



转基因番木瓜生物育种现状与展望

贾瑞宗^{1,2*}, ZHU Yun Judy^{1,2}, 刘标^{2,3}, 郭安平^{1,2*}

1. 中国热带农业科学院热带生物技术研究所, 海口 571101;

2. 中国热带农业科学院三亚研究院/海南省南繁生物安全与分子育种重点实验室, 三亚 572011;

3. 生态环境部南京环境科学研究所, 南京 210042

* 联系人, E-mail: guoanping@itbb.org.cn; jiaruizong@itbb.org.cn

† 同等贡献

收稿日期: 2024-06-13; 接受日期: 2024-08-21; 网络版发表日期: 2024-10-09

海南省重点研发项目(批准号: ZDYF2022XDNY257, ZDYF2024XDNY179)和崖州湾科技城菁英人才项目(批准号: SCKJ-JYRC-2022-67, SCKJ-JYRC-2023-66, SCKJ-JYRC-2023-77)资助

摘要 转基因番木瓜于1998年被允许商业化生产, 是世界上第一例被允许商业化生产的热带水果, 目前已在多个国家广泛种植. 当前所有的转基因番木瓜主要是基于致病细菌衍生抗性原理, 通过RNA沉默途径, 使入侵的病毒不能够复制从而导致病毒的群体下降. 本文回顾了转基因番木瓜的研究进展, 并对转基因番木瓜抗病毒策略、遗传转化体系、功能基因挖掘、生物育种技术研发和转基因番木瓜生物安全评价进行了讨论. 本篇综述还重点分析了番木瓜生物安全的其他相关问题, 如异壳体化病毒、重组、合成、基因飘逸、对非靶标生物的影响、食品安全以及各种可能的致敏性等. 通过对这些问题的综述与探讨, 为开展我国具有自主知识产权的热带水果的生物育种提供理论支持

关键词 转基因, 番木瓜, 生物育种, 抗病毒

番木瓜(*Carica papaya* L.)起源于中南美洲北部, 通过加勒比海地区沿两条线路传播至美国的佛罗里达地区和非洲国家, 随后逐渐传播至印度、澳大利亚、马来西亚、菲律宾和美国的夏威夷地区. 中国主要分布于广东、海南、广西、云南、福建和台湾等地区. 番木瓜是世界上重要的热带水果之一, 仅次于香蕉、橙子和芒果. 在过去的50年的时间内由1百万吨/年增长到10百万吨/年. 种植面积由11万公顷增长到42多万公顷. 根据联合国粮农组织统计数据库(Food and Agriculture Organization Statistics, FAOSTAT)数据估计,

2021年全球番木瓜种植面积达到50万公顷, 产量达到1500万吨. 番木瓜具有丰富的营养价值与潜在的医疗价值, 深受大众喜爱. 它含有丰富的植物化学物质, 如黄酮类、植物类固醇、类胡萝卜素、生物碱、酚类化合物和氰化合物(苄基葡萄糖苷)^[1,2]. 番木瓜的种子和叶片中都含有蛋白质、膳食纤维、植物化学物质、抗氧化剂和矿物质, 果实中含有氨基酸、铁、钙等各类营养物质^[3]. 成熟的番木瓜果肉中富含维生素C, 常被制作成果脯、干果或罐头出售. 番木瓜的种子有着辛辣的味道, 可做食物制作中黑胡椒的替代品^[4]. 番木瓜

引用格式: 贾瑞宗, ZHU Yun Judy, 刘标, 等. 转基因番木瓜生物育种现状与展望. 中国科学: 生命科学, 2024, 54: 1863–1873

Jia R Z, Zhu Y J, Liu B, et al. Transgenic papaya breeding: current status and perspectives (in Chinese). Sci Sin Vitae, 2024, 54: 1863–1873, doi: 10.1360/SSV-2024-0246

籽富含赖氨酸, 与谷物搭配能起到很好的互补作用; 还富含30%的脂肪, 主要脂肪酸为油酸和不饱和脂肪酸, 具有较高保健价值. 青果(未成熟)的汁液中所含的木瓜蛋白酶、木瓜凝乳酶、木瓜肽酶等多种成分均有特殊的用途^[4].

番木瓜的主要病害是番木瓜环斑病毒(*Papaya ringspot virus*, PRSV)(图1, 表1). PRSV是单链正义RNA病毒, 属于马铃薯Y病毒科(*Potyviridae*)马铃薯Y病毒属(*Potyvirus*)的一个成员. PRSV病毒颗粒是短棒状, 长度760~800 nm左右, 直径约12 nm, 通过机械损伤或蚜虫在植物间传播. 番木瓜环斑病毒病的典型症状是叶片上出现黄化、叶脉透明化, 叶片形成斑点、叶片畸形, 叶片表面粗糙, 叶片面变窄, 叶柄和茎部会形成浸渍状条纹, 果实上形成典型的环状或者C-型的病斑^[5]. PRSV对番木瓜是系统性侵染, 受感染的植株失去活力, 发育不良, 叶片花叶, 果实产量下降、品质变差, 含糖量低, 果实出现环斑等^[6], 无法作为商品进行销售. 若番木瓜在尚未开花时受到严重的PRSV感染, 则基本无产量且大多数致死. 以美国夏威夷为例,

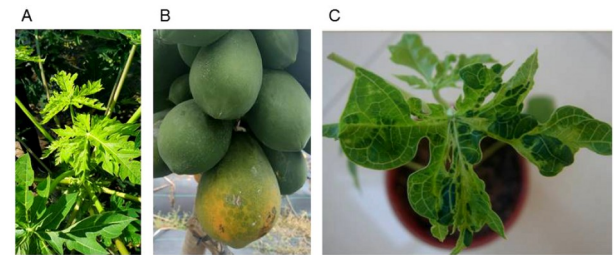


图1 番木瓜感染PRSV的症状. A: 番木瓜植株感染PRSV后期表现为幼叶黄化; B: 感染PRSV的番木瓜果实表面出现典型环斑; C: 番木瓜叶片感染PRSV后期表现为叶片畸形和深绿斑驳

Figure 1 Symptoms of papaya ringspot virus disease. A: papaya plants infected by PRSV with mosaic symptoms in younger leaves; B: papaya fruits from PRSV-infected plants with typical ringspots; C: PRSV-infected leaves with leaf deformity and dark green mottling

夏威夷95%的番木瓜是从Puna地区生产. 1992年首次在该地区发现PRSV, 两年之后PRSV大面积扩散, 使得整个Puna地区番木瓜几乎绝产^[5]. PRSV在我国台湾、海南、广东、广西、云南和福建等地区也广泛流行, 对番木瓜生产造成严重威胁, 导致番木瓜85%

