

# T4 转基因番木瓜遗传性和果实品质分析

魏祥东, 蓝崇钰, 卢志菁, 叶长明\*

(中山大学基因工程教育部重点实验室 生物防治国家重点实验室, 广州 510275)

**摘要:** 对 T4 代转基因番木瓜进行了分子生物学和果实品质分析, 结果表明, 筛选获得的转基因番木瓜均为转番木瓜环斑病毒 (PRV) 复制酶突变体基因 (RP), 且对 PRV 抗性达到了高抗或免疫, RP 基因在转基因植物中能稳定遗传至后代并在 RNA 水平上表达。在田间种植时, 转基因木瓜的生长状况普遍好于普通番木瓜, 尤其在生长后期 (10 月以后), 普通番木瓜 100% 发病 (大规模种植时), 而大部分 (约 91.8%) 转基因植株生长良好, 果实较多且表面光洁, 基本上无环斑。与非转基因亲本相比, T4 代转基因番木瓜的果实长度增加 2.6% ~ 5%, 果实直径变小 0.6% ~ 1.5%, 果肉厚度增加了 12% ~ 15%, 因而果实形状与亲本相近或更好, 且信用价值更高。转基因番木瓜果实中水分、蛋白质、氮、脂肪、还原性糖、维生素 A、维生素 C 和类胡萝卜素的含量与对照都无显著性差异, 即转基因番木瓜与亲本具有实质等同性, 这表明转入的外源基因对番木瓜果实品质没有不良影响。

**关键词:** 转基因番木瓜; 分子检测; 果实品质

**文章编号:** 1000-0933(2005)12-3301-06 **中图分类号:** Q 789, S33 **文献标识码:** A

## Analyses of virus resistance and fruit quality for T4 generation of transgenic papaya

WEI Xiang-Dong, LAN Chong-Yu, LU Zhi-Jing, YE Chang-Ming\* (The Key Laboratory of Gene Engineering of Ministry of Education, The State Key Laboratory of Biological Control, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510275, China). Acta Ecologica Sinica, 2005, 25(12): 3301~ 3306

**Abstract** Molecular biological characterization, fruit characters and nutrients were analyzed for T4 generation of transgenic papaya. All transgenic papaya plants with the mutated replicase (RP) gene from papaya ringspot virus (PRV) showed highly resistant or immune against PRV in field. The RP transgene can be steadily inherited to and expressed at RNA level in the progenies. The growth characteristics of transgenic papaya were much better than non-transgenic papaya in field. The non-transgenic papaya seedlings began to show typical symptoms of PRV after inoculated with PRV. They died quickly and never grew to produce fruit. The adult trees developed yellowed leaves and produced smaller fruits and doomed to a slow death after October. While most of transgenic papaya plants (about 91.8%) did not show any symptoms of PRV, and produced more, bigger and high quality fruits. Compared with non-transgenic plants, the fresh fruit length of T4 generation of transgenic papaya increased 2.6% ~ 5%, and the diameter decreased 0.6% ~ 1.5%. The flesh thickness of fresh fruit increased 12% ~ 15%, which made it fitter for eating. Although the fresh fruit quality had some change, we found there was no significant difference between transgenic and non-transgenic. The quality characters of dry fruit including the contents of water, lipid, N, protein, reduced sugar, vitamin A, vitamin C and carotene in T4 generation of transgenic papaya were all the same as their non-transgenic parents. This means that transgenic plants and non-transgenic plants are substantial equivalent, and the

**基金项目:** 国家高校博士点基金资助项目 (20020558044); 广东省环保局科技资助项目 (2001-17); 国家教育部重点资助项目 (031280); 广州市重点攻关资助项目 (2002251-C7061)

**收稿日期:** 2004-09-18; **修订日期:** 2004-11-25

**作者简介:** 魏祥东 (1973~), 男, 湖北人, 博士, 主要从事分子生态学研究

\* 通讯作者 Author for correspondence E-mail: ls04@zsu.edu.cn

**Foundation item:** The Doctoral Program of Higher Education of China (No. 20020558044), item of Guangzhou Municipal Environmental Protection Bureau (No. 2001-17), the Key Program of Ministry of Education of China (No. 031280) and item of Guangzhou Municipal Key Project (2002251-C7061)

**Received date:** 2004-09-18; **Accepted date:** 2004-11-25

**Biography:** WEI Xiang-Dong, Ph.D., mainly engaged in molecular ecology.

transgene has no effect on dry fruit quality. In this study, we found vitamin A and vitamin C in red flesh papaya were 1.4~1.8 and 1.78~2.07 times more than the yellow flesh ones respectively, while N and protein were only 84.2%~92.1% and 82.1%~98.9% of the yellow flesh ones.

