

# 抗輪點病毒轉基因木瓜之生態影響評估- I. 土壤微生物族群數與有效性養分濃度的差異<sup>1</sup>

簡宣裕<sup>2,3</sup> 石信德<sup>2</sup> 林俊義<sup>2</sup> 張明暉<sup>2</sup> 劉邦基<sup>2</sup>

## 摘 要

簡宣裕、石信德、林俊義、張明暉、劉邦基。2008。抗輪點病毒轉基因木瓜之生態影響評估- I. 土壤微生物族群數與有效性養分濃度的差異。台灣農業研究 57:49-62。

於農業試驗所轉基因作物專用田區網室內，將抗輪點病毒 (PRSV) 轉基因木瓜與非轉基因木瓜完全逢機種植於裝砂質壤土之圓桶內，進行盆栽試驗，每盆每月採取土壤樣品一次，測定土壤微生物族群數與有效性養分濃度。試驗結果顯示種植木瓜土壤的總細菌族群數在試驗進行第一個月至第二個月內增加，第二個月後則變動不大；總真菌族群數在試驗進行第一個月至第三個月內減少，第四個月後則變動不大；0-20 cm 深土壤的總細菌、總真菌、游離固氮細菌、溶磷酸鈣細菌及蛋白分解細菌族群數以及有效性氮、磷及鉀濃度皆比 20-40 cm 深土壤者高。將試驗期間種植轉基因木瓜土壤的總細菌、總真菌、溶磷酸鈣細菌、游離固氮細菌及蛋白分解細菌族群數以及有效性氮、磷與鉀濃度、酸鹼度值及電導度值與種植非轉基因木瓜土壤者兩相比較，結果顯示兩者之間於統計上的差異是不顯著 (t-test,  $p < 0.05$ )。

**關鍵詞：**轉基因木瓜、木瓜抗輪點病毒、土壤微生物族群數、土壤有效性養分。

## 前 言

轉基因植物是以基因工程操作技術，加以邏輯構思對外來基因 DNA 序列充分瞭解後，精確的將外來 DNA 導入于作物基因的 DNA 序列中，在較短時間內獲得抗病與抗蟲 (Jack *et al.* 2000; Punja 2001; Reedy *et al.* 2001; Vries & Wackernagel 2001; Xiao *et al.* 2002)、耐旱性強 (McKersie *et al.* 2000)、對土壤養分吸收效率高 (Rhij *et al.* 2001)、抗殺草劑、單位面積產量高、營養成分較高、抗老化及貯藏壽命較長等之基因改良植物。民國 64 年，在台灣首次發現木瓜輪點病毒 (papaya ring spot virus) 以來，短時間內，即迅速蔓延全台，由於病毒病害無藥可治，栽培管理上所採用的防治

1. 行政院農業委員會農業試驗所研究報告第 2311 號。接受日期：97 年 3 月 12 日。

2. 本所農化組研究員、植病組副研究員、所長、農化組助理研究員及前園藝組研究員。台灣 台中縣 霧峰鄉。

3. 通訊作者，電子郵件：sychien@wufeng.tari.gov.tw；傳真機：(04) 23302805。

方法收效都非常有限。中興大學葉錫東教授 (Cheng *et al.* 1996) 以農桿菌將木瓜輪點病毒 (PRSV) 鞘蛋白基因感染台農二號品種之未成熟胚，達成細胞的基因轉殖，再經由組織培養途徑培育成含有鞘蛋白基因之轉基因木瓜 (transgenic papaya)，為本省木瓜產業提供一嶄新的防治方法。但此轉基因木瓜，於田間種植時，對生態環境的衝擊與影響程度，在國內尚缺乏完整之監測評估。依據 2007 年農委會公告之「基因轉殖植物田間試驗管理辦法」，規定應評估基因轉殖植物對目標生物與非目標生物直接或間接之影響，包括必須對土壤微生物族群數影響之評估等。故於農業試驗所設置轉基因植物專用之栽培網室，以跨組室合作方式進行盆栽試驗，以評估抗輪點病毒轉基因木瓜種植於土壤後對土壤微生物族群數與有效性養分之影響，以做為日後抗輪點病毒轉基因木瓜之栽培推廣或風險管理之參考資料。

## 材料與方法

### 試驗設計

於農業試驗所轉基因作物專用田區之網室內，完全隨機試驗設計擺置種植非轉基因木瓜 (台農 2 號木瓜, *Carica papaya* L. Tainung No.2) 與抗輪點病毒轉基因木瓜 (中興大學葉錫東教授提供種子) 之圓桶盆栽各十重複。

木瓜種植與施肥方法為，台肥公司化學肥料 (60 g 尿素、270 g 過磷酸鈣及 55 g 氯化鉀) 先與 2 kg 金針菇木屑堆肥 (農業試驗所堆肥舍自製，其成份如表 1) 混合均勻，再與 240 kg 砂質壤土 (取自霧峰鄉舊正村段之烏溪河床) 以圓鋤鏟勻，裝入 200 L 黑色塑膠桶，種植木瓜苗 (五個月大，平均高度 35 cm)，於種植後 70 days 時每盆土壤追施 200 g 台肥一號肥料。

土壤水分管理為每盆埋兩個石膏塊 (gypsum block, STARLOG soil moisture transducer model 6513, Unidata Australia) 於距離木瓜主幹 0-20 cm 且 30 cm 深處，每二天測定石膏塊電阻測值然後轉換為土壤水分張力，當平均土壤水分張力高於 1 bar 時灌水，使土壤水分張力降為 1/3 bar。

### 樣品之採樣

試驗種植一個月後，每盆每月進行土壤取樣。因盆栽土壤之直徑為 40 cm 深為 55 cm，故將盆栽面劃分為 4 等份，於每等份內以採土器 (直徑 2.4 cm) 分別採取距離轉基因與非轉基因木瓜主幹 0-20 cm 深 0-20 cm 土壤 (T20 與 CK20) 及距離轉基因與非轉基因木瓜主幹 0-20 cm 深 20-40 cm 土壤 (T40 與 CK40)，然後將 4 等份內採取之 T20、T40、CK20 及 CK40 土壤分別混合均勻。

表 1. 金針菇木屑堆肥之化學成份

Table 1. The chemical compositions of wasted winter mushroom spawn sawdust compost

pH <sup>z</sup>	EC <sup>z</sup>	N	P	K	Ca	Mg	Fe	Mn	Cu	Zn
	dS cm <sup>-1</sup>	----- % -----				----- mg kg <sup>-1</sup> -----				
5.73	5.21	1.71	2.18	1.15	1.04	1.30	1730	270	16	150

<sup>z</sup>pH and EC: compost/pure water = 10 g d.w./50 mL.