表1 侵染番木瓜的主要病毒病

Table 1 Major papaya viral diseases

病毒	分类地位	病状	首次报道
番木瓜环斑病毒 (<i>Papaya ringspot virus</i> , PRSV)	马铃薯Y病毒属 (<i>Potyvirus</i>)	茎、嫩芽、嫩叶、叶脉及叶柄处有水渍状斑点, 叶片扭曲并有花叶症状, 果皮可观察到水渍状环斑	1949年, 美国 ^[5]
番木瓜畸叶嵌纹病毒 (<i>Papaya leaf-distortion mosaic virus</i> , PLDMV)	马铃薯Y病毒属 (<i>Potyvirus</i>)	植株矮化, 顶部嫩叶出现畸形皱缩、呈鸡爪状. 叶片结构破坏, 代谢失衡, 阻碍正常生长发育	1945年, 日本 ^[16]
番木瓜花叶病毒 (<i>Papaya mosaic virus</i> , PaMV)	马铃薯X病毒属 (<i>Potexvirus</i>)	叶片向下卷焉, 出现黄色花点或花叶现象, 植株矮缩	1962年, 美国 ^[17]
番木瓜卷叶病毒 (<i>Papaya leaf curl virus</i> , PaLCuV)	双生病毒属 (<i>Geminiviruses</i>)	叶片向下卷曲、起皱变形、叶柄扭曲呈锯齿状、出现发育不良变形症状	1930年, 印度 ^[18]
番木瓜下垂坏死病毒 (<i>Papaya droopy necrosis virus</i> , PDNV)	棒状病毒属 (<i>Rhabdoviruses</i>)	植株顶部叶片向下弯曲, 叶柄朝下弯拱且变短硬脆, 幼叶失绿	1981年, 美国 ^[19]
番木瓜顶端坏死病毒 (<i>Papaya apical necrosis virus</i> , PANV)	棒状病毒属 (<i>Rhabdoviruses</i>)	顶端叶片由外向内向下卷焉, 嫩叶白化, 叶柄变短且硬脆, 易落叶; 植株顶端叶片坏死, 导致整株死亡	1981年, 委内瑞拉 ^[20]
番木瓜坏死黄化病毒 (<i>Papaya lethal yellowing virus</i> , PLYV)	南方菜豆花叶病毒属 (<i>Sobemovirus</i>)	顶冠处叶片失绿变黄、卷焉而凋亡, 果实出现环斑且斑纹逐渐由绿变黄, 果肉品质差	1983年, 巴西 ^[21]
番木瓜僵直病毒 (<i>Papaya meleira virus</i> , PMeV)	未确定种属	嫩叶的顶端和边缘坏死; 乳汁粘性降低; 绿果表面渗出乳汁后乳汁的氧化使表面被染色和变黑; 果实表面呈不规则的瑕疵, 果实畸形, 肉质风味下降	1987年, 巴西 ^[22]
温和型番木瓜黄化病 (<i>Papaya mild yellow leaf virus</i> , PMYLV)	未确定种属	叶黄化、叶面积减小、脉明等症状	1993年, 委内瑞拉 ^[23]

~90%的减产^[7]。

PRSV对番木瓜产业造成了严重影响,但传统的害虫防治措施如交叉保护、田间综合管理、农药防治以及抗病育种都不能有效解决番木瓜环斑病毒病问题。在田间管理预防PRSV时,经常使用的方法包括:采用不同的种植安排和种植密度^[8],如通过种植玉米或高粱等作物作为屏障以保护番木瓜^[9];调整番木瓜移栽种植的季节,如在蚜虫媒介种群不活跃的时期种植。虽然在有些地区(如夏威夷)可以通过实施轮作计划抑制PRSV的传播,但对于没有地理隔离的地区或疾病已经流行的地区,轮作并不是一个永久的解决方案^[10]。农药防治控制传播的首选方法是使用杀虫剂防治蚜虫^[11]。该方法虽然可以延缓PRSV感染,但也存在几个缺点,例如有益昆虫、细菌的消失,以及有些害虫可以对多种药剂产生抗药性等。交叉保护可使番木瓜具有一定的抗性^[12],但交叉保护的关键前提是提供能有效保护目标病毒的稳定温和毒株^[10,12],使得植物系统感染温和的病毒株免受更致命的强毒菌株的侵害^[10]。研究表明,由于温和毒株和野生型毒株之间的差异,番木瓜交叉保护的度是可变的^[13]。来自夏威夷的温和的菌株在泰国东北部^[12]、墨西哥^[14]没有预期中的保护作用,因此交叉保护受限于其应用的地理区域。

防治病毒病害的最有效手段是培育抗性品种,但通过常规的育种手段进行抗病育种难度很大。番木瓜的抗病育种因缺乏具有抗性的番木瓜栽培品种,利用番木瓜野生资源又会产生杂交不亲和与不育型杂种后代,所以抗性资源较难采用传统常规的杂交方式转移到番木瓜栽培品种中^[15]。植物基因工程技术的快速崛起为病毒病的防治和抗病育种工作拓宽了渠道。基因工程有助于改善番木瓜的抗病能力与其他性状,基因工程技术已被用于开发具有抗番木瓜环斑病毒(PRSV)抗性的改良番木瓜品种^[5],转基因番木瓜也成为早期商业化种植的成功案例之一。

1 转基因抗病毒育种策略

1.1 致病菌衍生抗性策略

致病菌衍生抗性(Pathogen derived resistance, PDR)理论是指包含致病菌(病毒)基因或序列的转基因植物对同源或相关致病菌产生抗性。例如在烟草中表达黄瓜花叶病毒(CMV)的外壳蛋白基因能够显著增加

烟草CMV抗性^[24]。致病菌衍生抗性是通过转录后基因沉默(PTGS),引起特异降解入侵同源病毒和那些含有高同源序列的病毒,从而产生抗性表型^[25]。病毒全长和病毒结构基因,即CP、RNA依赖的RNA聚合酶(RdRp)、蛋白酶、运动蛋白、卫星核糖核酸、缺损干扰RNA和非编码区等,都成为用来产生致病菌衍生抗性的目标序列,目前越来越多的研究者选择这一策略来获得抗病材料(附表1)。