**Key words:** transgenic papaya; molecular detection; fruit quality

植物基因工程自 20 世纪 80 年代中期诞生以来,取得飞速发展,大批转基因植物或称遗传改造的(GM)植物不断问世,然而 GM 植物在造福人类的同时,也带来一些新的问题,特别是 1998 年以后 GM 植物安全性问题成为争论的焦点<sup>[1,2]</sup>。目前,国际上关于转基因作物的争论很多,对于 GM 植物是否存在安全性问题,即使是培育 GM 植物的科学家们,对于 GM 植物会对环境造成什么影响,GM 食品是否安全性也没有足够的证据,而且转基因作物争论的实质并不纯粹是科学问题,而是经济和贸易问题<sup>[1,2]</sup>。为了解决国际上关于 GM 食品的分歧和争论,世界经合组织于 1993 年提出了食品安全性评价的实质等同性原则(生物技术产生的食品及食品的成分是否与目前市场上销售的食品具有实质等同性)作为评价 GM 植物是安全的标准<sup>[3,4]</sup>。迄今国内外对抗虫、抗除草剂 GM 植物的安全性问题研究较多,而对抗病特别是抗病毒病的 GM 植物研究较少,对 GM 食品的园艺性状、营养成分及对生态环境影响的研究更少<sup>[5~12]</sup>。

番木瓜可在热带、亚热带种植,其果实营养丰富,果菜兼用,又可用于多种深加工,从果实中提取的木瓜酶,更在医药、食品和化妆品等工业领域用途广泛。番木瓜环斑病毒病(PRV)是木瓜毁灭性的病害,当年一般 100% 发病(大规模种植时),产质量严重下降,并使这种多年生植物只能种植 1 年,因而极大地影响世界各地的木瓜生产及其相关产业。本课题组将自行克隆的 PRV 的复制酶(RP)基因导入番木瓜,共获得 14 个转基因系<sup>[13,14]</sup>。经多年攻毒试验和田间试验表明它们对 PRV 具有不同程度性的抗性,其中 4 个系达到高抗,3 个系达到免疫,且它们都能正常开花、结实,并已筛选出两个稳定遗传的高抗品系<sup>[15]</sup>,经农业部批准于 2002~2003 年进行了环境释放试验(批准号 2002~002)。

本文选择转基因番木瓜 T4 代作为对象,观察分析其生长发育、园艺性状,分析其遗传稳定性,并对果实营养成分进行测定,根据实质等同性原则对其安全性作出评估,以便促进其早日实现产业化,同时为行业管理部门制定行业规定和以依法行政提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 转基因番木瓜的栽植

2002 年 1 月在中山大学生物工程研究中心温室中,将已筛选出两个稳定遗传的转基因的番木瓜高抗品系(黄肉型中抗 1 号和红肉型中抗 2 号)的 T3 代种子采取营养钵育苗,2002 年 3 月人工摩擦接种 PRV,15d 后观察发病情况,淘汰病株,健株移栽至广州蔬菜研究所,总面积 0.27hm<sup>2</sup>,200 株/666.7m<sup>2</sup>。同时在中大温室种植 12 株,以便在田间植株砍除后进一步观察,并栽植普通番木瓜(广红和美中红)作对照并防止转基因番木瓜通过花粉传播、扩散。于 5 月生长旺盛期再接种一次 PRV,拔除病株,并在番木瓜整个生育期,对其生长发育及发病情况等进行观察。释放结束后,于 2003 年 1 月全部砍除,集中堆放,令其腐熟成肥料。

### 1.2 转基因番木瓜 DNA 分析

随机取 3 株中抗 1 号转基因植株和 3 株中抗 2 号转基因植株,按常规 CTAB 法提取番木瓜 DNA,用合成的两段引物 5'-CGA GGA TCCA TGG A TAA GTT ACAC GGC AA TCT-3' (克隆 RP 基因时用的基因 5 端引物),5'-CAC GGT ACCT TACT TA GACT GGT GAA ACA CA T-3' (克隆 RP 基因时用的 3 端引物),进行了 PCR 分析,1.2% 琼脂糖凝胶电泳检查结果。然后割胶纯化目的片段,并用合成的另一条引物 5'-AACA TCGT GGT CAA CTT CACC-3' (与 RP 基因第 226~246 核苷酸互补)与 5 端引物配对进行巢式 PCR 扩增,1.2% 琼脂糖凝胶电泳检查结果。将 PCR 阳性的转基因番木瓜植株的总 DNA 用 *Bam* HI 和 *Kpn* I 消化后,用  $\alpha^{32}$ P-dCTP 标记的 RP 探针,按常规方法进行 Southern 印迹分析。

