

# 植物体细胞杂交的研究进展

张金鹏, 杨 晶, 韩玉珠, 张广臣

(吉林农业大学 园艺学院, 吉林 长春 130118)

**摘 要:**植物体细胞杂交的出现与发展在植物育种工作中有着非常重要的作用与意义。该文从植物体细胞杂交的优势、植物体细胞杂交的技术发展与植物体细胞杂交的应用等方面进行综述,并对体细胞杂交存在的问题进行了分析和展望。

**关键词:**体细胞杂交;融合;原生质体

**中图分类号:**Q 942 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2014)01-0192-04

植物体细胞杂交是依据植物细胞全能性将细胞融合技术和植物组织培养技术相结合而发展起来的一项植物育种技术。植物体细胞杂交首先要将 2 种异源植物体细胞除去细胞壁,制备出完整的有活力的原生质体,然后通过刺激使 2 种异源原生质体融合成具有生物活性的杂种细胞,进而组织培养成杂种植株并进行优良性状植株的选择与繁育。植物体细胞杂交包括一系列相互依赖的步骤,即原生质体的制备、原生质体的融合、杂种细胞的选择、杂种细胞的培养、由杂种愈伤组织再生植株以及杂种或胞质杂种植株的鉴定等<sup>[1]</sup>。

## 1 植物体细胞杂交的优势

植物有性杂交仅限于种内或是一些亲缘关系相近的野生种与栽培种之间。像香蕉、甘薯、马铃薯等这些植物有性生殖能力很低或不具备,便很难通过有性杂交的方式来改良与培育新品种,严重限制了育种工作的发展。而植物体细胞杂交技术不需要经过有性过程,只需通过体细胞的融合来制造杂种,这便打破了物种间的生殖隔离,同时也克服了植物花期不遇与有性杂交不亲和的状态,更为扩大遗传变异、更新种质资源和改良作物品质开创了一条有效的途径。植物体细胞杂交技术的出现与发展扩大了物种杂交的范围,提高了育种效果,还可以缩短育种年限。林阅兵等<sup>[2]</sup>将人参与胡萝卜进行体细胞杂交,结果表明获得的 8 个杂种愈伤组织无性系均含有皂苷,5 个比人参含量高,说明人参与胡萝卜体细胞杂种提高了人参次生代谢产物含量,体现了杂种优势;肖望等<sup>[3]</sup>报道香蕉通过原生质体的分离、培养和融

合相继有超过 10 个品种成功获得再生植株;胡琼等<sup>[4]</sup>利用体细胞杂交技术创造油菜胞质雄性不育系一般只需 6~10 个月,而常规有性杂交结合回交则需要 3~5 a,这为后续的育种工作节省了大量的时间。

## 2 植物体细胞杂交技术

### 2.1 植物原生质体的分离

植物原生质体的分离方法有机械法和酶解法 2 种,机械法是切割或磨碎质壁分离的细胞从而释放出原生质体的方法,一般适用于像洋葱的鳞片、黄瓜的中皮层、甜菜的根等具有较大的、高度液泡化的细胞。酶解法是利用细胞壁降解酶分解植物细胞壁从而获得原生质体的方法。当酶解法有副作用时,可以考虑使用机械法,机械法可以避免酶制剂对原生质体的破坏作用<sup>[5]</sup>。但目前机械法基本被摒弃不用而通用酶解法。酶解法可以有效分离出大量的植物原生质体,并且适用于几乎所有的植物。但是酶制剂中往往含有一些核酸酶、蛋白酶、过氧化物酶以及酚类物质,所以使用酶解法会对所得原生质体的活力有一定影响。因此,使用酶解法分离植物原生质体要注意根据不同植物种类、不同器官的不同细胞壁结构与成分选择合适的酶类和酶浓度。由于植物细胞壁的主要成分相同,酶解使用的酶类基本为纤维素酶和果胶酶,或者搭配半纤维素酶、崩溃酶等复合酶类。一般而言,纤维素酶的浓度范围为 1%~2%,果胶酶浓度范围为 0.5%~1.0%,酶解 pH 一般为 5.5~5.8,酶解时间从几小时到几十小时不等,但一般以不超过 24 h 为宜<sup>[6]</sup>。在酶溶液里添加浓度为 0.35~0.80 mol/L 的甘露醇、山梨醇等物质作为渗透压稳定剂可以保持细胞原生质体的稳定与活力;酶溶液中加入 2-吗啉乙磺酸(MES)等作为 pH 缓冲剂,加入 CaCl<sub>2</sub>,浓度范围为 0.1~10.0 mmol/L、葡聚糖硫酸钾或聚乙烯吡咯烷酮(PVP)等作为质膜稳定剂可以提高原生质体的活力与