### 樣品測定項目與方法

採樣後之新鮮土壤稱 5 g 置入 100 mL 三角玻璃瓶內，加入 45 mL 無菌水，以震盪器將之震散為土壤溶液，然後 1 mL 土壤溶液加 9 mL 無菌水稀釋為  $10^{-2}$ ，以此類推，連續稀釋為  $10^{-3}$ 、 $10^{-4}$ 、 $10^{-5}$ 、 $10^{-6}$  及  $10^{-7}$  倍數之稀釋液，取 0.2 mL 稀釋液分別塗抹於營養固體培養基 (nutrient agar, Difco 213000)、馬鈴薯葡萄糖洋菜固體培養基 (potato dextrose agar, Difco™ 213400)、游離固氮細菌固體培養基 (Tchan 1983)、溶磷酸鈣細菌固體培養基 (Subba 1982) 及蛋白分解細菌固體培養基 (Li *et al.* 1992)，置於 30°C 孵育箱內經 32 hrs，選取菌落數為 30-300 cfu (colony forming unit) 之固體培養基培養皿者計數菌落數 (為 0.2 mL 土壤溶液所含之菌數)，將菌落數乘以 5 (將 0.2 mL 土壤溶液所含之菌數換算為 1 mL 土壤溶液所含之菌數) 與稀釋倍數，算出每公克土壤之總細菌、總真菌、游離固氮細菌、溶磷酸鈣細菌及蛋白分解細菌之族群數目。

土壤風乾後以 2 mm 篩子過篩，分析土壤有效性氮 (Bremner 1965)、磷及鉀濃度 (Chang 1981)，以及土壤與純水依 1:1 (wv<sup>-1</sup>) 比例混合後以酸鹼度計與電導度計分別測定 pH 與電導度值。

## 結 果

### 土壤微生物族群數的比較

**總細菌族群數的比較：**種植轉基因與非轉基因木瓜 0-20 cm 深土壤的總細菌族群數於試驗進行第一個月至第二個月內分別由  $10^{6.9}$  cfu g<sup>-1</sup> 與  $10^{7.1}$  cfu g<sup>-1</sup> 大幅增加至  $10^{7.7}$  cfu g<sup>-1</sup> 與  $10^{7.6}$  cfu g<sup>-1</sup>，第二個月至第三個月內增加的趨勢較緩，第四個月後分別維持在  $10^{7.5}$  cfu g<sup>-1</sup> 至  $10^{7.6}$  cfu g<sup>-1</sup> 與  $10^{7.6}$  cfu g<sup>-1</sup> 至  $10^{7.7}$  cfu g<sup>-1</sup> 之間；種植轉基因與非轉基因木瓜 20-40 cm 深土壤的總細菌族群數於試驗進行第一個月至第二個月內分別由  $10^{6.4}$  cfu g<sup>-1</sup> 與  $10^{6.6}$  cfu g<sup>-1</sup> 亦大幅增加至  $10^{7.6}$  cfu g<sup>-1</sup> 與  $10^{7.4}$  cfu g<sup>-1</sup>，第二個月至第三個月內則減少，第三個月之後維持在  $10^{7.4}$  cfu g<sup>-1</sup> 至  $10^{7.5}$  cfu g<sup>-1</sup> 與  $10^{7.4}$  cfu g<sup>-1</sup> 至  $10^{7.4}$  cfu g<sup>-1</sup> 之間 (圖 1)。

**總真菌族群數的比較：**種植轉基因與非轉基因木瓜 0-20 cm 深土壤的總真菌族群數於試驗進行第一個月至第三個月內分別由  $10^{4.9}$  cfu g<sup>-1</sup> 與  $10^{4.8}$  cfu g<sup>-1</sup> 減少為  $10^{4.2}$  cfu g<sup>-1</sup> 與  $10^{4.3}$  cfu g<sup>-1</sup>，在第四個月時回升為  $10^{4.4}$  cfu g<sup>-1</sup> 與  $10^{4.5}$  cfu g<sup>-1</sup>，於第四個月至第六個月間總真菌族群數變動不大；種植轉基因及非轉基因木瓜 20-40 cm 深土壤的總真菌族群數於試驗進行第一個月至第三個月內分別由  $10^{4.7}$  cfu g<sup>-1</sup> 與  $10^{4.7}$  cfu g<sup>-1</sup> 減少為  $10^{4.2}$  cfu g<sup>-1</sup> 與  $10^{4.2}$  cfu g<sup>-1</sup>，第四個月時回升為  $10^{4.2}$  cfu g<sup>-1</sup> 與  $10^{4.3}$  cfu g<sup>-1</sup>，第五個月至第六個月內則變動不大 (圖 2)。

**溶磷酸鈣細菌族群數的比較：**在試驗進行第一個月至第二個月內，種植轉基因與非轉基因木瓜 0-20 cm 深土壤的溶磷酸鈣細菌族群數分別由  $10^{5.2}$  cfu g<sup>-1</sup> 與  $10^{5.2}$  cfu g<sup>-1</sup> 增加至  $10^{5.9}$  cfu g<sup>-1</sup> 與  $10^{6.1}$  cfu g<sup>-1</sup>，於試驗第三個月時減少為  $10^{5.6}$  cfu g<sup>-1</sup> 與  $10^{5.6}$  cfu g<sup>-1</sup>，第四個月至第六個月內溶磷酸鈣細菌族群數分別維持在  $10^{5.6}$  cfu g<sup>-1</sup> 至  $10^{5.7}$  cfu g<sup>-1</sup> 與  $10^{5.6}$  cfu g<sup>-1</sup> 至  $10^{5.8}$  cfu g<sup>-1</sup>；種植轉基因與非轉基因木瓜 20-40 cm 深土壤的溶磷酸鈣細菌族群數在試驗進行第一個月至第二個月內分別由  $10^{5.1}$  cfu g<sup>-1</sup> 與  $10^{5.1}$  cfu g<sup>-1</sup> 增加為  $10^{5.5}$  cfu g<sup>-1</sup> 至  $10^{5.6}$  cfu g<sup>-1</sup>，在第三個月後溶磷酸鈣細菌族群數分別維持在  $10^{5.4}$  cfu g<sup>-1</sup> 至  $10^{5.7}$  cfu g<sup>-1</sup> 與  $10^{5.5}$  cfu g<sup>-1</sup> 至  $10^{5.6}$  cfu g<sup>-1</sup> (圖 3)。

