

# 甜瓜基因工程研究进展

庞晓虹, 陈 磊, 刘宏宇

(东北农业大学 园艺学院, 黑龙江 哈尔滨 150030)

**摘 要:**概述了甜瓜组织培养的研究现状以及甜瓜遗传转化的研究进展。同时展望了甜瓜遗传转化的前景。

**关键词:**甜瓜; 组织培养; 遗传转化

**中图分类号:**S 652.03.6 **文献标识码:**A **文章编号:**1001--0009(2008)12--0071--05

甜瓜作为葫芦科植物中的一种重要的园艺作物,是全世界普遍栽培的重要水果,具有较高的商品价值和经济价值。随着植物细胞工程和基因工程技术的迅速发展,应用组织培养、基因转化等技术手段进行甜瓜品质改良、提高抗逆性、创造新种质,已成为甜瓜育种快速有效的新方法。甜瓜基因工程是利用分子克隆技术,分离、提取或人工合成具有抗病、抗虫、提高品质等某一特性的基因片段,并利用根癌农杆菌介导或基因枪等技术转入甜瓜植株,可获得前所未有的甜瓜新种质,这是进行甜瓜遗传育种、品种改良,拓宽种质资源范围的一条有效途径。目前,转基因甜瓜研究主要集中在抗病、抗虫与提高果实品质和控制果实成熟等方面,现就上述研究做一综述。

## 1 甜瓜组织培养研究进展

随着基因工程技术在农作物育种中的研究与应用,甜瓜组织培养技术的开展为分子育种奠定了良好的基础。建立高效的甜瓜再生体系是甜瓜基因工程中的关键性基础工作。甜瓜组织培养工作起步较晚,自唐定台等<sup>[1]</sup>首次报道了植物激素在甜瓜再生过程起作用之后,有关甜瓜的组织培养的报道相继出现。Dirks等<sup>[2]</sup>通过真叶、侯喜林等<sup>[3]</sup>通过下胚轴、马国斌等<sup>[4]</sup>通过生长点、尹俊等<sup>[5]</sup>通过胚、钟俐等<sup>[6]</sup>通过子叶节、于喜艳等<sup>[7]</sup>通过子叶等多种外植体方式获得甜瓜再生植株。甜瓜组织培养过程中受到的影响因素很多,主要如下。

### 1.1 外植体基因型

基因型对甜瓜不定芽发生和植株再生具有决定性作用,选择不同甜瓜品种进行组织培养研究,外植体基

因型差异对再生率影响明显,繁殖系数差异较大。主要表现在不同品种间不定芽的发生和植株再生能力的不同。于为常等<sup>[8]</sup>研究证明,S-24 和网纹香两甜瓜品种各种外植体中内源 IAA 含量很高,超过一般植物的数倍,并以胚轴中含量最高而且愈伤组织中的 IAA 的含量超过各种外植体,这可能是导致不同品种甜瓜外植体不定芽诱导效果不同及愈伤组织不易分化的缘故。根据资料显示,甜瓜组织培养过程中不定芽发生能力是一种受基因型控制的数量性状,并有可能存在基因间的互补作用。蔡润等<sup>[9]</sup>对引进杂交种和农家品种进行的子叶培养结果表明,杂交种的不定芽诱导率高于当地品种。于喜艳等<sup>[10]</sup>研究表明,薄皮甜瓜较厚皮甜瓜再生能力强。由此可见,基因型对甜瓜再生影响很大。

### 1.2 外植体部位及苗龄

在甜瓜外植体诱导不定芽的过程中,除材料基因型的显著影响外,外植体本身是一个重要影响因素,不同基因型品种的幼嫩子叶都可得到较高频率的再生不定芽,而真叶、胚轴、茎尖等部位再生频率很低,甚至不能再生。邓向东等<sup>[11]</sup>研究了 S-24 和网纹香品种不定芽诱导率由高到低的顺序为子叶柄>子叶>茎尖>真叶,而胚轴和胚根不能诱导不定芽。马国斌等<sup>[12]</sup>研究认为未成熟子叶是甜瓜离体培养的最佳外植体,不仅再生能力强,不定芽分化率高,而且对培养基适应性也较强。幼态的幼苗子叶和真叶也是离体培养的适宜外植体。Leshem,Compton 等<sup>[12-14]</sup>均认为同一外植体的不同部位组织的再生能力表现出很大差异,即表现出明显的极性现象,甜瓜子叶的近轴端和远轴端在诱导过程中的表现不同,不定芽的出现总在近轴端切口部位产生。