### 1.3 转基因番木瓜 RNA 分析

按异硫氰酸胍法提取番木瓜总 RNA,用无 RNase 的 Dnase I 消化可能存在的 DNA,用上述 RP 引物进行 RT-PCR,电泳检查结果。

### 1.4 转基因番木瓜园艺性状分析

随机取田间种植的供试植株成熟的果实,对果长、单果鲜重、果形、色泽、果肉厚度等园艺性质进行测量。

### 1.5 番木瓜果实品质分析

随机取供试植株成熟的果实,黄肉型 12 个、红肉型 8 个,并从对照田中随机采收非转基因番木瓜成熟果实,黄肉型 6 个、红肉型 5 个。去掉种子,称取质量相同的番木瓜,风干后用食品粉碎机(型号为 TUV GS)粉碎。按国家标准测定水分(GB 5009.3-85)、氮(GB 5009.5-85)、蛋白质(GB 5009.5-85)、脂肪(GB 5009.6-85)、还原糖类(GB 5009.7-85)、维生素 A (GB 12388-90)、维

生素 C (GB 12392-90) 和类胡萝卜素 (GB 12389. 90) 的含量。数据均用 SPSS 12.0 分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 转基因番木瓜生长发育情况

转基因木瓜的生长状况普遍好于普通番木瓜, 尤其在生长后期(10 月以后), 普通番木瓜 100% 发病(大规模种植时), 表现出花叶、鸡爪状叶、果实布满环斑等典型的 PRV 症状, 叶片枯死, 果实少而小; 而在田间种植的 812 株转基因番木瓜植株中, 除 75 株(约为 9.2%) 转基因番木瓜植株表现出轻微 PRV 症状外, 其它转基因植株生长良好, 果实较多且表面光洁, 基本上无环斑(图 1)。即使是表现出轻微 PRV 症状的转基因番木瓜植株, 果实也远超过普通番木瓜, 而且果实表面的环斑比普通番木瓜少。

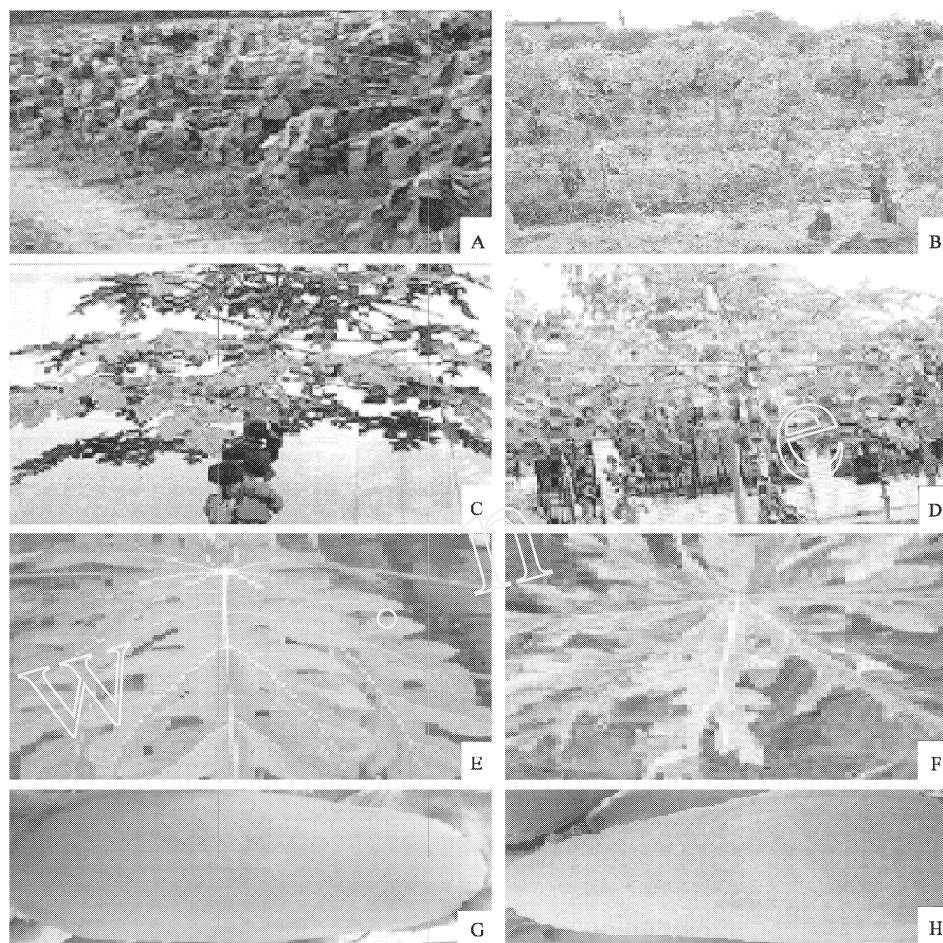


图 1 转基因番木瓜生长发育

Fig 1 Growth and virus resistance of transgenic papaya in field

A、C 转基因番木瓜; B、D 普通番木瓜; E、G 转基因番木瓜; F、H 普通番木瓜(示鸡爪状病叶和果实环斑症状) A, C, E, G: Transgenic papaya; B, D, F, H: Wild papaya