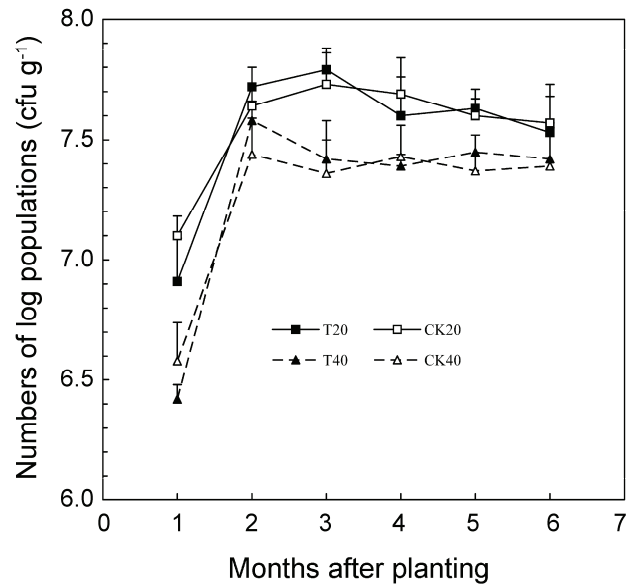


圖 1. 種植轉基因及非轉基因木瓜土壤總細菌族群數之變動。

Fig. 1. Changes of total bacterium populations of soils planted with transgenic and non-transgenic papayas. T20: 0-20 cm deep soil planted with transgenic papaya; CK20: 0-20 cm deep soil planted with non-transgenic papaya; T40: 20-40 cm deep soil planted with transgenic papaya; CK40: 20-40 cm deep soil planted with non-transgenic papaya.

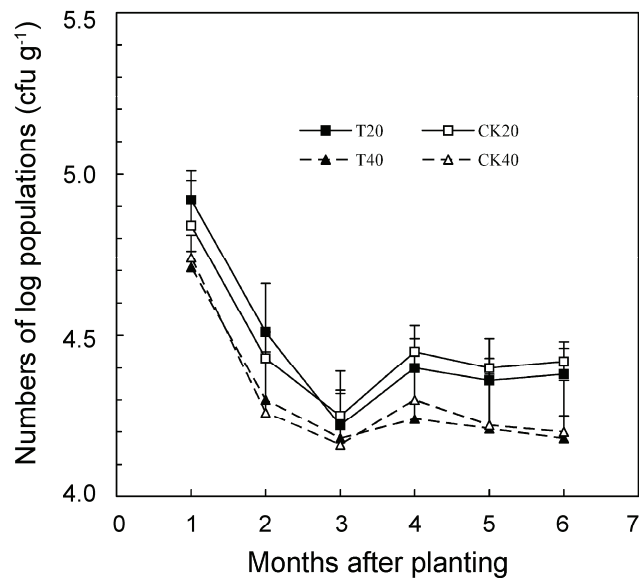


圖 2. 種植轉基因及非轉基因木瓜土壤總真菌數之變動。

Fig. 2. Changes of total fungi populations of soils planted with transgenic and non-transgenic papayas.

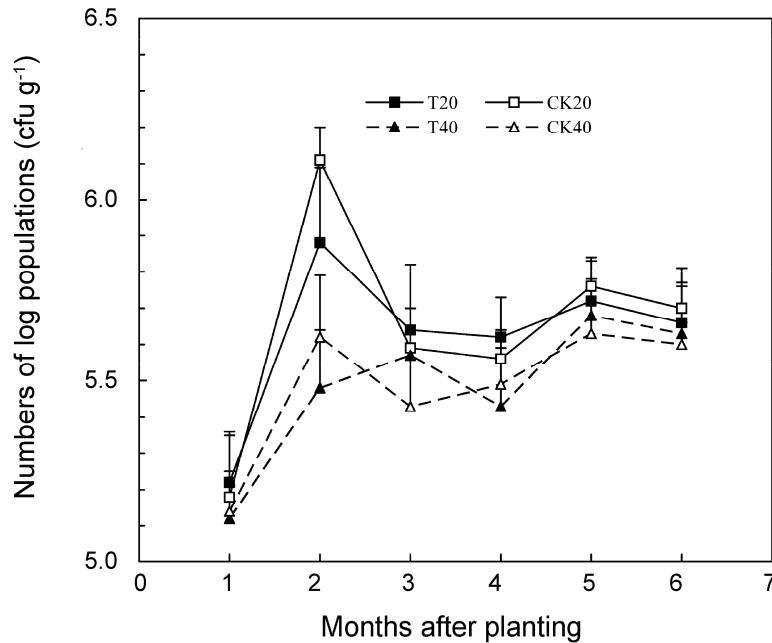


圖 3. 種植轉基因及非轉基因木瓜土壤溶磷酸鈣細菌族群數之變動。

Fig. 3. Changes of calcium phosphate-solubilizing bacterium populations of soils planted with transgenic and non-transgenic papayas.

**游離固氮細菌族群數的比較：**種植轉基因木瓜及非轉基因木瓜 0-20 cm 深土壤的游離固氮細菌族群數在試驗進行第一個月至第二個月內分別由  $10^{6.1}$  cfu g<sup>-1</sup> 與  $10^{5.9}$  cfu g<sup>-1</sup> 增加至  $10^{6.5}$  cfu g<sup>-1</sup> 及  $10^{6.3}$  cfu g<sup>-1</sup>，第三個月時減少為  $10^{6.1}$  cfu g<sup>-1</sup> 與  $10^{6.1}$  cfu g<sup>-1</sup>，第三個月至第五個月內則有回升的趨勢，第五個月時游離固氮細菌族群數分別為  $10^{6.3}$  cfu g<sup>-1</sup> 與  $10^{6.3}$  cfu g<sup>-1</sup>，第五個月至第六個月內菌數變動小；種植轉基因木瓜及非轉基因木瓜 20-40 cm 深土壤的游離固氮細菌族群數在試驗進行第一個月至第二個月內分別由  $10^{5.8}$  cfu g<sup>-1</sup> 與  $10^{5.7}$  cfu g<sup>-1</sup> 增加至  $10^{6.2}$  cfu g<sup>-1</sup> 及  $10^{6.2}$  cfu g<sup>-1</sup>，第二個月至第四個月內游離固氮細菌族群數減少，第四個月至第五個月內分別由  $10^{5.7}$  cfu g<sup>-1</sup> 與  $10^{5.8}$  cfu g<sup>-1</sup> 回升至  $10^{6.1}$  cfu g<sup>-1</sup> 與  $10^{6.0}$  cfu g<sup>-1</sup>，第五個月至第六個月內菌數變動很小 (圖 4)。