1.2 RNAi抗病毒策略

RNA干扰(RNAi)是表现在转录水平上的基因沉默。RNAi介导的抗性已被证实病毒防御反应中发挥作用,但RNA介导的病毒抗性受入侵病毒与引入的基因之间序列同源性的影响。目标mRNA的序列是决定siRNA效力的一个非常重要的因素,并可能在RISC中起到保持或丢弃引导链方面的重要作用^[26~28]。siRNA与其靶标之间的不匹配会影响靶标RNA的切割,减少干扰效应,甚至使siRNA失活^[29,30]。转基因和病毒之间相似性的阈值与抗性密切相关:Moreno等人(1998)发现,选择菌株之间同源性接近90%的区域对获得更广泛的抗性至关重要^[31];Nomura等人(2004)研究报告表明,序列同源性最低为86.6%^[32];Jones等人(1998)发现分离株之间89%的序列同源性是抗性的边界^[33];Xu等人(2009)表明,RNA介导的病毒抗性的广谱性一般局限于与引入的基因序列同源性约为90%的病毒株^[34]。此外,有研究表明小靶区的同源性,而不是整个序列的同源性,可能是病毒抗性的关键^[35]。

RNAi介导抗病毒方法在提高植物抗病性方面具有绝对的优势。第一,安全性高。由于目标序列并未表达产物,RNA介导的病毒抗性具有生物安全优势,且降低了转基因植株带来的风险^[36]。第二,特异性高。该方法不影响其他基因正常表达,只对同源dsRNA的mRNA进行降解并抑制其表达,而且这种抑制效应存在亚型特异性及种属特异性。第三,遗传性稳定。RNAi效应可终身保持并可遗传给子代,并符合孟德尔遗传定律。第四,保守性高。基因沉默现象广泛存在于绝大多数真核细胞中,且不改变基因组的遗传组成。虽然RNAi介导抗病毒技术在植物抗病方面的应用取得了重大的进展,但也存在一定的局限性,如多插入位点引起的突变体、遗传不稳定性等问题^[37]。

1.3 基因编辑抗病毒策略

随着基因编辑技术的发展, CRISPR-Cas13a已被证明对RNA病毒具有适度的干扰作用^[38]. CRISPR/LshCas13a系统在不同的植物物种(本氏烟草和拟南芥)中设计出对芜菁花叶病毒(TuMV)具有免疫力的转基因植物, 还证实被LshCas13a介导对RNA病毒的干扰作用, 尽管效率不高^[39]. 抗PRSV的CRISPR / FnCas9基因编辑载体在番木瓜叶片中显示了初步的病毒控制效果^[40]. 这种靶向DNA的CRISPR模式不容易靶向RNA分子, 从而限制了他们对RNA病毒的靶向干扰的适用性^[38]. CRISPR/Cas9基因编辑技术应用广泛且发展迅速, 但目前CRISPR/Cas9系统一些技术方面的问题仍有待进一步的完善优化和探讨, 针对特定DNA序列的挑战主要包括脱靶效应、靶位点选择的限制、编辑效率以及生物安全监管困难等.

2 转基因番木瓜抗病毒育种

2.1 夏威夷转基因番木瓜

夏威夷转基因番木瓜利用PRSV全长的外壳蛋白基因(Coat protein gene, CP), 以夏威夷PRSV病毒株HA5-1为模版, 在5'-端加入16个非编码密码子序列(保证整个外壳蛋白基因不能形成产物)^[15], 通过基因枪转入Sunset的脆性胚性愈伤并获得转基因阳性株系55-1和63-1. 其中55-1 (染色体型CP+)通过自交的方式获得纯合体SunUp (染色体型CP++)^[41], SunUp进一步和夏威夷本地品种Kapoho杂交, 形成商业化品种Rainbow番木瓜^[12].

转基因番木瓜商业化种植前需要通过美国动植物卫生检验局(Animal and Plant Health Inspection Service, APHIS)、美国环境保护署(Environmental Protection Agency, EPA)和美国食品药品监督管理局(Food and Drug Administration, FDA)审批, 并颁发商业生产的许可.

APHIS主要关注转基因番木瓜对环境的潜在风险, 如: (i)异壳体化: 入侵病毒和转基因植物表达的外壳蛋白进行病毒组装. 病毒无论被何种外壳蛋白所包裹, 其基因组DNA / RNA并没有改变, 因此病毒蛋白异壳体化并不能形成新的病毒, 也不会最终改变病毒的宿主范围. (ii)病毒重组: 转基因目标序列和入侵病

毒的重组. 前者可能导致不能传播的病毒变得可以传播, 后者则可能产生新病毒, 但目前为止还没有发现转CP基因的植物存在重组现象. (iii)基因漂移: 转基因向野生近缘番木瓜飘逸, 使得野生番木瓜变得杂草化. 由于番木瓜是独属独种, 因此不存在向野生番木瓜发生基因漂移的可能性^[42].

对于EPA而言, 转外壳蛋白基因就是一种农药, 因为它让植物获得了对PRSV病毒的抗病性. 而作为农药就需要验证对它(外壳蛋白基因)的耐受性. 通过对转基因番木瓜(外壳蛋白基因)和市场上其他番木瓜(绝大多数已被PRSV感染)进行比较试验显示, 转基因番木瓜中的外壳蛋白含量明显小于被PRSV感染的番木瓜, 同时在人们日常消费的果蔬里面都有可能还有某种病毒, 而且迄今为止没有实验证明外壳蛋白是过敏原或者影响人类健康.

FDA主要检测转基因番木瓜的食用安全. 经过一套完整的检测程序后, FDA也确认了转基因番木瓜及利用其制作的食物对人的健康没有危害, 而且某些品质如维生素含量并没有改变.

通过APHIS、EPA、FDA的监测之后, 转基因番木瓜于1998年4月获得商业化许可, 其商业化种植仅限于夏威夷州, 但鲜果或产品可以出口.

2.2 美国佛罗里达转基因番木瓜X17-2

佛罗里达州转基因番木瓜针对当地的优势PRSV株系H1K, 分别使用CP基因正义链(S-CP)、反义链(AS-CP)、以及对CP进行移码突变(在起始密码子ATG插入掉1个碱基“T”, FS-CP)、和在CP的基因起始密码子ATG后面连续引入三个终止密码子TAG TGA TAA (SC-CP)等四种方式构建植物表达载体并转入番木瓜中, 获得有抗性的转基因番木瓜植株. 其中S-CP表现的抗性最高, 对其自交R1进一步筛选最终获得高抗植株X17-2, 并用于生产应用^[43].

2.3 中国台湾转基因番木瓜抗两种病毒

中国台湾则利用当地优势PRSV-YK株系的CP基因全长和番木瓜畸叶嵌纹病毒(PLDMV)的PTW-WF株系部分外壳蛋白序列, 通过农杆菌转化法转入番木瓜中, 培育出双抗转基因番木瓜株系. 这个株系在不同温室条件下表现出良好的广谱抗性, 在田间实验中也表现出对PRSV和PLDMV的高抗病性^[44,45].

