎皆屬揮發性化合物。當添加柴油初期，這些有毒成分揮發後，經由表皮細胞進入葉肉細胞後，破壞其中細胞，也可能殃及泡狀細胞受害，而柴油量增加更使有毒成分濃度相對提高，故使2, 4cc 處理在葉肉細胞被完全破壞後，進而破壞其鄰近之表皮細胞（圖一之（4）（5）↑所示）。劉[1,6]在其研究亦發現，添加重油10cc對秧苗生長並無明顯影響但當添加重油之盆栽緊鄰柴油添加盆栽時，則受到柴油所揮發化合物毒害，使存活率僅及85%。

另有許多研究則認爲油污染對水中生物造成毒害原因，通常係因油中水溶性部分(water-soluble fraction WSF) 影響所致[7,10,11,18,20,22]，且 Millemann等人[17]在慢性毒害試驗中指出以 1：8 之柴油與水比例所得WSF 50cc對蝸牛卵之孵化成功率僅 8 %，同時卵也發生畸胚組織。因此可推測本研究中，秧苗添加柴油後的初期，雖因柴油阻礙根部之氧，水分與養分的輸送，致使葉片呈萎黃和捲曲現象，但仍有或多或少溶著 WSF 之水分，經由根部及導管輸送至葉片，進而使葉肉細胞及葉綠體顆粒被破壞，復因揮發性有毒化合物作用，讓外表皮細胞和泡狀細胞也遭到破壞與脫水，加速秧苗被傷害；使根莖相連處腐爛易斷，喪失通透性機制，導致葉片顯現油潰，根部發黑與散出刺激性臭味。Hutchinson等人[15]在其研究中指出，原油或其餾出物，有如强力接觸性除草劑，可使植物胚芽受損或死亡，尤其當植株受到傷害後，僅藉著裂孔或疤處，傷口即可滲入植物體內，而加速植株死亡。此點正與本研究終了時秧苗皆枯死的現象相似。至於葉片之維管束雖爲 WSF 輸送途徑，却未有明顯破壞，可能因它屬厚壁細胞不似葉肉薄壁細胞脆弱，故仍保有完整結構。

根據前人所做的研究及本試驗結果，可推斷柴油確會對水稻秧苗造成毒害。受害初期似以揮發性有毒化合物爲主要禍源，至末期可能因 WSF 作用，加速植株之傷害使其枯萎死亡。另外爲更深入了解全油部分及WSF之毒性對植株不良影響的比較，與受害發生途徑，宜再做進一步探討和試驗。

進行SEM觀察時，以石蠟切片取代傳統之SEM標本製備，除可改善光學顯微鏡 LM 解像力使之提高外，並可增加鏡頭焦距長度與立體空間視野，進一步易於了解SEM所得之成像。對 SEM而言，則可減少傳統製作標本的繁複手續與昂貴藥品費用，同時預先利用 LM觀察，可正確迅速找出欲觀察的變異部位，避免徒勞無功。

正因祇要添加0.5cc柴油於1/5000are盆栽中，即可引起秧苗產生輕微受害徵狀，當增加 2cc時，更使外觀及組織有明顯受害徵狀；所以有關單位應限制工廠，車廠的廢油污排放處理，禁止排入灌溉水源，以免損及農民權益及大衆健康。

參考文獻

1.劉慧瑛・1984・灌溉水中油脂（柴油）對水稻生育之影響，省農業試驗所工作報告。44—7

2.中國石油公司・1977・爐用燃油的性質與應用。3.中國石油公司・中油潤滑油手册。

4.陳美華・1984・二氧化硫對作物細胞構造之影響，中華農業研究。33（4）：387—94

5.楊萬發、李建德・1980・高濃度油污之土壤處理，臺灣大學環境工程研究報告。No. 21

6.劉慧瑛・1983・灌溉水中油脂污染對水稻生育之影響，省農業試驗所年報。192—3

7. Winter, K., R. O'Donnell, J. C. Batterton & van C. Baalery. 1976. Water soluble compontents of four oils : chemical characterization and effects on growth microalgae. Mar. Biol., 36 : 269-76

8. Vandermeulen, J. H. & T. P. Ahern. 1976. Effects of petroleum hydrocarbons on algal physiology : Review and progress report. In Effects of Pollutants on Aquatic Organisms. A. P. M. Lockwood (ed.), 107-25

9. Kusk, K. O. 1981. Effects of hydrocarbons on respiration, photosythesis and growth of the diatom *Phaeodactylum tricornutum*. Bot. Mar., 24 : 413-8

10. Russell, L. C. & M. Fingerman. 1984. Exposure to the water soluble fraction of crude oil or to Naphthalenes alters breathing rate in gulf killfish, fundulus grandis. Bull. Environ. Contam. Toxicol. , 32 : 363-7