**蛋白分解細菌族群數的比較：**種植轉基因及非轉基因木瓜 0-20 cm 深土壤的蛋白分解細菌族群數於試驗進行第一個月至第三個月內分別由  $10^{5.8}$  cfu g<sup>-1</sup> 與  $10^{5.7}$  cfu g<sup>-1</sup> 減少至  $10^{5.7}$  cfu g<sup>-1</sup> 與  $10^{5.7}$  cfu g<sup>-1</sup>，試驗進行第四個月時蛋白分解細菌族群數分別稍為回升與減少，第五個月時分別減少為  $10^{5.6}$  cfu g<sup>-1</sup> 與  $10^{5.6}$  cfu g<sup>-1</sup>，第五個月至第六個月內則變動小；種植轉基因木瓜與非轉基因木瓜 20-40 cm 深土壤的蛋白分解細菌族群數於試驗進行第一個月至第二個月內分別由  $10^{5.6}$  cfu g<sup>-1</sup> 與  $10^{5.5}$  cfu g<sup>-1</sup> 減少為  $10^{5.3}$  cfu g<sup>-1</sup> 與  $10^{5.2}$  cfu g<sup>-1</sup>，第二個月至第四個月有回升趨勢，於第四個月時蛋白分解細菌族群數分別為  $10^{5.4}$  cfu g<sup>-1</sup> 與  $10^{5.5}$  cfu g<sup>-1</sup>，第四個月至第六個月內則變動較小 (圖 5)。

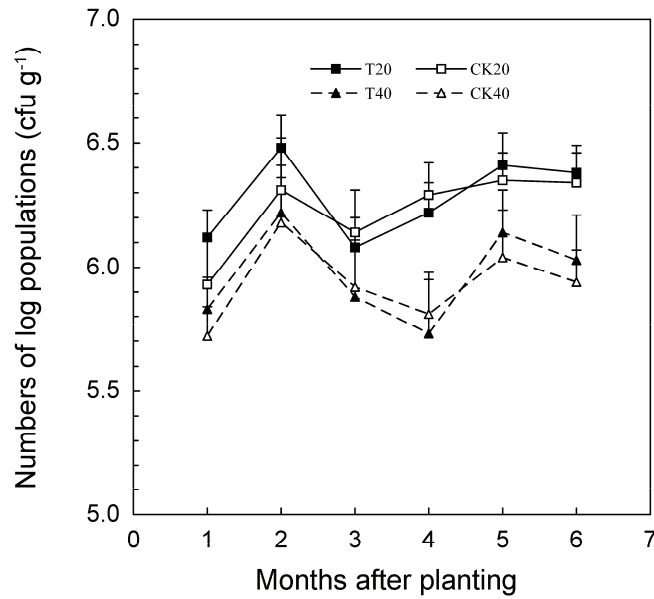


圖 4. 種植轉基因及非轉基因木瓜土壤游離固氮細菌族群數之變動。

Fig. 4. Changes of free living nitrogen-fixing bacterium populations of soils planted with transgenic and non-transgenic papayas.

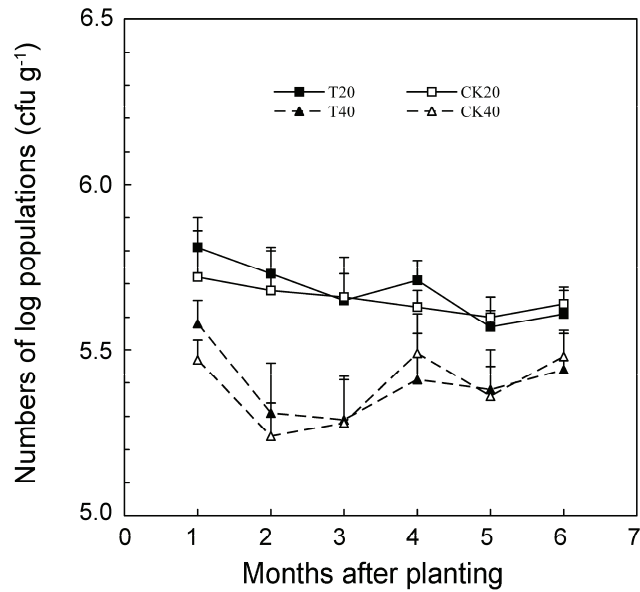


圖 5. 種植轉基因及非轉基因木瓜土壤蛋白分解細菌族群數之變動。

Fig. 5. Changes of protease bacterium populations of soils planted with transgenic and non-transgenic papayas.

### 土壤之有效性養分濃度的比較

種植轉基因及非轉基因木瓜 0-20 cm 深土壤的有效性氮濃度，於試驗進行第一個月至第二個月內分別由  $56 \text{ mg kg}^{-1}$  與  $63 \text{ mg kg}^{-1}$  減少為  $41 \text{ mg kg}^{-1}$  與  $38 \text{ mg kg}^{-1}$ ，第三個月時大幅增加為  $192 \text{ mg kg}^{-1}$  與  $184 \text{ mg kg}^{-1}$ ，第三個月後則隨時間逐漸減少，至第六個月時分別為  $135 \text{ mg kg}^{-1}$  與  $142 \text{ mg kg}^{-1}$ ；種植轉基因及非轉基因木瓜 20-40 cm 深土壤的有效性氮濃度於試驗進行第一個月至第二個月內分別由  $74 \text{ mg kg}^{-1}$  與  $92 \text{ mg kg}^{-1}$  減少為  $51 \text{ mg kg}^{-1}$  與  $63 \text{ mg kg}^{-1}$ ，第三個月時大幅增加為  $179 \text{ mg kg}^{-1}$  與  $156 \text{ mg kg}^{-1}$ ，第三個月後隨時間逐漸減少，至第六個月時分別為  $103 \text{ mg kg}^{-1}$  與  $109 \text{ mg kg}^{-1}$  (圖 6)。