2.4 中国广州转基因番木瓜“华农1号”

中国广州的研究团队将PRSV的Ys株系的RP(Replicase protein)基因转入番木瓜中, 培育出“华农1号”。“华农1号”除了对于Ys株系表现为高抗以外, 对其他PRSV株系(Vb和Sm)抗性不明显^[46~48]。

2.5 中国海南转基因番木瓜474

通过对海南省番木瓜主要产区的PRSV株系进行评价, 海南研究团队获得了主要优势菌株, 并根据RNAi原理, 以CP、NIb、Hc-Pro等基因片段保守序列构建含正义链和反义链的RNAi发夹结构^[7], 获得转基因株系474。通过Southern Blotting试验, 确定其为单拷贝插入, 接种试验结果显示转基因株系474对海南PRSV Hainan I、II和III株系表现高抗^[49](表2)。

3 转基因番木瓜生物安全评价

转基因番木瓜按照实质等同的原则进行生物安全评价^[50]。

3.1 致敏性评价

从理论和实验数据上分析, 转化事件既没有导致新致敏蛋白, 也没有导致毒蛋白产生。分析转入的片段结果显示, 这些片段与致敏数据库里面任何致敏源的相似性都低于35%, 即理论上不可能产生新过敏蛋白^[51]。理论上将CP蛋白随机剪切为8个氨基酸左右的多肽, 也不会产生与已知过敏蛋白相似的蛋白。胃、肠液消化和热稳定性研究发现, CP蛋白很快在上述环境里降解。研究还发现, 人体对转基因和非转基因番木瓜的CP摄入量没有明显差别^[51]。

3.2 对果实成熟影响的评价

通过分析转基因 / 非转基因番木瓜成熟期的营养成分和反营养成分, 发现没有非预期效应(Unintended alterations)^[52]。通过对番木瓜与其非转基因对照进行营养成分的比较发现, 转基因番木瓜和非转基因番木瓜之间的36种营养成分, 在不同生长阶段均无差异。转基因番木瓜果在成熟早期表现出更高的番木瓜蛋白酶的水平, 但成熟后期差异不大。转基因番木瓜和非转基因番木瓜在果实成熟阶段异硫氰酸苄酯(BITC)含量非常低, 没有明显区别^[52]。

表 2 世界上主要商业化生产的转基因番木瓜^{a)}

Table 2 The major commercialized GM papayas^{a)}

转化事件	引入基因	获批国家及年份
55-1	<i>prsv_cp</i> (病毒外壳蛋白基因) <i>np11k</i> (新霉素抗性基因) <i>uidA</i> (β-葡萄糖苷酸酶基因)	美国, 1996年 日本, 2011年 加拿大, 2003年
63-1	<i>prsv_cp</i> (病毒外壳蛋白基因) <i>np11k</i> (新霉素抗性基因) <i>uidA</i> (β-葡萄糖苷酸酶基因)	美国, 1996年
Huanong No.1	<i>prsv_rep</i> (病毒复制酶基因)	中国, 2006年
X17-2	<i>prsv_cp</i> (病毒外壳蛋白基因) <i>np11k</i> (新霉素抗性基因)	美国, 2009年
YK1601*	<i>prsv_cp</i> (病毒外壳蛋白基因) <i>np11k</i> (新霉素抗性基因)	中国, 2018年

a) 数据来源ISAAA, www.isaaa.org. *: 2018年海南抗病转基因番木瓜获批在我国华南地区商业化应用

3.3 对靶标和非靶标生物影响的评价

对来自世界各地的PRSV的株系进行攻毒实验, 发现夏威夷转基因番木瓜的抗病范围取决于与外壳蛋白的序列相似性^[53]。对来自夏威夷的PRSV株系, 夏威夷转基因番木瓜表现100%抗病性; 对来自佛罗里达和墨西哥的PRSV只有10%感病, 而且症状很轻; 对来自牙买加的PRSV, 夏威夷转基因番木瓜表现为延迟发病时间, 但最终全部染病; 对来自泰国的PRSV几乎没有延迟、迅速发病^[13]。

4 与抗病毒转基因植物相关的潜在安全问题

在过去的二三十年中, 科学界和社会各界都对抗病毒转基因作物潜在的风险问题给予了极大关注。然而表达病毒基因不是转基因植物特有的, 感染病毒的非转基因植物也有病毒基因的产物。植物中的抗病毒是通过表达组成型病毒序列^[54~56]引发RNA沉默的抗病毒途径来实现的。常规植物不会出现表达病毒序列的情况, 除了少数感染了pararetroviruses 或PVY(马铃薯Y病毒)^[57]外。感染了这些病毒后, 部分或完整的病毒基因组会插入感染后的植物基因组。潜在的风险包括异源外壳包装, 重组、协同作用, 基因漂移, 对非靶标生物的影响, 以及在致敏性方面的食品安全问题等^[55,58,59]。

抗病毒转基因作物可能影响非靶标生物如昆虫媒介的多样性和种群结构, 但节肢动物的多样性和动态并没有受到显著影响^[60,61]。此外, 赋予转基因作物抗性的病毒基因可为土壤中的微生物, 如细菌或真菌, 提供在水平基因转移上的选择优势^[62], 但抗PRSV病毒的转基因番木瓜对土壤中的放线菌的总数和多样性没有显著影响^[61]。

在致敏性方面, 人们比较关注的是抗病毒转基因植物对人体健康的影响, 即在转基因植物中表达的病毒序列, 是否会编码有潜在过敏性质的蛋白质。其实人们长期食用非转基因植物有可能被病毒感染, 但是迄今为止未有发现过敏现象。同样用PRSV的弱毒株接种番木瓜获得“交叉保护”抗性而收获的番木瓜, 也没有任何不良影响的报道^[10]。

5 抗病毒转基因番木瓜的优势

5.1 转基因番木瓜有助于提高非转基因番木瓜种植业的经济效益

在美国夏威夷, 用抗病的转基因番木瓜替代易感性的非转基因番木瓜后, 大大降低了果园里PRSV的发生, 因而也使得在Puna岛种植非转基因番木瓜成为可能^[63]。转基因番木瓜可以作为非转基因番木瓜喂食携带PRSV蚜虫之前的“障碍带”^[63], 这样在较低的PRSV患病率条件下, 种植非转基因番木瓜的经济效益得到了很大的提升。