### 2.2 转基因植株的遗传稳定性

从 6 株转基因番木瓜提取 DNA, 都能扩增出一条约 1600bp 的电泳带, 与转入外源基因(RP) 的大小(1602bp) 相吻合, 而从未转基因番木瓜提取的 DNA 不能扩增出这一 DNA 带(见图 2 a)。割胶纯化目的片段进行巢式 PCR 扩增, 都能扩增出一条约 260bp 的电泳带, 与理论值 255bp 相吻合, 而从未转基因番木瓜提取的 DNA 不能扩增出这一 DNA 带(见图 2 b)。Southern 印迹结果见图 3 a。所有样品均显示一个杂交带, 大小相同, 表明 PRV RP 基因都为单拷贝。番木瓜总 RNA RT-PCR 的结果见图 3 b。转基因番木瓜都扩增出约 1.6 kb 的 DNA 带, 而从未转基因番木瓜不能扩增任何 DNA 带。

### 2.3 番木瓜果实外观性状分析

2002 年种植的转基因番木瓜 T4 代株系——中抗 1 号和中抗 2 号单果鲜重分别为: 505~ 1240g 和 245~ 435g, 平均为 701.6g 和 360.6g。与对照受体品种相比并无显著差异。与亲本相比, 中抗 1 号和中抗 2 号的果长变长, 而果实直径变小, 使得果实成椭圆形, 但与亲本并无显著差异(见表 1, 表 3)。从果肉厚度来看, 无论是中抗 1 号还是中抗 2 号, 果肉分别比亲本增厚了

15% 和 12%, 因而产酶量更大, 食用价值更高。转基因番木瓜果实都比较光洁, 几乎没有环斑, 果实较多, 而亲本果实少且表面布满环斑, 这表明转基因番木瓜抗病效果好。

#### 2.4 转基因番木瓜果实营养成分分析

转基因番木瓜果实理化品质分析结果见表 2。从表 2 可知, 中抗 1 号转基因番木瓜的水分、脂肪、N、蛋白质和维生素 C 的含量比非转基因番木瓜低, 其中脂肪、蛋白质和维生素 C 含量分别降低了 13%、15% 和 11.1%; 类胡萝卜素、还原性糖和维生素 A 的含量比非转基因番木瓜高, 其中类胡萝卜素和还原性糖的含量分别增加了 28.6% 和 22.9%。中抗 2 号与亲本相比, 还原性糖、维生素 C 和维生素 A 的含量分别增加了 20%、12% 和 3.7%, 而类胡萝卜素含量降低了 16.2%, 其他营养成分变化很小。但经过显著性比较发现, 中抗 1 号和中抗 2 号与其亲本在果实理化品质上并无显著性差异(表 3)。