**第一作者简介:**张金鹏(1989-),男,硕士,研究方向为设施园艺工程及蔬菜生态生理。E-mail:524252093@qq.com

**责任作者:**张广臣(1961-),男,教授,硕士生导师,现主要从事设施栽培生理等研究工作。E-mail:gczh2005@126.com

**收稿日期:**2013-09-09

产量<sup>[7]</sup>。另外,添加牛血清蛋白可以减少或防止降解细胞壁过程中对细胞器的破坏。

Bard-Elden 等<sup>[8]</sup>在分离甜菜原生质体时的酶液配比为 2%纤维素酶+1%果胶酶+1%半纤维素酶,酶解 18 h,得到的原生质体有良好的产量和活力。陶茸等<sup>[9]</sup>分离扁蓿豆愈伤组织原生质体时的最佳酶液组合为 2%纤维素酶+0.5%果胶酶+0.3%半纤维素酶,酶解时间为 12 h,添加甘露醇浓度为 0.55 mol/L。Huang 等<sup>[10]</sup>在分离黄瓜原生质体时酶液组合为 1.5%的纤维素酶+0.4%离析酶+0.4 mol/L 甘露醇+20 mmol/L MES+10 mmol/L CaCl<sub>2</sub>+0.1%牛血清白蛋白,在 pH 为 5.8 条件下酶解 8 h,得到的原生质体生存能力是 90%左右。

## 2.2 植物原生质体的融合

从 1972 年第一个植物体细胞杂种诞生到现在,原生质体的融合方法经历了由 NaNO<sub>3</sub> 融合法-高 pH-高 Ca<sup>2+</sup> 融合法-PEG(聚乙二醇)融合法-PEG-高 Ca<sup>2+</sup>-高 pH 结合融合法-电融合法的转变。

NaNO<sub>3</sub> 融合法和高 pH-高 Ca<sup>2+</sup> 融合法由于融合率不高并未被后人更多的使用。相对于前 2 种方法,PEG 融合法具有异核体形成频率高、重复性好、毒性低的优点。后来人们把 PEG 融合法与高 pH-高 Ca<sup>2+</sup> 融合法结合了起来,发现这样会有更高的融合率,而 PEG-高 Ca<sup>2+</sup>-高 pH 融合法也因此被流传下来并被广泛应用。赵小强<sup>[11]</sup>利用 PEG-高 Ca<sup>2+</sup>-高 pH 融合法得到草地早熟禾种间体细胞杂种,最佳融合条件为 PEG-6000 浓度为 35%,融合率为 9.8%;同样使用此法,李玉珠<sup>[12]</sup>将清水紫花苜蓿和里奥百脉根愈伤组织分离的原生质体融合,异源融合率为 3.1%,此时大多数融合体可存活并持续分裂;羿德磊<sup>[13]</sup>在融合桑树原生质体时使用此法也得到良好的效果。

电融合法是在 20 世纪 80 年代初由 Zimerman 等<sup>[14]</sup>创造并发展起来一种物理融合方法。由于电融合较之化学融合有操作简便、快速、同步性好、可以大量试验、无毒害作用等特点,已经被大量使用。20 世纪 90 年代国内外还同时开展了空间电融合技术的研究,试图利用空间微重力条件改进细胞融合技术<sup>[15]</sup>。但是,利用电融合需要时间确定材料的最适融合条件,更主要的是电融合需要昂贵的设备,而 PEG-高 Ca<sup>2+</sup>-高 pH 融合法无需设备,可广泛使用。郭传敏<sup>[16]</sup>在研究杨树电融合体系时最终确定较适合杨树原生质体融合的电融合参数为:AC(交流电场)强度 100 V/cm,AC 作用时间 40 s,DC(直流脉冲)强度 1 000 V/cm,DC 作用时间 50 μs,脉冲 4 次,循环 2 次。汪晶<sup>[17]</sup>通过使用 AC 值为 100 V/cm,作用时间 20 s;直流电场 DC 值 1 100 V/cm,作用时间 60 μs,脉冲次数 1 次;延时电场 50 V/cm,作用时间 65 s 的电融合参