於試驗進行第一個月至第二個月內，種植轉基因與非轉基因木瓜 0-20 cm 深土壤的有效性磷濃度變動小，第三個月時分別快速增加為  $34 \text{ mg kg}^{-1}$  與  $32 \text{ mg kg}^{-1}$ ，第三個月至第六個月內則逐漸減少，至第六個月時為  $28 \text{ mg kg}^{-1}$  與  $26 \text{ mg kg}^{-1}$ ；種植轉基因與非轉基因木瓜 20-40 cm 深土壤的有效性磷濃度，於第一個月至第二個月內亦變動很小，第二個月至第三個月內分別由  $18 \text{ mg kg}^{-1}$  與  $17 \text{ mg kg}^{-1}$  增加至  $22 \text{ mg kg}^{-1}$  與  $21 \text{ mg kg}^{-1}$ ，第四個月至第六個月內則變動很小 (圖 7)。

種植轉基因及非轉基因木瓜 0-20 cm 深土壤的有效性鉀濃度於試驗進行第一個月至第二個月內變動不大，第二個月至第三個月時快速增加，分別由  $53 \text{ mg kg}^{-1}$  與  $48 \text{ mg kg}^{-1}$  增加至  $288 \text{ mg kg}^{-1}$  與  $269 \text{ mg kg}^{-1}$ ，第三個月後逐漸減少，至第六個月時分別為  $215 \text{ mg kg}^{-1}$  與  $206 \text{ mg kg}^{-1}$ ；種植轉基因及非轉基因木瓜 20-40 cm 深土壤的有效性鉀濃度於試驗進行第一個月至第二個月內亦變動不大，第二個月至第三個月內分別由  $55 \text{ mg kg}^{-1}$  與  $79 \text{ mg kg}^{-1}$  增加為  $165 \text{ mg kg}^{-1}$  與  $159 \text{ mg kg}^{-1}$ ，第三個月後亦逐漸減少，至第六個月時分別為  $89 \text{ mg kg}^{-1}$  與  $102 \text{ mg kg}^{-1}$  (圖 8)。

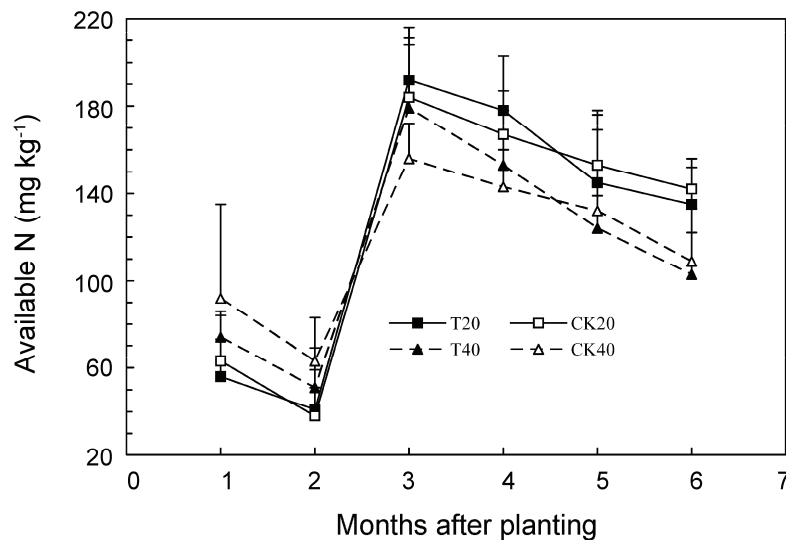


圖 6. 種植轉基因及非轉基因木瓜土壤有效性氮濃度之變動。

Fig. 6. Changes of available nitrogen concentrations of soils planted with transgenic and non-transgenic papayas.

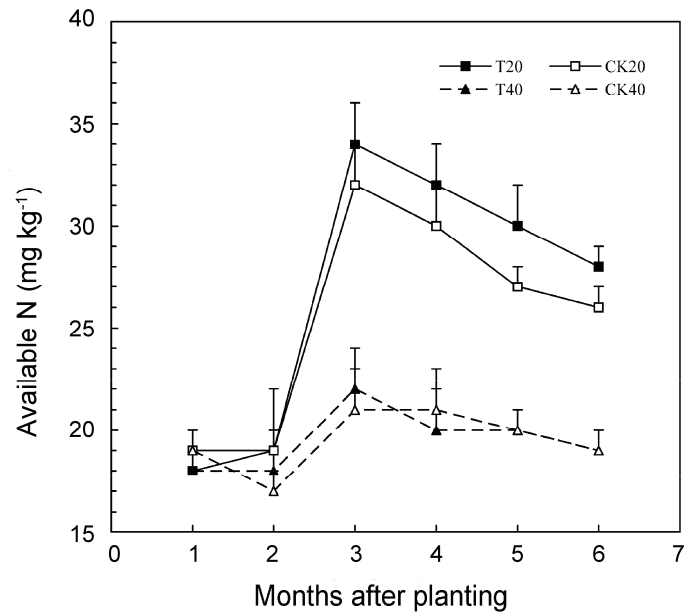


圖 7. 種植轉基因及非轉基因木瓜土壤有效性磷濃度之變動。

Fig. 7. Changes of total available phosphate concentrations of soils planted with transgenic and non-transgenic papayas.