5.2 转基因番木瓜能够减少番木瓜的生产用地

转基因番木瓜在有病毒的土壤环境中也可以生长, 而种植非转基因番木瓜通常需要开辟新的土地, 因此转基因番木瓜的推广有助于减少开垦新的土地^[12]。这也是转基因番木瓜所带来的, 常常被忽视的环境效益, 因为在热带地区, 土地资源是有限的, 生物多样性是非常珍贵的。

5.3 转基因番木瓜有助于增加品种多样性

转基因番木瓜的推广增加了夏威夷番木瓜品种多样性^[12]。由于大面积种植转基因番木瓜“Rainbow”, 使得很多小规模种植非转基因番木瓜成为可能, 诸如“Kamiya” “Red lady” “Laie Gold”等等^[12]。

6 番木瓜生物技术育种展望

6.1 番木瓜成为热带作物生物育种的“模式植物”

番木瓜起源于中美洲的加勒比海沿岸, 而后传播到世界许多的热带和亚热带地区。人工驯化最终导致番木瓜营养生长和生殖生长发生重大改变, 从而使得野生种和栽培种区分开来^[64]。番木瓜是半木质、产乳胶、单茎直立、生长周期短的多年生草本植物^[60]。番木瓜具有早熟、生产周期短、叶片高光效、生长快速、产量和种子多等特点, 而且基因组较小, 并构成重要的基因库^[65]。番木瓜生长非常迅速, 从种子发芽到开花只需3-8个月, 9-15个月就能收获果实, 在任何给定的时间, 成年番木瓜可以同时营养生长、开花和结果等不同的生长阶段。这些特点使得番木瓜成为热带作物研究的模式植物^[66]。

6.2 番木瓜性别研究成为热点问题

番木瓜($2n=18$)三种不同性别的树(雄、雌、两性)是由性染色体决定的, 通过生物技术手段获得特定性别的番木瓜是番木瓜育种的重要方向。虽然番木瓜基因草图已经完成^[67], 但是番木瓜性别决定基因(Sex Determination Genes)还没有鉴定。雄性番木瓜树不能正常结果, 雌性番木瓜树虽然能够正常结果, 但是由于授粉不均匀或受到环境温度的影响导致果实发育不一致, 商品性差。因此番木瓜商业种植中全部采用两性树。传统番木瓜种植过程中通过一穴三株, 待开花后进行性别判断, 保留一株两性树而砍掉另外两株, 这样生产成本显著增加。

基因组预测确定番木瓜Y染色体雄性特异区(Male-specific region of the Y chromosome, MSY)位于番木瓜第一条染色体上^[68-71]。研究发现MSY有两种类型(大约都是8.1 Mb), 即雄性特异区(Y)和两性特异区(Yh)。与上述MSY相对应的则是雌性特异区(X, 3.5 Mb)^[69]。一些研究显示, 在一个小的特定区域的Y染色体可以控制雄株(Y)或雌雄同株(Yh)类型。雌株为XX类型。所有Y染色体和Yh染色体组合都是致命的, 因此雄株和雌雄同株的类型都是杂合体(分别是XY和XYh形式)^[71](图2)。

6.3 警惕番木瓜“次要病害”上升为“主要病害”的潜在风险

夏威夷转基因番木瓜成为转基因作物抗病毒病的

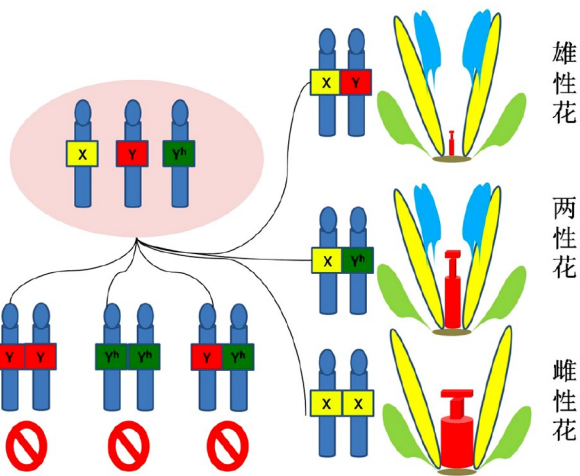


图2 番木瓜性别决定模型。番木瓜性别决定基因: Y 雄性, Y^h 两性, X 雌性; 番木瓜有雌性树(XX纯合体), 雄性树(XY杂合体)和两性树(XY^h 杂合体)。YY, YY^h , Y^hY^h 配子都是胚胎败育的

Figure 2 The sex determination of papaya. Three allelic genes: Y, Y^h , and X; Female trees are homozygotes (XX), while male trees (XY) and hermaphrodite trees (XY^h) are heterozygotes. The gametes of YY, YY^h , and Y^hY^h are lethal

一个成功的应用, 但是不能忽略的是由于大规模种植同质化(遗传背景一致)的品种, 导致原来的次要病害上升为主要病害的潜在风险。番木瓜根腐病是番木瓜生产中最主要的病害并且经常导致绝产^[72]。番木瓜的根腐病的主要病原物为棕榈疫霉(*Phytophthora palmivora*), 其典型症状是叶片黄化、茎叶萎蔫、根部腐烂。番木瓜缺乏抗病种质资源, 基因组测序结果表明番木瓜基因组中抗病基因(R gene)数量非常缺乏。与模式植物拟南芥相比, 番木瓜基因组(372 Mbp)是拟南芥的(145 Mbp)两倍多, 但是其抗病基因(54个)却是拟南芥抗病基因(174个)的三分之一^[72]。如何获得抗病品种是目前番木瓜产业的迫切需要, 也是生物学家和育种学家开展分子育种抗疫霉菌病的重要课题。

作为植物病害的重要致病菌, 疫霉菌已经造成了全球范围内的重大经济损失。植物防御素基因常常被用来转入植物体中提高作物对致病菌的抗病性。研究表明, 番木瓜中表达*Dahlia merckii*防御素DmAMP1和CpNPR1能够提高番木瓜的抗性^[73]。

6.4 番木瓜育种要由“生产者受益”向“消费者受益”转变

热带作物存在育种周期长、遗传背景复杂、个体高度杂合、基础研究薄弱和遗传转化体系有待完善等诸多瓶颈问题。近年来, 基因编辑技术在热带作物育种领域取得了显著的进展。这一技术为热带作物抗病、抗虫、抗逆等性状的改良提供了有力支持, 并有望在未来进一步提高热带作物的产量和品质^[74]。