数创制了二倍体马铃薯抗青枯病的新种质。

2005 年,Olivares-ruster 等<sup>[18]</sup>将电融合法与 PEG 融合法结合起来作为一种新的方法-电气化学法,并使用此法成功得到柑橘的体细胞杂种,且得到再生植株。同时表明电气化学融合是一个可靠、可重复的方法,还能促进融合细胞的分裂,提高胚胎发生率。

20 世纪 90 年代发展起来的微流控芯片技术在细胞研究上有广泛的潜力,已引起人们极大的关注。2010 年,武恒<sup>[19]</sup>研究设计了一个微流控芯片,并首次采用 PEG 化学融合的方法,实现了小白菜无菌苗子叶原生质体及烟草叶肉原生质体的芯片内融合;Hu 等<sup>[20]</sup>介绍了微流控芯片的细胞电融合,总结了微流控芯片的细胞电融合具有操控精准,细胞配对和融合的效率,细胞活力高,较低的样品污染,焦耳热效应较小的优点,同时详细讨论了微流控芯片电融合的一些重要参数与微流控芯片上的细胞分离和培养。

## 2.3 杂种的筛选与鉴定

2.3.1 杂种细胞的筛选 原生质体经刺激融合后会产生多种类型的杂合子,需要对这些杂合子进行筛选,从中选出预期的杂种细胞。目前常用的选择方式主要有利用选择培养基、利用代谢性抑制剂、互补选择法、利用物理性差异辨别和挑选杂种细胞<sup>[21]</sup>。试验当中一般利用物理性差异使用活性荧光染料如荧光素双醋酸酯、羧基荧光素等对不同亲本进行染色或荧光标记,这样可以明显、高效的区分出杂种细胞。而绿色荧光蛋白(GFP)作为一种标记物具有检测方便、荧光稳定、通用性强、分子量小、对细胞无毒害、可进行活细胞实时定位观察等优点<sup>[22]</sup>,日趋被人们重视与应用。GFP 在杂种细胞的筛选方面同样有着重要的应用潜力与价值。

2.3.2 杂种植株的鉴定 细胞杂种植株的鉴定由最初的形态学鉴定发展到细胞学鉴定,到现在的同工酶鉴定与分子生物学鉴定,并且还在不断地发展当中。随着科学技术的发展,目前常用的鉴定技术有 GISH(基因组原位杂交),McGISH(多色基因组原位杂交),RFLP(限制性片段长度多态性),RAPD(随机扩增多态性),AFLP(扩增片段长度多态性),SSR(简单重复序列),cpSSR(叶绿体简单重复序列)等。此外,流式细胞计由于其具有效率高特点目前在杂种鉴定中的应用也很广,但是由于仪器昂贵,应用并不普遍。杂种植株的鉴定往往需要在多种水平上采用多种方法结合进行鉴定。廉玉姬等<sup>[23]</sup>在鉴定大白菜、青花菜和叶用芥菜的体细胞杂种时通过 GISH 和 AFLP 分析结果表明,再生植株基因组中分别检测出大白菜、青花菜、叶用芥菜的 DNA 片段,证实了大白菜、青花菜、叶用芥菜种间体细胞杂交种的真实性。蔡兴奎等<sup>[24]</sup>采用 RAPD 标记检测结合流式细胞

仪倍性分析与叶绿体 SSR 检测鉴定出马铃薯栽培种与野生种的细胞杂种植株。付春华等<sup>[25]</sup>研究表明,利用流式细胞仪和 RAPD 相结合的方法可快速有效地鉴定体细胞杂种。

### 3 植物体细胞杂交的应用

就目前报道,植物体细胞杂交技术已经广泛应用于各种植物。如农作物:小麦<sup>[26-27]</sup>、玉米<sup>[28-29]</sup>、水稻<sup>[30]</sup>、棉花<sup>[31]</sup>、花生<sup>[32-33]</sup>等;蔬菜:白菜和甘蓝<sup>[34]</sup>、油菜<sup>[35-36]</sup>、花椰菜<sup>[37-38]</sup>、青花菜<sup>[39]</sup>、黄瓜<sup>[40]</sup>、茄子<sup>[41]</sup>、甘薯<sup>[42-43]</sup>、马铃薯<sup>[44-45]</sup>等;果树:苹果<sup>[46]</sup>、草莓<sup>[47]</sup>、柑橘<sup>[48-49]</sup>、香蕉<sup>[50]</sup>等;中药材:虎杖<sup>[51]</sup>、黄芪<sup>[52]</sup>、柴胡<sup>[53]</sup>等;其它植物:烟草<sup>[54]</sup>、苜蓿<sup>[55]</sup>等牧草、菊花<sup>[56]</sup>等菊科植物、杨树<sup>[57]</sup>等林木;藻类<sup>[58]</sup>等。