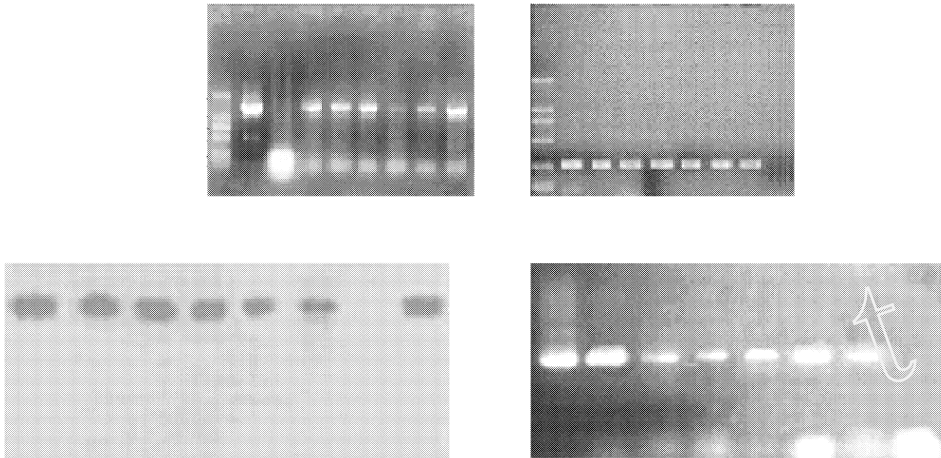


图 2 转基因番木瓜的分子生物分析

Fig. 2 PCR analyses for transgenic papaya

a RP 基因 PCR DNA 来自: 1, pRPTW; 2, 未转基因番木瓜; 3 至 8, 转基因番木瓜; b 巢式 PCR DNA 来自: 1 至 6, a 中 3~8 割胶纯化; 7, pRPTW; 8, 未转基因番木瓜; c Southern 印迹 DNA 来自: 1~6, 转基因番木瓜; 7, 未转基因番木瓜; 8, pRPTW; d RT-PCR RNA 来自: 1, pRPTW; 2~7, 转基因番木瓜; 8, 未转基因番木瓜; a PCR for RP gene Template DNA from: 1, pRPTW; 2, Wild type papaya; 3~8, Transgenic papaya; b PCR for nested PCR Template DNA from: 1~6, Purified from 3~8, line in a; 7, pRPTW; 8, Wild type papaya; c Southern hybridization of papaya genomic DNA; 1~6, DNA from transgenic papaya; 7, DNA from wild type papaya; 8, pRPTW; d RT-PCR for RP gene; Template RNA from: 1, pRPTW; 2~6, Transgenic papaya; 8, Wild type papaya

#### 2.5 红肉型番木瓜和黄肉型番木瓜品质分析

对中抗 1 号(黄肉型)及其亲本与中抗 2 号(红肉型)及其亲本的理化品质分析发现: 黄肉型番木瓜的 N 和蛋白质含量都比红肉型分别高 6.3%~18.8% 和 1.1%~21.7%, 而红肉型番木瓜的维生素 A 和维生素 C 的含量分别是黄肉型的 1.4~1.8 倍和 1.78~2.07 倍(见表 3)。经显著性分析发现, 红肉型番木瓜和黄肉型番木瓜的维生素 A、维生素 C 和类胡萝卜素的含量差异极显著(见表 4)。

表 1 转基因番木瓜 T4 代果实性状

Table 1 Fruit characters of transgenic papaya T4 (n=10)

| 株系<br>Line                | 果实长度(cm)<br>Fruit length | 果实直径(cm)<br>Fruit diameter | 单果重量(g)<br>Fresh weight per fruit | 果肉厚度(cm)<br>Flesh thickness |
|---------------------------|--------------------------|----------------------------|-----------------------------------|-----------------------------|
| 中抗 1 号 Transgenic 1       | 19.9 ± 3.3               | 8.64 ± 1.18                | 701.6 ± 181.9                     | 2.34 ± 0.46                 |
| 广红 non-transgenic parent  | 19.4 ± 5.4               | 8.77 ± 1.29                | 705.6 ± 188.2                     | 2.04 ± 0.47                 |
| 中抗 2 号 Transgenic 2       | 16.7 ± 3.36              | 6.87 ± 1.06                | 360.6 ± 61.8                      | 1.85 ± 0.25                 |
| 美中红 non-transgenic parent | 15.9 ± 3.37              | 6.91 ± 1.27                | 358.6 ± 65.5                      | 1.65 ± 0.46                 |

Figures in the table are the average of repetition and standard error

### 3 讨论

番木瓜环斑病毒病是番木瓜的一种世界性、毁灭性病害, 长期未解决其防治问题。美国科学家于 20 世纪 90 年代中期率先获得转基因番木瓜(转 PRV CP 基因的抗病毒番木瓜), 并于 1997 年获美国 FDA 批准商业化生产, 但经商业化生产表明, 这种

转基因番木瓜仅能延迟两个月发病<sup>[16,17]</sup>。在 1996 年获得转 PRV RP 基因的番木瓜,从实际情况来看,转基因番木瓜(T0)自 1997 年 10 月移栽至温室,已经历 6a 多时间多次人工和自然接种 PRV,其中两株(经分子检测证明是转 PRV RP 基因的植株)仍未表现任何症状,抗病性如此之强,保持时间如此之长的转基因植物还未见其他报道。经过中间试验和环境释放研究表明,筛选获得抗病性较强的转基因番木瓜株系达到了对 PRV 高抗甚至免疫。经分子生物学分析发现,筛选获得的高抗性转基因番木瓜均为转 PRV RP 基因的番木瓜,而且转入番木瓜中的外源基因能稳定遗传至 T4 代,并在 RNA 水平上表达。根据美国田间实验和作者的实验表明,转 CP 基因的番木瓜抗病性较差,转 RP 基因的番木瓜抗病性较强,因而在筛选过程中,转 CP 基因的番木瓜株系被淘汰,转 RP 基因的株系保留下来,这与国内外关于植物病毒 RP 基因在转基因植物中介导高度抗病性的研究一致<sup>[18~21]</sup>。