当前的育种重点主要集中在提高产量和抗性等方面, 更多地关注了生产者的利益。然而, 随着消费者对于食品安全、营养价值和口感等方面的要求日益提高, 育种方向也逐渐从“生产者受益”向“消费者受益”转变^[75,76]。在“消费者受益”的育种方向下, 至少有四个方面的问题需要考虑: (i)首要的是食品安全问题。利用生物技术手段, 可以培育出抗病虫害能力更强、无需大量使用农药的热带作物品种。这些新品种的种植不仅可以降低农药残留、确保食品安全, 同时也能减轻对环境的污染, 符合现代消费者对绿色食品的需求。(ii)营养价值问题。消费者对食品的营养价值越来越重视, 因此, 通过生物技术手段提高热带作物的营养价值也是育种的重要方向。例如, 可以通过基因编辑或转基因技术, 增加作物中的维生素、矿物质等营养成分, 使消费者在食用这些作物时能够获得更多的营养。(iii)口感品质问题。目前消费者对食品的口感和品质也有很高的要求。利用生物技术手段, 可以培育出口感更好、品质更优的热带作物品种。例如, 通过调整作物的糖分、酸度等化学成分, 改善其口感; 或者通过优化作物的生长环境, 提高其外观品质。(iv)可持续性和环保问题。通过培育适应性强、生长周期短、资源利用效率高的热带作物品种, 可以减少对土地、水源等自然资源的过度消耗, 实现农业的可持续发展。同时, 这些新品种的种植也能减少对环境的破坏, 保护生态环境。

综上所述, 热带作物生物技术育种从“生产者受益”向“消费者受益”的转变是一个必然趋势。通过关注食品安全、提升营养价值、改良口感品质、实现个性化和多样化以及注重可持续性和环保等方面的育种工作, 可以更好地满足消费者的需求, 推动热带农业的健康发展。

参考文献

- Gao Q, Tan Q, Song Z, et al. Calcium chloride postharvest treatment delays the ripening and softening of papayafruit. J Food Proces Pres, 2020,

44: e14604

- 2 Wang D, Randhawa M S, Azam M, et al. Exogenous melatonin treatment reduces postharvest senescence and maintains the quality of papaya fruit during cold storage. [Front Plant Sci](#), 2022, 13: 1039373
- 3 Khor B K, Chear N J Y, Azizi J, et al. Chemical composition, antioxidant and cytoprotective potentials of *carica papaya* leaf extracts: a comparison of supercritical fluid and conventional extraction methods. [Molecules](#), 2021, 26: 1489
- 4 Dotto J M, Abihudi S A. Nutraceutical value of *Carica papaya*: A review. [Sci Afr](#), 2021, 13: e00933
- 5 Gonsalves D, Ferreira S, Manshardt R, et al. Transgenic virus resistant papaya: new hope for controlling papaya ringspot virus in hawaii. [Plant Health Prog](#), 2000, 1: 20
- 6 Tripathi S, Suzuki J Y, Ferreira S A, et al. *Papaya ringspot virus* -P: characteristics, pathogenicity, sequence variability and control. [Mol Plant Pathol](#), 2008, 9: 269–280
- 7 Zhao H, Jia R Z, Zhang Y L, et al. Geographical and genetic divergence among *papaya ringspot virus* populations within hainan province, China. [Phytopathology](#), 2016, 106: 937–944
- 8 Villanueva-Jiménez J A, Osorio-Acosta F, Hernández-Castro E, et al. Integrated management of papaya pests in Veracruz: *Papaya ringspot virus*, papaya mealybug and mites. [Acta Horti](#), 2019, 1250: 63–68
- 9 Dahunsi S O, Oranusi S, Efeovbokhan V E, et al. Crop performance and soil fertility improvement using organic fertilizer produced from valorization of *Carica papaya* fruit peel. [Sci Rep](#), 2021, 11: 4696
- 10 Yeh S D, Gonsalves D. Practices and perspective of control of Papaya ringspot virus by cross protection. in Harris K F eds. *Advances in Disease Vector Research*. New York: Springer, 1994. 237–257
- 11 Westwood J H, Stevens M. Resistance to aphid vectors of virusdisease. *Adv Virus Res*, 2010, 76: 179–210
- 12 Gonsalves D. Control of papaya ringspot virus in papaya: a case study. [Annu Rev Phytopathol](#), 1998, 36: 415–437
- 13 Tennant P F. Differential protection against papaya ringspot virus isolates in coat protein gene transgenic papaya and classically cross-protected papaya. [Phytopathology](#), 1994, 84: 1359–1366
- 14 García-Viera M A, Sánchez-Segura L, Chavez-Calvillo G, et al. Changes in leaf tissue of *Carica papaya* during single and mixed infections with *Papaya ringspot virus* and *Papaya mosaicvirus*. *Biol Plant*, 2018, 62: 173–180
- 15 Fitch M M M, Manshardt R M, Gonsalves D, et al. Virus resistant papaya plants derived from tissues bombarded with the coat protein gene of papaya ringspot virus. [Nat Biotechnol](#), 1992, 10: 1466–1472
- 16 Maoka T, Kawano S, Usugi T. Occurrence of the p strain of papaya ringspot virus in Japan.. [Jpn J Phytopathol](#), 1995, 61: 34–37
- 17 Shen W, Wang Y, Tuo D, et al. Agroinoculation of *Carica papaya* with infectious clones of papaya mosaic virus. [av](#), 2014, 58: 380–382
- 18 Soni S K, Mishra M K, Mishra M, et al. Papaya leaf curl virus (palcuv) infection on papaya (*carica papaya* L.) plants alters anatomical and physiological properties and reduces bioactive components. [Plants](#), 2022, 11: 579
- 19 Wan S, Conover R. A rhabdovirus associated with a new disease of Floridapapayas. *Proc Florida State Hort Soc*, 1981, 1: 319–321
- 20 Lastra R. Papaya apical necrosis, a new disease associated with a rhabdovirus. [Plant Dis](#), 1981, 65: 439
- 21 Lima R C A, Lima J A A, Souza Jr. M T, et al. Etiologia e estratégias de controle de viroses do mamoeiro no brasil. [Fitopatol bras](#), 2001, 26: 689–702
- 22 Maciel-Zambolim E, Kunieda-Alonso S, Matsuoka K, et al. Purification and some properties of Papaya meleira virus, a novel virus infecting papayas in Brazil. [Plant Pathol](#), 2003, 52: 389–394
- 23 Marys E, Carballo O, Izaguirre-Mayoral M L. Properties of a previously undescribed supercoiled filamentous virus infecting papaya in Venezuela. [Arch Virol](#), 1995, 140: 891–898
- 24 Shigetou N, Kaishu L, Gonsalves C, et al. Expression of the gene encoding the coat protein of cucumber mosaic virus (CMV) strain WL appears to provide protection to tobacco plants against infection by several different CMV strains. [Gene](#), 1991, 107: 181–188
- 25 Lindbo J A, Falk B W. The impact of “coat protein-mediated virus resistance” in applied plant pathology and basic research. [Phytopathology](#), 2017, 107: 624–634
- 26 Amarzguioui M, Prydz H. An algorithm for selection of functional siRNA sequences. [Biochem Biophys Res Commun](#), 2004, 316: 1050–1058
- 27 Hohjoh H. Enhancement of RNAi activity by improved siRNA duplexes. [FEBS Lett](#), 2004, 557: 193–198
- 28 Liao J Y, Yin J Q, Chen F, et al. A study on the fundamental factors determining the efficacy of siRNAs with high C/Gcontents. *Cell Mol Biol Lett*, 2008, 13: 283–302