另外,无菌苗子叶的苗龄也是其能否分化诱导成功的决定因素,苗龄决定着外植体的生理不同状态,对不同甜瓜品种的子叶进行分化诱导时,选择的苗龄不完全一致。王春霞等<sup>[15]</sup>报道,培养 2 日龄无菌苗子叶出芽率最高,当苗龄增加时,芽的分化率迅速降低,任春梅<sup>[16]</sup>认为苗龄超过 10 d 的子叶几乎不能诱导不定芽分化。在

第一作者简介:庞晓虹(1981-),女,硕士,研究方向为蔬菜分子育种。

通讯作者:刘宏宇。E-mail:hyliu@neau.edu.cn。

基金项目:黑龙江省科技攻关资助项目(GB05B105);黑龙江省青年基金资助项目(QC05C57)。

收稿日期:2008-08-12

甜瓜子叶的培养中,一般采用培养 4~5 日龄无菌苗子叶作为外植体。

### 1.3 培养基

诱导甜瓜不定芽时,各研究者所采用的基本培养基有所不同。MS 被大多数的研究者采用。唐定台等<sup>[1]</sup>、赵家英等<sup>[17]</sup>使用 Miller 培养基,Niedz 等<sup>[18]</sup>、Adelberg 等<sup>[19]</sup>和 Fang 等<sup>[20]</sup>人使用改良后的 MS 培养基;Fassuliotis 等<sup>[21]</sup>则用 MS+B<sub>5</sub> 有机培养基。

### 1.4 激素

生长调节剂种类及其配比是影响植物细胞脱分化和再分化的关键因素之一,植物激素种类及其配合在不同的研究报告中,其组培效应不尽相符,大多数学者认为一定浓度的 6-BA 是诱导甜瓜外植体分化的关键,Zarka<sup>[22]</sup>认为附加低浓度的生长素则有利于这种分化的发生。邓向东等<sup>[11]</sup>试验证明,6-BA 诱导效果最好,其最适浓度为 0.5 mg/L,低于 0.1 mg/L 和高于 1.0 mg/L 时均不能产生不定芽。陶兴林等<sup>[23]</sup>认为在 6-BA 2.0 mg/L、1.0 mg/L 的分化培养基上培养,不定芽诱导率均为 100%,随 6-BA 浓度提高,外植体玻璃化、褐化程度加重。大量研究表明,6-BA 对甜瓜不定芽的诱导分化具有重要作用,但由于基因型差异的影响,对不同甜瓜品种进行离体诱导分化时,应设置不同的浓度梯度,筛选适宜的浓度范围,与生长素进行配比,提高再生率。

而生长素类物质的需求,一些研究者认为培养基中加入 IAA 等生长素类激素会促进不定芽的形成,而 Niedz<sup>[18]</sup>、Dong<sup>[24]</sup>则认为加入 IAA、NAA 等加重了外植体上的愈伤化程度而不利于不定芽的形成,这可能由于甜瓜本身的内源生长素的含量比较高,而不需要人为添加,如果添加,就会引起愈伤组织的发生,不利于不定芽的诱导,也可能与甜瓜各品种中 IAA 含量不同有一定的关系。

### 1.5 其他因素

甜瓜离体培养过程影响因素很多,Zamora 等<sup>[25]</sup>认为光照条件下诱导率最高;Choi 等<sup>[26]</sup>认为每天 16 h 的光照,对于不定芽的诱导是必须的;Compton<sup>[27]</sup>则认为幼苗事先进行暗处理可以提高子叶外植体不定芽的诱导率,但对于不同品种效果不同。另外,外植体大小、种子纯度、切取放置方向、继代时间间隔等均可影响到诱导分化率。