植物体细胞杂交主要应用于培育抗虫、抗病植株,创造 CMS(雄性不育系),改良植物,培育新的植物材料等。王桂香等<sup>[59]</sup>通过体细胞杂交获得花椰菜-黑芥抗黑腐病异附加系新材料;向凤宁等<sup>[60-61]</sup>利用体细胞杂交获得多种小麦的细胞杂交植株和杂交细胞系;Liu 等<sup>[62]</sup>首次报道通过原生质体不对称融合获得柑橘混倍体杂种再生植株;胡琼等<sup>[35]</sup>利用原生质体融合技术获得了甘蓝型油菜品种“中双 4 号”与新疆野生油菜“野油 18”的对称性体细胞杂种,并得到雄性不育株,与亲本回交得到稳定的雄性不育系。

### 4 问题与展望

植物体细胞杂交技术自诞生以来便备受人们关注,科研工作者做了大量的试验与探索,获得了许多具有抗性与优良性状的新的植物种质资源并建立了一些植物的细胞培养与融合的体系。但是仍然有大量的植物品种还没有建立起体细胞杂交的具体融合试验体系,这不利于体细胞杂交技术的发展;同时,体细胞杂种植株的可育性还有待科研工作者的进一步研究;利用植物体细胞杂交技术培育出的新种质成功应用于农业生产的例子还很少,其是否符合农业生产要求,还需要结合常规育种技术与农业生产,做到服务于农业,为农业做出实际贡献。

人们越来越关注健康,通过植物体细胞杂交获得的抗病、抗虫与优良种质为减少农药使用,建立绿色优质食品提供了广阔的发展前景。并且植物体细胞杂交育种可以达到转基因育种的一些优良效果,而不会让人们有对转基因食品一样的担心。植物体细胞杂交的潜力还需要科研工作者继续开发与探索。

#### 参考文献

- [1] 李浚明. 植物组织培养教程[M]. 北京: 中国农业大学出版社, 2002: 211-223.
- [2] 林阅兵, 张颖, 王义, 等. 人参与胡萝卜体细胞杂交杂种愈伤的鉴定

[J]. 人参研究, 2012(1): 2-6.