- 29 Holen T. Positional effects of short interfering RNAs targeting the human coagulation trigger Tissue Factor. *Nucleic Acids Res*, 2002, 30: 1757–1766
- 30 Pusch O. Nucleotide sequence homology requirements of HIV-1-specific short hairpin RNA. *Nucleic Acids Res*, 2003, 31: 6444–6449
- 31 Moreno M, Bernal J J, Jiménez I, et al. Resistance in plants transformed with the P1 or P3 gene of tobacco vein mottling potyvirus. *J Gen Virol*, 1998, 79: 2819–2827
- 32 Nomura K, Ohshima K, Anai T, et al. RNA Silencing of the Introduced Coat Protein Gene of *Turnip mosaic virus* Confers Broad-Spectrum Resistance in Transgenic *Arabidopsis*. *Phytopathology*, 2004, 94: 730–736
- 33 Maule A J, Bean S J, Jones A L, et al. Specificity of resistance to pea seed-borne mosaic potyvirus in transgenic peas expressing the viral replicase (NIb) gene. *J Gen Virol*, 1998, 79: 3129–3137
- 34 Xu L, Song Y Z, Zhu J H, et al. Conserved sequences of replicase gene-mediated resistance to potyvirus through RNA silencing. *J Plant Biol*, 2009, 52: 550–559
- 35 Balmori-Melian E, MacDiarmid R M, Beck D L, et al. Sequence-, tissue-, and delivery-specific targeting of rna during post-transcriptional gene silencing. *Mol Plant Microbe Interact*, 2002, 15: 753–763
- 36 Lindbo J A, Dougherty W G. Plant pathology and RNAi: a brief history. *Annu Rev Phytopathol*, 2005, 43: 191–204
- 37 Wesley S V, Liu Q, Wielopolska A, et al. Custom knock-outs with hairpin RNA-mediated genesilencing [J]. *Methods Mol Biol*, 2003, 236: 273–286
- 38 Mahas A, Aman R, Mahfouz M. CRISPR-Cas13d mediates robust RNA virus interference in plants. *Genome Biol*, 2019, 20: 263
- 39 Aman R, Ali Z, Butt H, et al. RNA virus interference via CRISPR/Cas13a system in plants. *Genome Biol*, 2018, 19: 1
- 40 Wang X P, Zhao H, Jia R Z, et al. Construction of CRISPR/FnCas9 plant expression vectors with broad spectrum resistance to Hainan Papaya ringspot virus by golden gate (in Chinese). *Chin J Trop Crops*, 2018, 39: 955–962 [王绪朋, 赵辉, 贾瑞宗, 等. 用golden gate法构建广谱抗番木瓜环斑病毒海南株系的CRISPR/FnCas9植物表达载体. *热带作物学报*, 2018, 39: 955–962]
- 41 Ferreira S A, Pitz K Y, Manshardt R, et al. Virus coat protein transgenic papaya provides practical control of *papaya ringspot virus* in Hawaii. *Plant Dis*, 2002, 86: 101–105
- 42 Lobato-Gómez M, Hewitt S, Capell T, et al. Transgenic and genome-edited fruits: Background, constraints, benefits, and commercial opportunities. *Hortic Res*, 2021, 8: 166
- 43 Davis M J, Ying Z. Development of Papaya Breeding Lines with Transgenic Resistance to *Papaya ringspot virus*. *Plant Dis*, 2004, 88: 352–358
- 44 Tripathi S, Bau H, Chen L, et al. The ability of Papaya ringspot virus strains overcoming the transgenic resistance of papaya conferred by the coat protein gene is not correlated with higher degrees of sequence divergence from the transgene. *Eur J Plant Pathol*, 2004, 110: 871–882
- 45 Kung Y J, Bau H J, Wu Y L, 等. Generation of transgenic papaya with double resistance to *papaya ringspot virus* and *papaya leaf-distortion mosaic virus*. *Phytopathology*, 2009, 99: 1312–1320
- 46 Feng L X, Ruan X L, Zhou G H, et al. Evaluation of resistance to PRSV and selection of homogeneous line on the transgenic papaya plants (in Chinese). *J ZhongKai Univ Agric Technol*, 2005, 18: 12–15 [冯黎霞, 阮小蕾, 周国辉, 等. 转基因番木瓜抗病性测定和纯合系的获得. *仲恺农业工程学院学报*, 2005, 18: 12–15]
- 47 Ruan X L, Li P H, Zhou G H. Evaluation of PRSV resistance T2 transgenic papaya with replicase gene (in Chinese). *J South Chin Agric Univ*, 2004, 25: 13–16 [阮小蕾, 李华平, 周国辉. 转PRSV复制酶基因T2代番木瓜植株的抗病性测定. *华南农业大学学报*, 2004, 25: 13–16]
- 48 Rao X Q, Li P H. Construction of plant expression vector containing Papaya ringspot virus fusion gene (in Chinese). *J Huazhong Agric Univ*, 2005, 24: 325–329 [饶雪琴, 李华平. 番木瓜环斑病毒融合基因植物表达载体的构建. *华中农业大学学报*, 2005, 24: 325–329]
- 49 Jia R, Zhao H, Huang J, et al. Use of RNAi technology to develop a PRSV-resistant transgenic papaya. *Sci Rep*, 2017, 7: 12636
- 50 Fuchs M, Gonsalves D. Safety of virus-resistant transgenic plants two decades after their introduction: lessons from realistic field risk assessment studies. *Annu Rev Phytopathol*, 2007, 45: 173–202
- 51 Fermín G, Keith R C, Suzuki J Y, et al. Allergenicity assessment of the Papaya ringspot virus coat protein expressed in transgenic rainbowpapaya. *J Agric Food Chem*, 2011, 59: 10006–10012
- 52 Roberts M, Minott D A, Tennant P F, et al. Assessment of compositional changes during ripening of transgenic papaya modified for protection against papaya ringspot virus. *J Sci Food Agric*, 2008, 88: 1911–1920
- 53 Tennant P F. Differential protection against papaya ringspot virus isolates in coat protein gene transgenic papaya and classically cross-protected papaya. *Phytopathology*, 1994, 84: 1359–1366