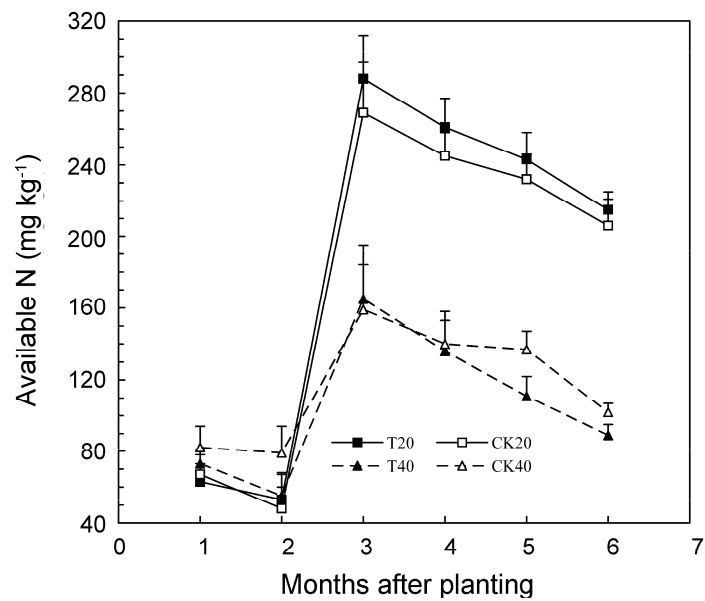


圖 8. 種植轉基因及非轉基因木瓜土壤有效性鉀濃度之變動。

Fig. 8. Changes of available potassium concentrations of soils planted with transgenic and non-transgenic papayas.



### 土壤 pH 值與電導度之比較

種植轉基因及非轉基因木瓜 0-20 cm 深土壤的 pH 值於試驗進行第一個月至第二個月內變動小，第二個月後逐漸下降，下降幅度以第二個月至第三個月內最大，分別為 0.58 個與 0.40 個 pH 值單位，至第六個月時 pH 值分別下降為 5.61 與 5.73；種植轉基因及非轉基因木瓜 20-40 cm 深土壤的 pH 值於試驗進行第一個月至第二個月內變動小，第二個月後亦逐漸降低，下降幅度亦以第二個月至第三個月內最大，分別為 0.41 個與 0.44 個 pH 值單位，至第六個月時 pH 值分別下降為 5.64 與 5.63 (圖 9)。

於試驗進行第一個至第二個月內，種植轉基因及非轉基因木瓜 0-20 cm 深土壤的電導度值分別由 0.69 dS m<sup>-1</sup> 與 0.63 dS m<sup>-1</sup> 下降為 0.48 dS m<sup>-1</sup> 與 0.50 dS m<sup>-1</sup>，第二個月至第三個月內大幅增加，第三個月時的電導度值為 1.31 dS m<sup>-1</sup> 與 1.38 dS m<sup>-1</sup>，第四個月後則維持平穩，分別介於 1.24 dS m<sup>-1</sup> 至 1.30 dS m<sup>-1</sup> 及 1.20 dS m<sup>-1</sup> 至 1.24 dS m<sup>-1</sup> 之間；種植轉基因及非轉基因木瓜 20-40 cm 深土壤的電導度值於試驗進行第一個月至第二個月內，分別由 0.73 dS m<sup>-1</sup> 與 0.78 dS m<sup>-1</sup> 降低為 0.68 dS m<sup>-1</sup> 與 0.64 dS m<sup>-1</sup>，第二個月至第三個月內大幅增加，第三個月時的電導度值分別為 1.48 dS m<sup>-1</sup> 與 1.42 dS m<sup>-1</sup>，第四個月後維持平穩，介於 1.23 dS m<sup>-1</sup> 至 1.35 dS m<sup>-1</sup> 及 1.27 dS m<sup>-1</sup> 至 1.37 dS m<sup>-1</sup> 之間 (圖 10)。

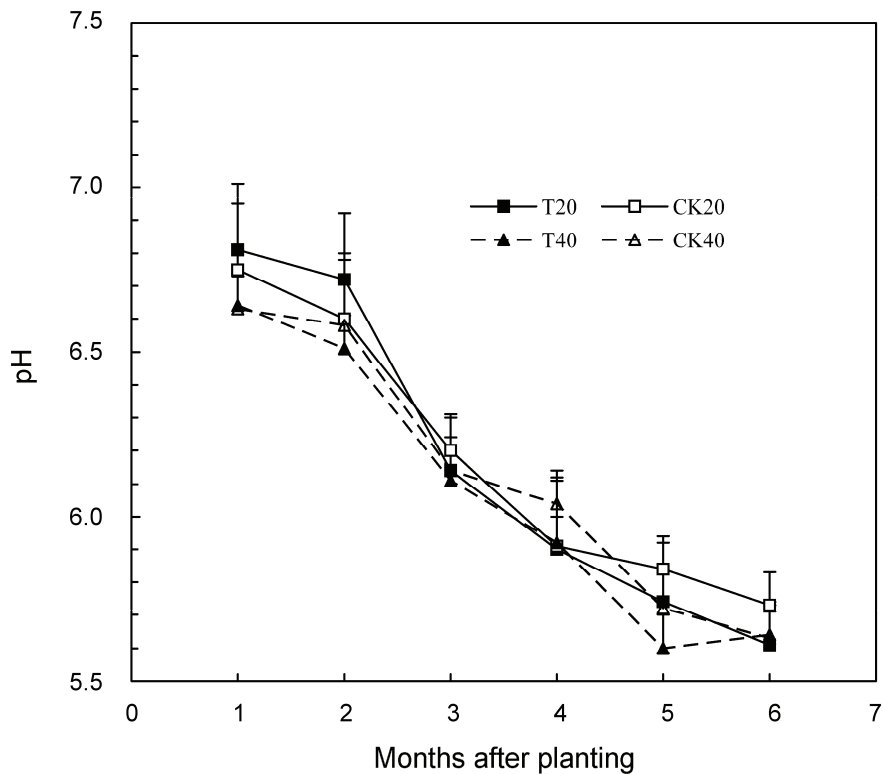


圖 9. 種植轉基因及非轉基因木瓜土壤 pH 值之變動。

Fig. 9. Changes of pH values of soils planted with transgenic and non-transgenic papayas.