## 2 甜瓜遗传转化研究进展

经过长期育种工作和生产实践,甜瓜育种学家已培育出适合不同地区种植的各具特色的优良品种或类型。而目前,甜瓜育种的一个主要目标是一方面要求甜瓜品种具有优良的农艺性状,另一方面也要求它同时具有抗多种病虫害和单性结实等特殊性状。但是,由于种间和属间水平的严格的生殖障碍限制了常规育种手段的应

用,近 20 年来,随着植物转基因技术的迅速发展,为克服天然遗传屏障快速培育甜瓜新品种展示了美好前景。

### 2.1 甜瓜转基因技术

植物遗传转化是植物基因工程的重要环节之一。经过近 20 年的研究,目前已建立了 10 余种基因转化方法,其中农杆菌介导法是研究最清楚、应用最成功的一种。在已经获得成功的 200 多种转基因植物中,约有 80% 是农杆菌介导转化的。农杆菌转化方法有着明显的优势:成功率高,效果好;转移的外源基因常为单拷贝整合,很少发生甲基化和转基因沉默,遗传稳定,而且多数符合孟德尔遗传定律;费用低,方法简单,易操作。农杆菌介导法已应用于甜瓜遗传转化的研究,并建立了甜瓜子叶农杆菌介导法的遗传转化体系。

此外,基因枪转化技术也有许多成功的报道。基因枪法是 1987 年美国康奈尔大学 Sanford 等人最先提出的基因遗传转化技术,它的转化原理是借高速运动的金属微粒将附着于表面的核酸分子引入到受体细胞的一种遗传物质导入技术,由于外源基因可被导入到任何微弹能穿透的细胞或组织,因此,凡具备再生能力的细胞或组织都可作为遗传转化的受体。

迄今,除上述两种遗传转化方法外还发展了多种 DNA 直接转化法,如原生质体电击穿孔法、PEG 法和微孔注射法、超声波导入技术、激光导入技术、病毒介导转化法、花粉管通道法、脂质体介导转化法以及低能等离子束法等。

### 2.2 甜瓜转基因研究

1983 年世界上第一例转基因烟草问世,揭开了转基因植物的序幕。利用基因工程进行甜瓜性状改良工作起步较晚,研究开始于 20 世纪 80 年代末 90 年代初。自从 1990 年 Michigan 州立大学的 Fang 和 Grumet<sup>[20]</sup>首次报道了利用根癌农杆菌成功地将 NPTII 基因(抗卡那霉素基因)导入甜瓜品种以来,基因工程技术已成为甜瓜遗传改良的一个重要而有效的技术手段,到目前为止,已有多种基因导入到甜瓜品种,转基因甜瓜研究主要集中在抗病、抗虫与提高果实品质和控制果实成熟等方面,相关报道见表 1。

**2.2.1 抗病基因的转入** 在自然条件下,至少有 25 种病毒引起甜瓜的病害。其中,黄瓜花叶病毒(CMV),西葫芦黄化花叶病毒(ZYMV)和西瓜花叶病毒 2(WMV2)分布最广泛。这些病毒的侵染影响植株发育,导致畸形果,甚至不结果。传统的育种技术可选育甜瓜抗性植株,但目前可作商业用抗性品种很少。用栽培措施或喷施杀虫剂或矿物油的方法控制昆虫介体效果甚微。利用病毒外壳蛋白基因转入植物,获得抗病毒材料,是当前转基因甜瓜研究与利用中,应用较早和技术较为成熟的方法,也被认为是最有应用潜力的途径之一。在抗病

毒方面比较成功的报道主要有:Yoshioka<sup>[28]</sup>等首次报道了利用根癌农杆菌将黄瓜花叶病毒外壳蛋白基因(CMV-CP)成功地转入甜瓜;Fang等<sup>[29]</sup>将西葫芦花叶病毒(ZYMV)CP基因用农杆菌介导法转入甜瓜后,其转基因植株表现出对ZYMV的抗性;Gonsalves<sup>[30]</sup>等利用根癌农杆菌和基因枪成功地将黄瓜花叶病毒白叶株系(CMV-WL)的外壳蛋白基因转入甜瓜品种,其转基因植株表现出对CMV-FNY株系病毒的抗性;孙严<sup>[31]</sup>等用农杆菌介导法将CMV-CP基因导入新疆甜瓜“新红心脆”等5个品种,并获得了转基因植株的果实,对R1代植株