- 54 De Zoeten G A. Risk assessment: Do we let history repeat itself? *Phytopathology*, 1991, 81: 585–586
- 55 Robinson D J. Environmental risk assessment of releases of transgenic plants containing virus-derived inserts. *Transgenic Res*, 1996, 5: 359–362
- 56 Hansen C N, Harper G, Heslop-Harrison J S. Characterisation of pararetrovirus-like sequences in the genome of potato (*Solanum tuberosum*). *Cytogenet Genome Res*, 2005, 110: 559–565
- 57 Tanne E, Sela I. Occurrence of a DNA sequence of a non-retro RNA virus in a host plant genome and its expression: Evidence for recombination between viral and host RNAs. *Virology*, 2005, 332: 614–622
- 58 Hammond J, Lecoq H, Raccach B. Epidemiological risks from mixed virus infections and transgenic plants expressing viral genes. *Adv Virus Res*, 1999, 54: 189–314
- 59 Stewart Jr C N, Halfhill M D, Warwick S I. Transgene introgression from genetically modified crops to their wild relatives. *Nat Rev Genet*, 2003, 4: 806–817
- 60 Capote N, Monzó ferrer C, Urbaneja A, et al. Risk assessment of the field release of transgenic european plums susceptible and resistant to *Plum pox virus*. *Inf Tec Econ Agrar*, 2007, 103: 156–167
- 61 Hsieh Y T, Pan T M. Influence of planting papaya ringspot virus resistant transgenic papaya on soil microbial biodiversity. *J Agric Food Chem*, 2006, 54: 130–137
- 62 Souza M T, Tennant P F, Gonsalves D. Influence of coat protein transgene copy number on resistance in transgenic line 63-1 against papaya ringspot virus isolates. *HortScience*, 2005, 40: 2083–2087
- 63 Suzuki J Y, Tripathi S, Fermín G A, et al. Characterization of insertion sites in rainbow papaya, the first commercialized transgenic fruit crop. *Tropical Plant Biol*, 2008, 1: 293–309
- 64 Dhekney S A, Litz R E, Moraga Amador D A, et al. Potential for introducing cold tolerance into papaya by transformation with C-repeat binding factor (CBF) genes. *In Vitro CellDevBiol-Plant*, 2007, 43: 195–202
- 65 Chávez-Pesqueira M, Suárez Montes P, Castillo G, et al. Habitat fragmentation threatens wild populations of *Carica papaya* (Caricaceae) in a lowlandrainforest. *Am J Bot*, 2014, 101: 1092–1101
- 66 Paterson A H, Felker P, Hubbell S P, et al. The fruits of tropical plant genomics. *Tropical Plant Biol*, 2008, 1: 3–19
- 67 Ming R, Hou S, Feng Y, et al. The draft genome of the transgenic tropical fruit tree papaya (*Carica papaya* Linnaeus). *Nature*, 2008, 452: 991–996
- 68 Ming R, Yu Q, Moore P H. Sex determination in papaya. *Semin Cell Dev Biol*, 2007, 18: 401–408
- 69 Ávila-Hernández J G, Cárdenas-Aquino M D R, Camas-Reyes A, et al. Sex determination in papaya: Current status and perspectives. *Plant Sci*, 2023, 335: 111814
- 70 Zhou P, Zhang X, Ma X, et al. Methylation related genes affect sex differentiation in dioecious and gynodioecious papaya. *Horticulture Res*, 2022, 9: uhab065
- 71 Ming R, Moore P H. Genomics of sex chromosomes. *Curr Opin Plant Biol*, 2007, 10: 123–130
- 72 Porter B W, Zhu Y J, Christopher D A. *Carica papaya* Genes Regulated by *Phytophthora palmivora*: A Model System for Genomic Studies of Compatible Phytophthora-plant Interactions. *Tropical Plant Biol*, 2009, 2: 84–97
- 73 Zhu Y J, Agbayani R, Moore P H. Ectopic expression of *Dahlia merckii* defensin DmAMP1 improves papaya resistance to *Phytophthora palmivora* by reducing pathogen vigor. *Planta*, 2007, 226: 87–97
- 74 Elias M J, Hasley J, Tian M, et al. Development of a mesophyll protoplast-Based system for gene editing of papaya. *In Vitro CellDevBiol-Plant*, 2023, 59: 517–535
- 75 Sandhu H, Scialabba N E H, Warner C, et al. Evaluating the holistic costs and benefits of corn production systems in Minnesota, US. *Sci Rep*, 2020, 10: 3922
- 76 Khaipho-Burch M, Cooper M, Crossa J, et al. Genetic modification can improve crop yields — but stop overselling it. *Nature*, 2023, 621: 470–473

Transgenic papaya breeding: current status and perspectives

JIA RuiZong^{1,2}, ZHU Yun Judy^{1,2}, LIU Biao^{2,3} & GUO AnPing^{1,2}

1 National Key Laboratory for Tropical Crop Breeding, Institute of Tropical Bioscience and Biotechnology, Chinese Academy of Tropical Agriculture Sciences, Haikou 571101, China;

2 Hainan Key Laboratory for Biosafety Monitoring and Molecular Breeding in Off-Season Reproduction Regions, Sanya Research Institution, Chinese Academy of Tropical Agriculture Sciences, Sanya 572011, China;

3 Nanjing Institute of Environmental Sciences of the Ministry of Ecology and Environment of People's Republic of China, Nanjing 210042, China

Transgenic papaya is commercialized in 1998, which is the first commercialized tropical fruit in the world. At present, all transgenic papaya is generated based on the principle of Pathogen Derived Resistance (PDR), i.e., the antiviral RNA silencing pathway is initiated by constitutive expression of a portion of the gene that encodes virus coat protein, which prevents the invading virus from replicating and leads to a decline in the virus population. We reviewed the research progress of genetically modified papaya, and discussed the antiviral strategies, genetic transformation system, functional gene mining, research and development of papaya biological breeding technology, and biosafety evaluation of genetically modified papaya. This article also focuses on biosafety issues, such as heterozygous viruses, recombination, synthesis, gene drifting, impact on non-target organisms, food safety, and various allergenic issues, which will provide theoretical support for tropical fruit breeding.

genetically modified papaya, biosafety assessment, virus resistance breeding, papaya ringspot virus

doi: [10.1360/SSV-2024-0246](https://doi.org/10.1360/SSV-2024-0246)