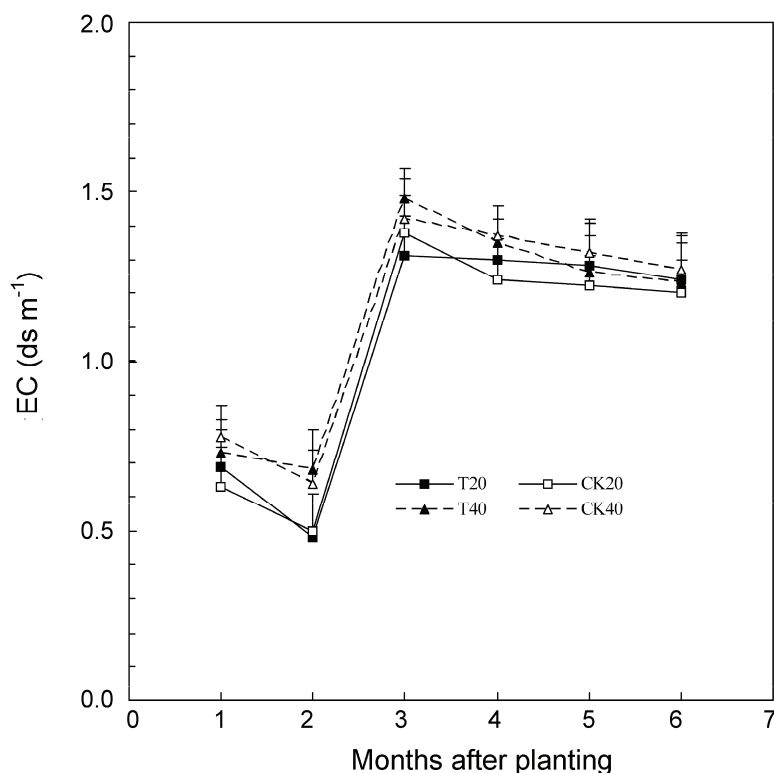


圖 10. 種植轉基因及非轉基因木瓜土壤電導度值之變動。

Fig. 10. Changes of electrical conductivity values of soils planted with transgenic and non-transgenic papayas.

## 討 論

雖然種植轉基因木瓜 0-20 cm 深土壤的總細菌、真菌、溶磷酸鈣細菌、游離固氮細菌及蛋白分解細菌族群數，分別於試驗進行第一個月與第四個月、第四個月至五個月、第二個月與第四個月至第五個月、第一個月及第四個月時，皆比種植非轉基因木瓜 0-20 cm 深土壤者的族群數少；種植轉基因木瓜 0-40 cm 深土壤的總細菌、真菌、溶磷酸鈣細菌、游離固氮細菌及蛋白分解細菌的族群數，分別於試驗進行第一個月、第四個月與第五個月、第二個月、第一個月及第四個月與第六個月時，皆比種植非轉基因木瓜 0-40 cm 深土壤者的族群數少。但把試驗期間種植轉基因與非轉基因木瓜土壤的總細菌族群數、真菌族群數、溶磷酸鈣細菌族群數、游離固氮細菌族群數及蛋白分解細菌族群數，分別兩相統計比較，兩者族群數之間的差不超過 10 倍，且差異是不顯著 (t-test,  $p < 0.05$ )。

大致而言，土壤在種植木瓜後第一個月至第二個月內，總細菌、溶磷酸鈣細菌及游離固氮細菌族群數皆有增加的趨勢，此與一般作物根系快速伸展生長，根部會釋出有機分泌物 (Griffiths *et al.* 1999; Kato *et al.* 1997; Lugtenberg *et al.* 1999; Pieta & Patkowska 2001) 供微生物吸收利用有關，而蛋白分解細菌族群數的變動不大以及總真菌族群數則反而隨時間而減少。試驗期間，種植

木瓜 0-20 cm 深土壤之總細菌、總真菌、溶磷酸鈣細菌、游離固氮細菌及蛋白分解細菌族群數皆比 20-40 cm 深土壤者為多，此與一般耕地表土的微生物族群數比底土者多的情形相符合 (Doran *et al.* 1987)。

種植轉基因木瓜 0-20 cm 深土壤的有效性氮濃度、有效性磷濃度、有效性鉀濃度、pH 值及電導度值，分別於試驗進行第一個月與第五個月、第一個月與第二個月、第一個月與第三個月時、第三個月與第五個月至第六個月及第二個月與第三個月，皆比種植非轉基因木瓜 0-20 cm 深土壤者低；種植轉基因木瓜 20-40 cm 深土壤的有效性氮濃度、有效性磷濃度、有效性鉀濃度、pH 值及電導度值，分別於試驗進行第六個月、第一個月與第四個月、第一個月至第二個月與第四個月至第六個月、第二個月與第四個月至第五個月及第一個月與第四個月至第六個月時，皆比種植非轉基因木瓜 0-20 cm 深土壤者低。但以統計方法分別比較種植轉基因木瓜土壤與種植非轉基因木瓜土壤的有效性氮濃度、有效性磷濃度、有效性鉀濃度、pH 值及電導度值，顯示於試驗進行期間兩者之間的差異是不顯著 (t-test,  $p < 0.05$ )。

試驗進行第一個月至第二個月內 0-20 cm 深土壤之有效效性氮、磷及鉀濃度及電導度測值皆低於 20-40 cm 深土壤者，表示木瓜根系自表土所吸的有效養分量大於自底土者；試驗進行第二個至第三個月內，盆栽土壤的有效性氮、磷及鉀濃度皆大幅增加，與在試驗進行第 70 days 時每盆土壤施用台肥一號追肥有關；試驗進行第三個月後，土壤中的有效性氮、磷及鉀濃度以及電導度測值逐漸減低，此結果和木瓜因持續生長，由根部自土壤中吸取養分供木瓜植株利用有關；試驗期間，土壤的 pH 值隨時間而變低，其原因為木瓜隨時間根部生長愈旺盛，根部分泌有機酸量愈多 (Griffiths *et al.* 1999; Kato *et al.* 1997) 而使土壤的 pH 值降低。

## 結 論

試驗期間種植抗輪點病毒轉基因木瓜土壤的總細菌、總真菌、溶磷酸鈣細菌、游離固氮細菌及蛋白分解菌族群數以及土壤有效性氮、有效性磷與有效性鉀濃度及 pH 值與電導度值雖然與種植非轉基因木瓜土壤者不完全相同，但兩相比較的結果則差異皆不顯著 (t-test,  $p < 0.05$ )，但長期種植後之結果有待深入探討研究。

## 引用文獻 (Literature cited)

- Bremner, J. M. 1965. Exchangeable ammonium, nitrate and nitrite determined by micro-diffusion methods. p.1206-1212. *in*: Methods of Soil Analysis Part 2. (Black, C. A, D. D. Evans, L. E. Ensminger, J. L. White, and F. E. Clark, eds.) Am. Soc. Agron. Wisconsin, USA.
- Chang, I. H. 1981. Current soil testing methods in Taiwan. p.9-15. *in*: Diagnosis for the Requirement of Plant Nutrition. Agricultural Research Institute, Council of Agriculture, Wufeng, Taichung, Taiwan, ROC.
- Cheng, Y. H., J. S. Yang, and S. D. Yeh. 1996. Efficient transformation of papaya by coat protein gene of papaya ring spot virus mediated by *Agrobacterium* following liquid-phase wounding of embryogenic tissues with carborundum. *Plant Cell Rep.* 16:127-132.