进行抗病性鉴定,表明转基因植株对CMV具有较强的抗性;薛宝娣<sup>[32]</sup>等报道用农杆菌介导法将CMV-CP基因导入美国甜瓜Hales Best Jumbo品种中,获得了抗病毒植株;王慧中<sup>[33]</sup>等利用甜瓜组织培养和农杆菌转化技术相结合将西瓜花叶病毒1号外壳蛋白基因(WMV-1CP)和西瓜花叶病毒2号外壳蛋白基因(WMV-2CP)分别转入甜瓜,获得了转基因甜瓜植株,攻毒试验表明,转基因植株可以推迟发病时间,减轻发病程度,表现出对WMV-CP具有较强的抗性。

表 1

通过转基因获得的甜瓜植株

表型特性	转基因	外植体形态发生途径	转化方法	参考文献	
抗病毒	CMV-cp	成熟子叶	农杆菌介导法	Yoshioka, et al. [28]	
	ZYMV-cp	生长 4~5 d 的子叶		Fang and Grumet [29]	
	CMV-cp	生长 3 d 的子叶		Gonsalves, et al. [30]	
	CMV-cp	子叶		孙严等 [31]	
	ZYMV-cp, WMV-cp, CMV-cp	叶片		Clough and Hamm [42]	
	CMV-cp	生长 2 d 的子叶		薛宝娣 [32]	
	WMV-2-cp	子叶切段		王慧中等 [33]	
	Ribozyme 基因	生长 0~4 d 的子叶		Huttner, et al. [43]	
	抗蚜虫	GNA 基因		生长 4 d 的子叶	钟俐 [34]
		ACA 基因		生长 5~6 d 的子叶和下胚轴	姜瑛 [35]
改善水果品质	甜瓜反义 ACC 氧化酶基因	生长 5 d 的子叶	花粉管通道法	Ayub, et al. [36]	
	反义 ACC 合成酶基因	NR		Ezura, et al. [44]	
	SAM 水解酶基因	NR		Clendennen, et al. [45]	
	番茄反义 ACC 合成酶基因	生长 5 d 的子叶		李天然, 等 [37]	
	甜瓜反义 ACO 基因	生长 10 d 的真叶		Guis, et al. [46]	
	SAM 水解酶基因	NR		Shellie [47]	
	ACC 脱氨酶基因	生长 8 d 的子叶		张智俊, 等 [38]	
	甜瓜反义 ACC 氧化酶基因	生长 2 d 的子叶		Nunez-Palenius, et al. [39]	
	苹果反义 ACC 氧化酶基因	NR		Silva, et al. [48]	
	ACC 合成酶、ACC 氧化酶	NR		哈斯阿古拉 [48]	
耐盐性	HAL 1	生长 7 d 子叶和 2 周的叶片	农杆菌介导法	Bordas, et al. [40]	

2.2.2 抗虫基因的转入 目前用于蔬菜抗虫性改良的主要有微生物源的苏云金杆菌杀虫结晶蛋白基因(Bt 基因)和植物源的昆虫蛋白酶抑制剂(PI)的基因以及植物凝集素基因。研究表明,多种植物凝集素具有抗虫活性。GNA 能特异性抑制蚜虫一类的吸汁性害虫,对咀嚼式害虫(如鳞翅目和双翅目害虫)有中等毒性,对刺吸式口器的吸汁性害虫,如蚜虫、褐飞虱、叶蝉等同翅目害虫以及线虫有明显抗虫性。钟俐<sup>[34]</sup>获得的 GNA 再生转化甜瓜植株表现出一定的抗蚜特性。姜瑛<sup>[35]</sup>获得的 ACA 基因转化甜瓜植株中,对蚜虫密度有明显的抑制作用。