根据转基因番木瓜生长情况可以看出,获得的转基因番木瓜基本上解决了 PRV 病毒病的危害,使这种多年生植物既能够多年生长,又能保证产量和质量。虽然转基因后代出现分离,这是因为番木瓜是一种异花授粉植物所致,但经过幼苗期的初筛后,只有少量植株(约 9.2%)在田间种植时表现出轻微的 PRV 症状,但对产量、质量影响不大,因而能满足商业化生产的要求。

表 2 转基因番木瓜 T4 代营养成分

| Table 2 Nutrients of transgenic papaya T4 (n= 10) |                |                  |                   |                |                         |                                 |                                 |                             |
|---------------------------------------------------|----------------|------------------|-------------------|----------------|-------------------------|---------------------------------|---------------------------------|-----------------------------|
| 株系<br>Line                                        | 水分(%)<br>Water | 氮(%)<br>Nitrogen | 蛋白质(%)<br>Protein | 脂肪(%)<br>Lipid | 还原糖(%)<br>Reduced sugar | 维生素 A<br>(mg/100g)<br>Vitamin A | 维生素 C<br>(mg/100g)<br>Vitamin C | 类胡萝卜素<br>(μg/g)<br>Carotene |
| 广红 non-transgenic parent                          | 91.9±1.6       | 1.9±0.3          | 11.2±1.5          | 1.0±0.2        | 7.0±1.7                 | 0.41±0.1                        | 82.9±24.8                       | 31.8±9.7                    |
| 中抗 1 号 Transgenic 1                               | 91.1±1.2       | 1.7±0.4          | 9.5±2.1           | 0.87±0.2       | 8.6±1.1                 | 0.47±0.1                        | 73.7±13.4                       | 40.9±7.0                    |
| 美中红 non-transgenic parent                         | 89.9±1.6       | 1.6±0.4          | 9.4±2.4           | 1.1±0.2        | 6.4±1.2                 | 0.66±0.2                        | 147.4±40.5                      | 46.2±8.6                    |
| 中抗 2 号 Transgenic 2                               | 90.6±1.4       | 1.6±0.3          | 9.2±1.8           | 1.2±0.2        | 7.7±1.9                 | 0.74±0.2                        | 152.9±35.3                      | 38.7±10.9                   |

Figures in the table are the average of repetition and standard error

表 3 转基因番木瓜与非转基因亲本的显著性差异分析

| Table 3 Differences in transgenic papaya and non-transgenic papaya |                                                     |          |                    |                                                      |          |                    |
|--------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------|----------|--------------------|------------------------------------------------------|----------|--------------------|
| 样本 Sample<br>果实品质<br>Fruit characters                              | 中抗 1 号和广红<br>Transgenic 1 and non-transgenic parent |          |                    | 中抗 2 号和美中红<br>Transgenic 2 and non-transgenic parent |          |                    |
|                                                                    | F 值<br>F ratio                                      | t 值<br>t | 显著水平<br>Sig. level | F 值<br>F ratio                                       | t 值<br>t | 显著水平<br>Sig. level |
|                                                                    |                                                     |          |                    |                                                      |          |                    |
| 果实长度 Fruit length                                                  | 0.8151                                              | 0.1615   | 0.8251             | 0.0650                                               | 0.4224   | 0.6980             |
| 果实直径 Fruit diameter                                                | 0.0508                                              | 0.1766   | 0.8485             | 0.0698                                               | 0.0384   | 0.9683             |
| 单果鲜重 Fruit weight per fruit                                        | 0.0005                                              | 0.0374   | 0.9612             | 0.0000                                               | 0.0541   | 0.9806             |
| 果肉厚度 Fruit thickness                                               | 0.1770                                              | 1.1175   | 0.2060             | 2.2850                                               | 1.0490   | 0.2885             |
| 水分 Water                                                           | 0.4881                                              | 1.1054   | 0.2319             | 0.1700                                               | 0.8401   | 0.3946             |
| 氮 N                                                                | 0.2478                                              | 1.6898   | 0.1406             | 2.8214                                               | 0.2275   | 0.8013             |
| 蛋白质 Protein                                                        | 0.3327                                              | 1.8171   | 0.1125             | 1.9095                                               | 0.1555   | 0.8679             |
| 脂肪 Lipid                                                           | 0.7292                                              | 1.5855   | 0.1574             | 1.1719                                               | 0.2603   | 0.7909             |
| 还原糖 Reduced                                                        | 6.4964                                              | 0.8617   | 0.4355             | 0.3950                                               | 1.0820   | 0.5698             |
| 维生素 A Vitamin A                                                    | 0.1067                                              | 1.0827   | 0.3456             | 0.2166                                               | 0.8217   | 0.3213             |
| 维生素 C Vitamin C                                                    | 1.8255                                              | 0.5661   | 0.6730             | 0.8035                                               | 0.2026   | 0.8280             |
| 类胡萝卜素 Carotene                                                     | 1.7545                                              | 1.2502   | 0.2668             | 0.0011                                               | 1.3738   | 0.8619             |