- Doran, J. W., D. G. Fraser, M. N. Culik, and W. C. Liebhardt. 1987. Influence of alternative and conventional agricultural management on soil microbial processes and nitrogen availability. *Am. J. Altern. Agric.* 2(3):99-106.
- Griffiths, B. S., K. Ritz, N. Ebbelwhite, and G. Dobson. 1999. Soil microbial community structure: effects of substrate loading rates. *Soil Biol. Biochem.* 31(1):145-153.
- Jacks, T. J., A. J. De Lucca, K. Rajasekaran, K. Stromberg, and K. H. van. 2000. Antifungal and peroxidative activities of nonheme chloroperoxidase in relation to transgenic plant protection. *J. Agric. Food Chem.* 48(10):4561-4564.
- Kato, OK., Y. Arima, and H. Hirata. 1997. Effect of exudates released from seeds and seedling roots of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) on proliferation of *Rhizobium* sp. (Phaseolus). *Soil Sci. Plant Nutri.* 43(2):275-283.
- Krinsky, S. and R. P. Wrubel. 1996. *Agricultural biotechnology and the environment*. Univ. Illinois Press USA. 294 pp.
- Li, M. and S. L. Wang. 1992. Cloning and characterization of *groEL* operon from *Bacillus subtilis*. *J. Bact.* 174:3981-3992.
- Lugtenberg, B. J., L. V. Kravchenko, and M. Simons. 1999. Tomato seed and root exudate sugars: composition, utilization by *Pseudomonas* biocontrol strains and role in rhizosphere colonization. *Environ. Microbiol.* 1(5):439-446.
- McKersie, B. D., J. Murnaghan, K. S. Jones, and S. R. Bowley. 2000. Iron-superoxide dismutase expression in transgenic alfalfa increases winter survival without a detectable increase in photosynthesis oxidative stress tolerance. *Am. Soc. Plant Physiol.* 122(4):1427-1437.
- Pieta, D. and E. Patkowska. 2001. Effect of root exudates of various plants on composition of bacteria and communities with special regard to pathogenic soil-borne fungi. *Acta Agrobot.* 54(1):95-104.
- Punja, Z. K. 2001. Genetic engineering of plants to enhance resistance to fungal pathogens - a review of progress and future prospects. *Can. J. Plant Pathol.* 23(3):216-235.
- Reedy, M. S., S. A. Ghabrial, C. T. Redmond, R. D. Dinkins, and G. B. Collins. 2001. Resistance to Bean pod mottle virus in transgenic soybean lines expressing the capsid polyprotein. *Phytopathology* 91(9):831-838.
- Subba Rao, N. S. 1982. Phosphate solubilization by soil microorganisms. p.295-603. *in: Advances in Agricultural Microbiology*. (Subba Rao, N. S., ed.) Butterworth Co. Ltd. London.
- Tchan, Y. T. and B. N. Peter. 1983. Key to the genera of the family *Azotobacteraceae*. p.220-223. *in: Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Volume 1. (Krieg, N. R. and H. G. John, eds.) William & Wilkins Co. Ltd. Baltimore, U. S. A.

- Vries, J. D., P. Meier, and W. Wackernagel. 2001. The natural transformation of the soil bacteria *Pseudomonas stutzeri* and *Acinetobacter* sp. by transgenic plant DNA strictly depends on homologous sequences in the recipient cells. *FEMS Microbiol. Lett.* 195(2):211-215.
- Xiao, X. W., P. W. G. Chu, M. J. Frenkel, L. M. Tabe, D. D. Shukla, P. J. Hanna, T. J. V. Higgins, W. J. Muller, and C. W. Ward. 2000. Antibody-mediated improved resistance to CIYVV and PVY infections in transgenic tobacco plants expressing a single-chain variable region antibody. *Mol. Breeding* 6(4):421-431.

# Environmental Safety Assessment of Transgenic Virus Resistant Papaya - I. The differences of soil microbial population and available nutrients concentration<sup>1</sup>

Shiuan-Yuh Chien<sup>2,3</sup>, Hsin-Der Sih<sup>2</sup>, Chien-Yih Lin<sup>2</sup>,  
Ming-Hui Chang<sup>2</sup>, and Pan-Chi Liuo<sup>2</sup>

## Abstract

Chien, S. Y., H. D. Sih, C. Y. Lin, M. H. Chang, and P. C. Liuo. 2008. Environmental safety assessment of transgenic virus resistant papaya - I. The differences of soil microbial population and available nutrients concentration. *J. Taiwan Agric. Res.* 57:49-62.

Transgenic (anti-papaya ring spot virus, Anti-PRSV) and non-transgenic papaya were planted randomly in pot soil within the net house of Agricultural Research Institute, COA. Soil was sampled once a month to determine soil microbial populations and available nutrient concentrations. Experimental results showed total bacterium populations of soils increased with time between first and second months and hardly changed from second to sixth months, and total fungi populations of soils decreased with time between first and third months and hardly changed from fourth to sixth months. 0-20 cm deep soils had higher microbial populations and available nutrient concentrations than those of 20-40 cm deep soils. The microbial populations including total bacteria, total fungi, free living nitrogen-fixing bacteria, phosphate-solubilizing bacteria and protease bacteria, and soil monitoring factors, such as available nitrogen, phosphate and potassium, pH and electrical conductivity were not significantly different between transgenic and non-transgenic papaya by t-test ( $p < 0.05$ ).

**Key words:** Transgenic papaya, Papaya ring spot virus (PRSV), Soil microbial populations, Soil available nutrients.

- 
1. Contribution No.2311 from Agricultural Research Institute, Council of Agriculture. Accepted: March 12, 2008.
  2. Respectively, Senior Researcher, Division of Agricultural Chemistry, Associate Researcher, Division of Plant Pathology, General Director of ARI, Assistant Researcher, Division of Agricultural Chemistry, Former Researcher, Division of Horticulture, ARI, Wufeng, Taichung, Taiwan, ROC.
  3. Corresponding author, e-mail: sychien@wufeng.tari.gov.tw, Fax: (04)23320805.