2.2.3 耐贮藏基因的转入 甜瓜果实不耐贮运,货架期相对较短,使得其商品性和贮运性大大降低。增加耐贮性、延长货架期是目前植物基因工程的热点研究领域。研究表明,果实成熟与乙烯密切相关。ACC 氧化酶(ACO)、ACC 合成酶(ACS)和 ACC 脱氨酶是调控乙烯生物合成的 3 个主要位点,抑制 ACO、ACS 的活性或促进 ACC 脱氨酶的活性可以有效抑制乙烯的生物合成,从而达到果实延熟和耐贮藏的目的。Ayub<sup>[36]</sup>等首次将

反义 ACC 氧化酶基因转入 Charentais 甜瓜,果实采前和采后乙烯产生仅为对照的 1%、证实乙烯的产生被阻断,延长了货架期和改善了品质;李天然等将番茄 ACC 合成酶基因转入河套蜜瓜,获得转化的植株经分子杂交证明,目的基因已整合入河套蜜瓜基因组中;张智俊<sup>[38]</sup>等利用农杆菌介导法将 ACC 脱氨酶基因转入哈密瓜和白兰都获得了转基因植株,经过检测证明,ACC 脱氨酶基因已经整合入哈密瓜和白兰瓜的基因组中;Nunez-Palenius<sup>[39]</sup>等在“Galia”甜瓜中转入了反义 ACC 氧化酶基因后,果肉中 ACC 氧化酶活性和果肉乙烯合成量显著降低,其中 ACC 氧化酶活性降低了 187 倍,乙烯含量较对照降低了 99%;内蒙古大学的哈斯阿古拉<sup>[40]</sup>应用花粉管通道法转基因技术,分别将 ACC 合成酶反义基因和 ACC 氧化酶反义基因导入河套蜜瓜,经过多年多代选育,获得转基因耐贮藏河套蜜瓜高代新品系,该品系的果实在常温下可贮藏 60 d 以上,为普通品种的 6 倍以上,果实发育期比普通品种显著延长。

2.2.4 抗逆性基因的转入 在甜瓜生长发育过程中可

能遇到各种类型的逆境,如高盐、干旱、涝渍、高温、冷害和冻害等等,对其产量和品种的影响很大。因此提高对逆境的抵抗能力具有非常重要的意义。西班牙的 Bordas 等<sup>[41]</sup>将从酵母菌中获得的 HAL1 耐盐基因转入到甜瓜品种中,并获得了转化植株,转化植株较对照表现出一定的耐盐性。综上所述,随着甜瓜转基因研究的发展,创造了许多基因型,显示了基因工程在蔬菜品种改良应用的广阔前景。

### 3 前景展望

甜瓜具有较高的经济价值,利用基因工程方法改良甜瓜品质是甜瓜育种的新增长点。随着甜瓜遗传转化体系的建立和完善,甜瓜有益农艺性状基因的不断发现和克隆,在抗病育种、种质创新与抗病品种选育上,利用常规育种为主结合分子育种为辅,采用外源 DNA 直接导入技术可打破远缘物种间的遗传隔离,将抗病基因转入到甜瓜上来。随着研究者的不懈探索努力和分子生物学的发展,植物基因工程技术必将为甜瓜遗传育种开辟一条崭新的途径,取得更好的成果,这也符合人类日益认识到其迫切性与重要性的环保的要求。