T4 代转基因番木瓜的果长增加 2.6%~5%,果径变小 0.6%~1.5%,因而果形近椭圆形,而这种果形在市场上更受欢迎;同时其果肉厚度增加了 12%~15%,使可食用部分增加,因而食用价值更高,但经分析发现,转基因番木瓜的园艺性状与其亲本并无显著性差异,这表明转入的外源基因对番木瓜园艺性状没有不良影响。由于转基因番木瓜的果形等性状会受到植株性别的影响,因此在采样时,尽管选取相同株性的果实进行分析,但也不能肯定 T4 代转基因番木瓜的果形是由于转入的外源基因造成的。虽然转基因番木瓜的营养成分与亲本并不完全一致,但也无显著性差异,这表明转入的外源基因对番木瓜的营养成分也没有影响。虽然样品烘干后对果实的营养成分(例如维生素 C)有一定影响,但由于该方法在样品的处理时间、方法上完全一致,因而对最终结果影响不大。虽然烘干样品中维生素 C 的含量会有变化,但分析的结果同国外的分析结果基本一致,因而认为结果准确可靠<sup>[22]</sup>。转基因植物安全性问题一直是人们争论的焦点,但通过对转基因番木瓜果实品质分析表明,它们具有实质等同性,因而可以初步断定这种转基因番木瓜是安全可食用的。

通过对红肉型和黄肉型番木瓜的营养成份分析发现,红肉型番木瓜维生素和胡萝卜素的含量都比黄型高 1 倍以上,糖、N 和蛋白质含量却略低(红肉型番木瓜的 N 和蛋白质含量分别是黄肉型番木瓜的 84.2%~92.1%和 82.1%~98.9%)。这也是红肉型番木瓜被当作水果在市场销售,而且价格更高、更受人们喜爱的原因。由于黄肉型番木瓜有刺鼻气味,主要被用于工业生产(如生产木瓜蛋白酶),通过分析,认为产生的刺鼻气味的物质可能是含 N 物质,更可能是蛋白质,这也与国外研究一

致<sup>[23~25]</sup>。虽然转基因植物安全性问题一直是人们争论的焦点,但通过对转基因番木瓜和美国商业化生产的转基因番木瓜相比,研制的转基因番木瓜没有 GU S 基因,虽然并没有 GU S 有害的报道,但少一种外源基因,则发生水平转移及其它环境问题的可能性较小,因此本研究研制的转基因番木瓜应更安全<sup>[6,25]</sup>。