11. Armstrong, J. E. & J. A. Calder. 1978. Inhibition of light-induced pH increase and O_2 evolution of marine microalgae by water-soluble components of crude and refined oil. Appl. Environ. Microbiol. 35 : 858-62

12. Hilmer, T. & G. C. Bate. 1983. Observation on the effect of outboard motor fuel oil on phytoplanton cultures. Environ. Pollut. (Series A) 32 : 307-16

13. Amakiri, J. O. & F. A. Onofenghara. 1984. Effects of crude oil pollution on the germination of *Zea mays* and *Capsicum frutescens*. Environ. Pollut. (Series A) 35 : 159-67

14. Watts, J. R., J. C. Corey & K. W. McLeod. 1982. Land application studies of industrial waste oils. Environ. Pollut. (Series A) 28 : 165-75

15. Huchinson, L. C. & W. Freedman. 1978. Effects of experimental crude oil spills on subarctic boreal forest vegetation near Norman Wells, NWT, Canada. Can. J. Bot. 56 : 2424-33

16. Rogerson, J., J. Berger & C. M. Grosso. 1982. Acute toxicity of ten crude oils on the survival of the rotifer *Asplanchna sieboldi* and sublethal effects of rates of prey comsumption and neonate production. Environ. Pollut. (Series A) 29 : 179-87

17. Millemann, R. E., S. J. Tumminia, J. L. Forte & K. L. Daniels. 1984. Comparative toxicities of coal and shale-derived crude oils and a petroleum-derived to freshwater snail *Helisoma trivolvis* and *Physa gyrina*. Envirn. Pollut. (Series A) 33 : 23-8

18. Batteron, J. C., K. Winters & C. van Baalen. 1978. Sensitivity of three microalgae to crude oils and fuel oils. Mar. Environ. Res. 1 : 31-41

19. Gaudet, D. A. & E. G. Kokko. 1984. Application of scanning electron microscopy to paraffin-embedded plant tissues to study invasive processes of plant-pathogenic fungi. Phytopathology. 74 : 1078-80

20. Evans, D. R. & S. D. Rice. 1974. Effects of oil marine ecosystems : A review for administration and policy makers. Fish Bull., 72 : 625-838

21. Moore, S. F. & R. L. Dwyer. 1974. Effects of oil on marine organisms : A critical assessment of published data. Water Res., 8 : 819-27

22. Rice, S. D., J. W. Short & J. F. Karinen. 1977. Comparative oil toxicity and comparative animal sensitivity. In Fate and Effects of Petroleum Hydrocarbons in Marine Ecosystems and Organisma. D. A. Wolf (ed.), New York, Pergamon Press. 78-94

Effects of Irrigation Water Polluted with Diesel Oil on Rice[1]

M. H. Chen[2]

Summary

Farm land polluted by industrial oil is gradually become a serious problem in Taiwan. The main sources are: (1) waste fuel oil, (2) lubricants especially diesel oil used for rinsing or lubricating. These waste oils were dumped into nearby farm land and first inhibited crop growth and subsequently damage occured. Since diesel oil is a volatile compound, it is difficult to detect, once it was volatilized. The purpose of this investigation is to study the symptom of the injury caused by diesel oil waste, and makes diagnosis easier later on.

The plant material used in the study was Tainung No. 67. Rice seedlings wers transplanted into 1/5000 are pots. Six treatments were used in the study, namely 0, 0. 1, 0.5, 1, 2, and 4ml of diesel oil added to the pots, each treatment with three replications. Each pot was planted with four rice seedlings. Acute injury was found in those pots treated with 1, 2, 4ml of diesel oil two days after treatment. Leaves were chlorotic and blades were curled upward. After three days, leaves treated with 0.5ml of diesel oil also showed chlorotic injury. Five days later, there was only one plant alived in those treated with 0.1ml diesel oil, the rest were chlorotic and died, blades were curled upward and were covered with oil deposit, roots were decayed, fragile and blackened. From LM and SEM examination, it was found that the magnitude of mesophyll cells injury progressed with increasing diesel oil concentration. Chloroplasts of mesophyll damaged and finally disappeared. Many dead cell tissue were found in injury area.

It is evident that diesel oil is detrimental to rice plants. Addition of 0.5ml diesel oil to 1/5000 are pot, can cause observable injury. There were tissue and morphological acute injury with addition of 2ml diesel oil.

1. Contribution No. 1232 from Taiwan Agricultural Research Institute.

2. Research assistant, Department of Agricultural Chemistry, TARI, Wufeng, Taichung Hsien, Taiwan 431, R. O. C.