#### 参考文献

- [1] 唐定台,张静兰,徐桂芳,等. 植物激素对哈密瓜子叶形成愈伤组织和植株再生的作用[J]. 植物学报,1980,22(2):132-135.
- [2] Dirks R, Van Buggenum M. In vitro plant regeneration from leaf and cotyledon explants of *Cucumis melo* L[J]. Plant Cell Rep, 1989(7):626-627.
- [3] 侯喜林. 网纹瓜生长点、子叶、下胚轴离体培养初试[J]. 江苏农业科学,1989(7):29-31.
- [4] 马国斌,王鸣,郑学勤. 甜瓜组织培养再生体系的比较研究[J]. 中国西瓜甜瓜,1999(2):2-6.
- [5] 尹俊,徐妙石,贾小平,等. 河套蜜瓜胚发生及植株再生的研究[J]. 园艺学报,2000,27(6):455-457.
- [6] 钟俐,钟伶. 新疆优质甜瓜高效离体再生体系的建立[J]. 新疆农业大学学报,2002(1):31-34.
- [7] 于喜艳,何奇伟,孔庆国. 甜瓜子叶组织培养的研究[J]. 山东农业科学,2002(2):22-23.
- [8] 于为常. 哈密瓜内源激素 IAA 的测定[R]. 中国科学院遗传研究所研究工作年报,1990:40-41.
- [9] 蔡润,俞虹. 甜瓜种苗克隆[J]. 上海交通大学学报,2000,34(11):1586-1590.
- [10] 于喜艳,孔庆国. “伊丽莎白”甜瓜子叶组织培养研究[J]. 天津农业科学,2002(3):55-56.
- [11] 邓向东,耿玉轩. 外植体和培养因子对哈密瓜不定芽诱导的影响[J]. 园艺学报,1996,23(1):57-61.
- [12] 马国斌,王鸣,郑学勤. 西瓜和甜瓜组织培养中外植体的极性现象和敏感部位[J]. 中国蔬菜,1999(5):40-41.
- [13] Leshem B. Polarity and responsive regions for regeneration in cultured melon cotyledon[J]. Journal of Plant Physiology,1989,135(2):237-239.
- [14] Compton M E, Gray D J, Elmstrom G W. A simple protocol for micro-propagating diploid and tetraploid watermelon using shoot-tip explants[J]. Plant Cell Tissue and Organ Culture,1993,33(2):211-217.
- [15] 王春霞,简志英,刘愚,等. 京农1号西瓜子叶组织培养的研究[J]. 园艺学报,1996,23(4):401-403.
- [16] 任春梅,董延瑜,洪亚辉,等. 基因枪介导的西瓜遗传转化研究[J]. 海南农业学报,2000,26(6):432-435.
- [17] 赵家英,田波. 抗西瓜花叶病毒-2的哈密瓜愈伤组织无性繁殖系[J]. 微生物学报,1985,25(1):86-89.
- [18] Niedz R P, Smith S S, Dunbar K V, et al. Factors affecting shoot regeneration from cotyledonary explants of *Cucumis melo*[J]. Plant Cell Tiss, 1989,18(3):313-319.
- [19] Adelberg J W, Rhodes B B, Skorapska H T. Generating tetraploid melons in tissue culture[J]. Acta Horticulturae,1993,336:373-380.
- [20] Fang G W, Grumet G. Agrobacterium tumefaciens mediated transformation and regeneration of muskmelon plants[J]. Plant Cell Rep,1990(9):160-164.
- [21] Fassuliotis G, Nelson B V. Regeneration of Tetraploid Muskmelons from Cotyledons and Their Morphological Differences from two Diploid Muskmelon Genotypes[J]. Journal of the American Society for Horticultural Science, 1992,117(5):863-866.
- [22] Zarka V, Velich I, Bisztray G. In vitro regeneration from cotyledons of watermelon[J]. Horticultural Science,2000,6(4):96-98.
- [23] 陶兴林,黄水红,陆璐,等. 2个甜瓜品种高效再生体系的建立[J]. 西北植物学报,2005,25(4):806-811.
- [24] Dong J Z, Yang M Z, Jia S R, et al. Transformation of melon (*Cucumis melo* L.) and expression from the cauliflower mosaic virus 35S promoter in transgenic melon plants[J]. Bio/Technology, 1991,9:858-863.
- [25] Zamora C V. Tissue culture of *Citrullus lanatus* (Thunb.), The application of tissue culture techniques in economically important tropical trees[J]. Plant Syst Evol,1988:187-195.
- [26] Choi P S, Soh W Y, Kim Y S. Genetic transformation and plant regeneration of water-melon using *Agrobacterium tumefaciens*[J]. Plant Cell Rep, 1994(13):334-348.
- [27] Compton M E. Dark pretreatment improves adventitious shoot or gametogenesis from cotyledons of diploid watermelon[J]. Plant Cell Tissue and Organ Culture,1999,39(3):185-188.
- [28] Yoshioka K, Hanada K, Nakazaki Y, et al. Successful Transfer of the Cucumber Mosaic-Virus Coat Protein Gene to *Cucumis melo* L[J]. Japanese Journal of Breeding,1992,42:277-285.
- [29] Fang G W, Grumet R. Genetic-Engineering of Potyvirus Resistance Using Constructs Derived from the Zucchini Yellow Mosaic-Virus Coat Protein Gene[J]. Molecular Plant-Microbe Interactions,1993(6):358-367.
- [30] Gonsalves C, Xue B, Yepes M, et al. Transferring Cucumber Mosaic Virus-White leaf strain coat protein gene into *Cucumis melo* L. and evaluating transgenic plants for protection against infections[J]. Journal of the American Society for Horticultural Science,1994,119:345-355.
- [31] 孙严,李仁敬,许健. 新疆甜瓜抗黄瓜花叶病毒转基因植株的获得[J]. 新疆农业科学,1994(1):34-35.
- [32] 薛宝娣,陈永首, Gonsalves D, 等. 转 CP 基因的番茄、南瓜和甜瓜植株的抗病性研究[J]. 农业生物技术学报,1995,3(2):58-63.
- [33] 王慧中. 转基因甜瓜植株的获得及其抗病性[J]. 植物保护学报, 2000,27(2):126-130.
- [34] 钟俐. 根瘤农杆菌介导的雪花莲凝集素基因转入新疆甜瓜的研究[D]. 新疆农业大学硕士学位论文,2001.
- [35] 姜瑛. 苜蓿凝集素基因(ACA)转入甜瓜及其在转基因植物中的表达[D]. 东北农业大学硕士学位论文,2001.
- [36] Ayub R, Guis M, Ben A M, et al. Expression of an antisense ACC oxidase gene inhibits ripening in Cantaloupe melons fruits[J]. Nature Biotechnology, 1996,14:862-864.