## References

- [1] Losey J E, Ranyor I S, Carter M E. Transgenic pollen harms monarch larvae. *Nature*, 1999, **399**(5): 214
- [2] Liu C G, Lin Q S, Jiang Y J, et al. Research on biosafety of transgenic plants. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2003, **11**(3): 175~177.
- [3] Peter K, Paul M. Substantial equivalence is a useful tool. *Nature*, 1999, **401**(10): 604
- [4] Garard P. The principles of substantial equivalence and how it and food safety are assessed. *Transgenic Plants and Food Safety*, 1999, 43~50. In: John L. E. ed. *Transgenic Plants in Agriculture*. Ten Years Experience of the French Biomolecular Engineering Commission.
- [5] Zhou X P, Li D B. Genetically engineering resistance to viruses and environmental risk assessment of releases of transgenic plants. *Chinese Bulletin of Life Sciences*, 2000, **12**(1): 4~7.
- [6] Jia S R. Safety evaluation of marker genes in transgenic food plants. *Scientia Agricultura Sinica*, 1997, **30**(2): 1~15
- [7] Lu A Z, Zhao H, Wang T Y, et al. Possibility of target gene introgression from transgenic wheat into non-transgenic plants through pollens. *Acta Agriculturae Boreali-Sinica*, 2002, **17**(3): 1~6
- [8] Khan M N, Heyne E G, Arp A L. Pollen distribution and the seed-set on *Triticum aestivum* L. *Crop Sci*, 1973, **13**(2): 223~2261
- [9] Zhang B H, Guo T L. Frequency and distance of pollen dispersal from transgenic cotton. *China J. Appl. Environ. Biol*, 2000, **6**(1): 39~42
- [10] Scheffler J, Parkinson R, Dale P J. Frequency and distance of pollen dispersal from transgenic oil seed rape. *Transgenic Res*, 1993, **2**(6): 356~364
- [11] Lewellyn D, Fitt G. Pollen dispersal from two trials of transgenic cotton in the Namoi valley. *Australia Mol Breed*, 1996, (2): 157~166
- [12] Kerlan M C, Cherve A M, Eber F, et al. Risk assessment of outcrossing of transgenic rapeseed related species: interspecific hybrid production under optimal condition with emphasis on pollination and fertilization. *Euphytica*, 1992, **62**: 145~153
- [13] Ye C M, Chen G, Huang J C, et al. Cloning and sequencing of replicase gene of papaya ringspot virus. *Acta Scientiarum. Naturalium Universitatis Sun Yat-sen*, 1996, **35**(6): 125~127.
- [14] Chen G, Ye C M, Li B J, et al. Cloning of the papaya ringspot virus (PRSV) replicase gene and generation of PRSV resistant papayas through the introduction of the PRSV replicase gene. *Plant Cell Rep*, 2001, **20**(13): 272~277.
- [15] Ye C M, Wei X D, Chen D H, et al. Analyses of virus resistance and transgenes for transgenic papaya. *Hereditas* (Beijing), 2002, **25**(2): 181~184
- [16] Lines R E, Persley D, Dale J, et al. Genetically engineered immunity to Papaya ringspot virus in Australian papaya cultivars. *Molecular Breeding*, 2002, **10**(3): 119~129
- [17] Lines S, Manshard R M, Fitch M M M, et al. Pathogen-derived resistance provides papaya with effective protection against papaya ringspot virus. *Molecular Breeding*, 1997, **3**(3): 161~168
- [18] Guo X Q, Lu S E, Zhu C X, et al. RNA mediated viral resistance against potato virus Y (PVY) in transgenic tobacco plants. *Acta Phytopathologica Sinica*, 2001, **31**(4): 349~356
- [19] Smith H A, Powers H, Swaney S, et al. Transgenic potato virus Y resistance in potato: evidence for a RNA mediated cellular response. *Phytopathology*, 1995, **85**(8): 864~870
- [20] Carr J P, Gal-On A, Palukaitis G P, et al. Replicase-mediated resistance to cucumber mosaic virus in transgenic plants involves suppression of both virus replication in the inoculated leaves and long-distance movement. *Virology*, 1994, **199**(2): 439~447.
- [21] Brederode F T, Taschner P E M, Posthumus E, et al. Replicase-mediated resistance to alfalfa mosaic virus. *Virology*, 1995, **207**(2): 467~474
- [22] Popenoe W. *Manual of tropical and subtropical fruits*. New York: Hafner Press, 1974. 225~269
- [23] Yasar K, Donald H J. Activities of several membrane and cell wall hydrolases, ethylene biosynthetic enzymes, and cell wall polyuronide degradation during low-temperature storage of intact and fresh-cut papaya (*Carica papaya*) fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 2003, **28**(2): 219~229
- [24] Paull R E, Gross K, Qiu Y X. Changes in papaya cell walls during fruit ripening. *Postharvest Biology and Technology*, 1999, **16**(1): 79~89
- [25] Fitch M M M, Manshardt R M, Gonsalves D, et al. Virus resistant papaya plants derived from tissues bombarded with coat protein gene of papaya ringspot virus. *Biotechnology*, 1992, **10**(11): 1466~1472

## 参考文献:

- [2] 刘传光, 林青山, 江奕君, 等. 转基因植物的生物安全问题探讨. *中国生态农业学报*, 2003, **11**(3): 175~177.
- [5] 周雪平, 李德保. 抗病毒基因工程与转基因植物释放的环境风险评估. *生命科学*, 2000, **12**(1): 4~7.
- [6] 贾士荣. 转基因植物食品中标记基因的安全性评价. *中国农业科学*, 1997, **30**(2): 1~15
- [7] 吕爱枝, 赵和, 王天宇, 等. 转基因小麦目标基因通过花粉漂流的可能性研究. *华北农学报*, 2002, **17**(3): 1~6
- [9] 张宝红, 郭腾龙. 转基因棉花基因花粉散布频率及距离的研究. *应用与环境生物学报*, 2000, **6**(1): 39~42
- [13] 叶长明, 陈谷, 黄俊潮, 等. 番木瓜环斑病毒复制酶基因的克隆和序列分析. *中山大学学报(自然科学版)*, 1996, **35**(6): 125~127.
- [15] 叶长明, 魏祥东, 陈东红, 等. 转基因番木瓜的抗病性及分子鉴定. *遗传*, 2003, **25**(2): 181~184
- [18] 郭兴启, 吕士恩, 朱常香, 等. 利用 RNA 介导的抗病性获得高度抗马铃薯 Y 病毒的转基因烟草. *植物病理学报*, 2001, **31**(4): 349~356