- [3] 肖望, 黄霞, 魏月荣. 香蕉原生质体培养和体细胞杂交研究进展[J]. 果树学报, 2009, 26(3): 369-374.
- [4] 胡琼, 李云昌. 体细胞杂交在油菜细胞质雄性不育创建和改良中的应用[J]. 作物学报, 2006, 32(1): 138-143.
- [5] 周维燕. 植物细胞工程原理与技术[M]. 北京: 中国农业大学出版社, 2001: 164-165.
- [6] 盛小光, 顾宏辉, 赵振卿, 等. 植物原生质体全能性表达及其在甘蓝类蔬菜育种上的应用[J]. 中国蔬菜, 2011(16): 1-8.
- [7] 王莉, 姚占军. 植物原生质体的制备与活力检测研究进展[J]. 生物技术通报, 2009(增刊): 46-50.
- [8] Bard-Elden A M, Nower A A, Nasr M I, et al. Isolation and fusion of protoplasts in sugar beet (*Beta vulgaris* L.) [J]. Sugar Tech, 2010, 12(1): 53-58.
- [9] 陶茸, 李玉珠, 王娟, 等. 扁蓿豆愈伤组织原生质体分离条件的研究[J]. 草地学报, 2011, 19(2): 288-293.
- [10] Huang H Y, Wang Z Y, Cheng J T, et al. An efficient cucumber (*Cucumis sativus* L.) protoplast isolation and transient expression system [J]. Scientia Horticulturae, 2013, 150: 206-212.
- [11] 赵小强. 草地早熟禾原生质体培养及体细胞杂交[D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2009.
- [12] 李玉珠. 苜蓿与百脉根原生质体培养及体细胞杂交的研究[D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2012.
- [13] 羿德磊. 桑树原生质体分离及融合的研究[D]. 泰安: 山东农业大学, 2012.
- [14] Zimerman U, Scheurich P. High frequency fusion of plant protoplasts by electric fields[J]. Planta, 1981, 151: 26-32.
- [15] 李雪梅, 王六发, 刘承宪. 空间细胞电融合关键技术的地基研究-烟草细胞的电融合[J]. 实验生物学报, 1997, 30(2): 157-164.
- [16] 郭传敏. 杨树原生质体分离及电融合技术体系的研究[D]. 南京: 南京林业大学, 2007.
- [17] 汪晶. 二倍体马铃薯原生质体融合创制抗青枯病的新种质[D]. 武汉: 华中农业大学, 2009.
- [18] Olivares-ruster O, Duran-Vilan N, Navarro L. Electrochemical protoplast fusion in citrus [J]. Plant Cell Rep, 2005, 24: 112-119.
- [19] 武恒. 微流控芯片内植物原生质体的培养及其化学融合[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2010.
- [20] Hu N, Yang J, Joo S W, et al. Cell electrofusion in microfluidic devices: A review[J]. Sensors and Actuators B, 2013, 178: 63-85.
- [21] 孙敬三, 朱至清. 植物细胞工程实验技术[M]. 北京: 化学工业出版社, 2006: 42-43.
- [22] 吴瑞, 张树珍. 绿色荧光蛋白及其在植物分子生物学中的应用[J]. 分子植物育种, 2005, 3(2): 240-244.
- [23] 廉玉姬, 林光哲, 赵小梅. 大白菜、青花菜和叶用芥菜体细胞杂交种形态学与细胞学特性鉴定[J]. 园艺学报, 2011, 38(11): 2099-2110.
- [24] 蔡兴奎, 柳俊, 谢从华. 马铃薯栽培种与野生种叶肉细胞融合及体细胞杂种鉴定[J]. 园艺学报, 2004, 31(5): 623-626.
- [25] 付春华, 郭文武, 邓秀新. 用流式细胞仪和 RAPD 快速鉴定柑橘体细胞杂种[J]. 华中科技大学学报(自然科学版), 2005, 33(10): 102-105.
- [26] 夏光敏, 向凤宁, 周爱芬, 等. 小麦与高冰草属间体细胞杂交获可育杂种植株[J]. 植物学报, 1999, 41(4): 349-352.
- [27] Li L L, Xia G M, Chen Y L, et al. Asymmetric Somatic Hybridization Between Wheat and Millet [J]. Acta Phytophysiologica Sinica, 2001, 27(6): 455-460.