# 果蔬中多糖功能因子的研究概况及开发利用

李延华<sup>1</sup>, 王伟军<sup>1</sup>, 于俊林<sup>1</sup>, 张兰威<sup>2</sup>, 陈丽安<sup>1</sup>

(1. 通化师范学院 制药与食品科学系, 吉林 通化 134002; 2. 哈尔滨工业大学 食品科学与工程学院, 黑龙江 哈尔滨 150090)

**摘要:**介绍了果蔬中多糖功能因子的资源分布, 描述了分离果蔬多糖的方法, 阐述其保健功能, 结合生产实际, 展望果蔬多糖的应用前景, 指出果蔬多糖在食品、医学等领域具有广阔的市场前景。

**关键词:**果蔬; 多糖; 分离; 保健功能; 开发利用

**中图分类号:**Q 946.3 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2008)12-0075-03

多糖是一类重要的保健食品功能因子, 目前多糖的研究较多地集中在药用植物多糖和真菌多糖, 而对于日常食用的果蔬多糖的研究相对较少<sup>[1-2]</sup>。果蔬多糖广泛存在于日常食用的果蔬中, 具有增强免疫力、抗氧化、抗肿瘤等多重保健作用。开发多糖的果蔬资源, 提取果蔬多糖功能因子, 并实现果蔬多糖的产业化应用具有重要意义。

## 1 果蔬中多糖资源

果蔬中多糖资源十分丰富, 现已提取出并进行深入研究的果蔬多糖有: 南瓜多糖、苦瓜多糖、沙棘多糖、大

枣多糖、甘薯多糖、无花果多糖、猕猴桃多糖、余甘多糖、番石榴多糖、木耳多糖、人参多糖、香菇多糖等, 具有开发潜力的果蔬多糖还有罗汉果多糖、油柑多糖、荔枝多糖、槟榔多糖、枇杷多糖和龙眼多糖等。

## 2 果蔬多糖的分离

果蔬多糖最常用的分离方法是先在水或碱液中浸提, 然后于乙醇中沉淀制得多糖粗品。水提的温度和 pH 视不同果蔬而不同, 一般中性多糖用水提取, 酸性多糖则以稀氢氧化钠溶液提取, 要尽量避免酸性条件提取, 因为这可能引起多糖中糖苷键的断裂<sup>[3-4]</sup>。

有些果蔬多糖在分离出来后, 还需进行脱色、去蛋白处理。分离沉淀后获得的多糖提取物中, 常会有无机盐、不溶于醇的低分子有机物和大分子蛋白质等杂质, 多糖本身也会吸附很多小分子物质, 因此需进行进一步纯化。沉淀法得到的多糖一般采用离子交换色谱、凝胶色谱及亲和色谱进行纯化<sup>[5-6]</sup>。

**第一作者简介:** 李延华(1979-), 女, 满族, 硕士, 讲师, 现从事果蔬贮藏与加工方面研究工作。E-mail: liyanhua607@sohu.com。

**通讯作者:** 王伟军。

**基金项目:** 吉林省科技厅发展计划资助项目(200705C04)。

**收稿日期:** 2008-08-05

[37] 李天然, 张志中, 张鹤龄, 等. 番茄 ACC 合成酶反义基因对河套密瓜的转化[J]. 植物学报, 1999, 41(2): 142-145.

[38] 张智俊, 罗淑萍, 廖康. 抗生素对甜瓜植株再生的影响[J]. 中国西瓜甜瓜, 2002(1), 6-7.

[39] Nunez-Palenius H, Cantliffe D J, Klee H J. Transformation of Galia Melon (*Cucumis melo* L. var. *reticulatus* Naud.) with an Antisense ACC Oxidase Gene[J]. HortScience, 2003, 38: 710-710.

[40] 哈斯阿古拉. 甜瓜耐贮藏基因工程研究[D]. 内蒙古大学博士学位论文, 2004.

[41] Bordas M, Montesinos C, Dabauza M, et al. Transfer of the Yeast Salt Tolerance Gene HAL1 to *Cucumis melo* L. Cultivars and In Vitro Evaluation of Salt Tolerance[J]. Transgenic Research, 1997(6): 41-50.

[42] Clough G H, Hamm P B. Coat Protein Transgenic Resistance to Watermelon Mosaic and Zucchini Yellows Mosaic-Virus in Squash and Cantaloupe[J]. Plant Disease, 1995, 79: 1107-1109.

[43] Huttner E, Tucker W, Vermeulen A, et al. Ribozyme Genes Protecting Transgenic Melon Plants Against Potyviruses[J]. Current Issues in Molecular Biology, 2001(3): 27-34.

[44] Ezura H, Yuhashi K I, Yasuta T, et al. Effect of Ethylene on

Agrobacterium tumefaciens-mediated Gene Transfer to Melon[J]. Plant Breeding, 2001, 19: 75-79.

[45] Clendennen S, Kellogg J A, Wolf K A, et al. Genetic engineering of cantaloupe to reduce ethylene biosynthesis and control ripening[C]// Kanellis A, Chang C, Klee H, Bleecker A B, Pech J C, Grierson D (ed) Biology and biotechnology of the plant hormone ethylene, vol. II. Kluwer Academic Publishers, Netherlands, 1999: 371-379.

[46] Guis M, BenAmor M, Lathe A, et al. A Reliable System for the Transformation of Cantaloupe Charentais Melon (*Cucumis melo* L. var. cantalupensis) Leading to a Majority of Diploid Regenerants[J]. Scientia Horticulturae, 2000, 84: 91-99.

[47] Shellie K C. Reduced Ethylene Concentration and Postharvest Quality of Transgenic Netted Melon (*Cucumis melo* L.) Expressing S-adenosylmethionine hydrolase[J]. Hortscience, 2001, 36: 467-467.

[48] Silva J A, da Costa T S, Luchetta, et al. Characterization of Ripening Behavior in Transgenic Melons Expressing an Antisense 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) Oxidase Gene from Apple[J]. Postharvest Biology and Technology, 2004, 32: 263-268.