- [28] 陈凡国,夏光敏,张学勇. 普通小麦与玉米不对称体细胞杂交的研究[J]. 西北植物学报 2001,21(5):826-831.
- [29] 支大英,向凤宁,陈秀玲,等. 普通小麦与玉米的体细胞杂交再生完整植株[J]. 山东大学学报(自然科学版),2002,37(1):80-83.
- [30] 辛化伟,孙敬三,颜秋生,等. 水稻与大黍不对称体细胞杂交再生植株[J]. 植物学报,1997,39(8):717-724.
- [31] 汪静儿. 棉花原生质体培养与体细胞杂交研究[D]. 杭州:浙江大学,2007.
- [32] 邢道臣,王晶珊,郭宝太,等. 花生与其近缘野生种间细胞融合及培养[J]. 花生学报,2002,31(4):1-4.
- [33] 乔利仙,孙海燕,隋炯明,等. 花生与其近缘野生种间细胞融合及杂种愈伤组织的形成[J]. 中国农学通报,2012,28(33):71-74.
- [34] Lian Y J. Production and characterization of a somatic hybrid of Chinese cabbage and cabbage[J]. Chinese Journal of Biotechnology,2012,28(9):1080-1092.
- [35] 胡琼,李云昌,梅德圣,等. 属间体细胞杂交创建甘蓝型油菜细胞质雄性不育系及其鉴定[J]. 中国农业科学,2004,37(3):333-338.
- [36] 孙盼盼,李云昌,梅德圣,等. 油菜和新疆野芥体细胞杂种后代的菌核病抗性鉴定[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版),2007,33(S1):170-175.
- [37] 张丽,赵泓,陈斌,等. 花椰菜与黑芥种间体细胞杂种的获得和鉴定[J]. 植物学通报,2008,25(2):176-184.
- [38] 姚星伟,刘凡,云兴福,等. 非对称体细胞融合获得花椰菜与 *Brassica spinescens* 的种间杂种[J]. 园艺学报,2005(6):1039-1044.
- [39] 戴永娟,和兆荣,胡靖锋,等. 青花菜非对称体细胞杂交研究[J]. 湖南农业科学,2012(5):9-12,16.
- [40] 邓红梅,马超,王颖. 黄瓜幼苗子叶原生质体的分离纯化及融合条件优化研究[J]. 北方园艺,2013(11):6-9.
- [41] 连勇,刘富中,冯东昕,等. 应用原生质体融合技术获得茄子种间体细胞杂种[J]. 园艺学报,2004,31(1):39-42.
- [42] 刘庆昌,米凯霞,周海鹰,等. 甘薯与 *Ipomoea lacunosa* 的种间体细胞杂种植株再生及鉴定[J]. 作物学报,1998,24(5):529-535.
- [43] 张冰玉,刘庆昌,翟红,等. 甘薯及其近缘野生种间体细胞杂种植株的有效再生[J]. 中国农业科学,1999,32(6):23-27.
- [44] 袁华玲,金黎平,谢开云,等. 体细胞杂交技术在马铃薯遗传育种研究中的应用[J]. 中国马铃薯,2005,19(6):357-361.
- [45] 司怀军,张宁,王蒂,等. 利用体细胞杂交获取马铃薯软腐病的抗性[J]. 中国马铃薯,2006,20(4):193-197.
- [46] 潘增光. 苹果原生质体培养再生及融合研究[D]. 武汉:华中农业大学,1998.
- [47] 冯颖,顾地周,朱俊义,等. 草莓属间体细胞融合研究[J]. 江苏农业科学,2013,41(3):29-31.
- [48] 郭文武,邓秀新,史永忠. 柑橘细胞电融合参数选择及种间体细胞杂种植株再生[J]. 植物学报,1998,40(5):417-424.
- [49] 郭文武,邓秀新. 柑桔细胞电融合再生两个种间体细胞杂种[J]. 生物工程学报,2000,16(2):179-182.
- [50] 刘代,魏岳荣,胡家金. 香蕉原生质体的电融合研究[J]. 湖南农业科学,2010(15):128-130.
- [51] 周国海,陈雪香,雷勇,等. 虎杖原生质体分离纯化及电融合初步研究[J]. 西北植物学报,2008,28(6):1145-1149.
- [52] 张改娜,贾敬芬. 草木樨状黄芪和木本霸王的种间体细胞杂交[J]. 植物学报,2009,44(4):442-450.
- [53] 黄贤荣,向凤宁,夏光敏,等. 胡萝卜与柴胡的体细胞杂交及其再生愈伤组织的同工酶鉴别[J]. 中国中药杂志,2002,27(12):887-890.
- [54] 孙学永,林国平,殷凤生,等. 烟草体细胞杂交优质抗病株系的选育[J]. 烟草科技,2003(7):36-40.
- [55] 马晖玲,卢欣石,曹致中. 苜蓿原生质培养及体细胞杂交技术的应用[J]. 草业科学,2007,24(8):6468.
- [56] 赵宏波,陈发棣,房伟民. 菊科植物原生质体融合研究进展[J]. 园艺学报,2006,33(4):908-914.
- [57] 诸葛强,黄敏仁,王明麻. 杨树体细胞融合研究[J]. 南京林业大学学报,2000,24(2):6-10.
- [58] 张伟伟,任丽丽,张韩杰. 藻类原生质体融合和细胞杂交技术[J]. 生物技术通报,2010(8):93-97.
- [59] 王桂香,严红,曾兴莹,等. 花椰菜-黑芥体细胞杂交获得抗黑腐病附加系新材料[J]. 园艺学报,2011,38(10):1901-1910.
- [60] 向凤宁,夏光敏,周爱芬,等. 普通小麦与无芒雀麦不对称体细胞杂交的研究[J]. 植物学报,1999,41(5):458-462.
- [61] 向凤宁. 小麦远缘体细胞杂交及体细胞杂种的遗传研究[D]. 济南:山东大学,2003.
- [62] Liu J H, Deng X X. Regeneration and analysis of citrus interspecific mixoploid hybrid plants from asymmetric somatic hybridization[J]. Euphytica, 2002,125:13-20.

## Research Progress of Plant Somatic Hybridization

ZHANG Jin-peng, YANG Jing, HAN Yu-zhu, ZHANG Guang-chen  
(College of Horticulture, Jilin Agricultural University, Changchun, Jilin 130118)

**Abstract:** The emergence and development of plant somatic hybridization play a very important role in plant breeding work. The depicts advantages of the plant somatic hybridization, technical development of the plant somatic hybridization and application of plant somatic hybridization were summarized in this paper. And some problem were briefly described and put forward in future.

**Key words:** somatic hybridization; fusion; protoplast