



21世纪全国高职高专农林园艺类规划教材

植物组织培养技术

ZHIWU ZUZHI PEIYANG JISHU

李永文 刘新波 主 编



北京大学出版社
PEKING UNIVERSITY PRESS

21 世纪全国高职高专农林园艺类规划教材

植物组织培养技术

李永文 刘新波 主 编

黄海帆 副主编

缙艳霞 李 红

董凤丽 贾晓梅 参 编

张彩玲 梁明勤

尹振君



北京大学出版社
PEKING UNIVERSITY PRESS

内 容 提 要

本书介绍了植物组织培养的基本理论、基本知识和基本技能,主要包括植物组织培养概述、基本原理与设施、基本操作技术、试管苗快速繁殖技术、植物脱毒技术、植物组织培养一般方法、种质离体保存、植物试管苗工厂化生产与管理、果树的组织培养、蔬菜的组织培养、园林及观赏植物的组织培养、药用植物的脱毒与快繁和实验实训等,教材中既引用了科技理论最新成果,又贴近实际,突出了技术应用的实用性。具有较强的科学性、针对性、适应性和可操作性。

本书可作为全国高等职业技术学院、高等农林专科、师范院校和成教学院的园艺、园林、作物生产、生物技术应用等专业的教学和相关层次培训教材使用,也可供从事植物组织培养工作的技术工作者、研究人员和经营管理人员参考使用。

图书在版编目(CIP)数据

植物组织培养技术/李永文,刘新波主编. —北京:北京大学出版社, 2007.8
(21世纪全国高职高专农林园艺类规划教材)
ISBN 978-7-301-12568-7

I. 植… II. ①李… ②刘… III. 植物—组织培养—高等学校:技术学校—教材 IV. Q943.1

中国版本图书馆CIP数据核字(2007)第114443号

书 名: 植物组织培养技术

著作责任者: 李永文 刘新波 主编

责任编辑: 葛昊晗 解继华

标准书号: ISBN 978-7-301-12568-7/S·0012

出版者: 北京大学出版社

地 址: 北京市海淀区成府路205号 100871

电 话: 邮购部 62752015 发行部 62750672 编辑部 62765126 出版部 62754962

网 址: <http://www.pup.cn>

电子信箱: xxjs@pup.pku.edu.cn

印刷者: 河北滦县鑫华书刊印刷厂

发 行 者: 北京大学出版社

经 销 者: 新华书店

787毫米×980毫米 16开本 15印张 325千字

2007年8月第1版 2007年8月第1次印刷

定 价: 28.00元

未经许可,不得以任何方式复制或抄袭本书之部分或全部内容。

版权所有,侵权必究

举报电话: 010-62752024; 电子信箱: fd@pup.pku.edu.cn

前 言

植物组织培养在过去的四十多年中得到了迅速发展,已经渗透到现代生物学科各个领域,成为现代生物工程技术中的重要研究方法和基本手段之一,促进了植物生理学、植物细胞学、生物遗传学、微生物学以及病理学的发展。同时植物组织培养广泛应用于农业、林业、工业和医药业,产生了巨大的经济效益和社会效益。在植物优良品种的快速繁育、无病毒苗木生产、新品种培育、种质资源保存、药用植物工厂化生产等方面发挥了巨大作用。加速和推动了农业生产和生物制药等各个领域的技术创新。尤其是快速繁殖技术和无毒苗培育技术,在农林生产中具有重大实践意义,已逐步走向产业化应用的发展道路。

本教材是根据《教育部关于加强高职高专教育人才培养工作的意见》及《关于加强高职高专教育教材建设的若干意见》的精神和要求进行编写的。编写过程中,紧紧围绕以职业能力培养为核心进行设计,以高等职业教育的能力领域和岗位技能为依据,以适应社会经济发展为目标,以强化技术应用能力为主线,基础理论以必需、够用为度,突出实践技能。全书从植物组织培养的生产实际出发,理论与实践相结合,强化实用性、技术性和可操作性,具有明显的职教特色。供高职高专园艺、园林、作物生产、生物技术应用、植物保护等相关专业使用,也可作为植物组织培养技术工作者、研究人员和经营管理人员的参考书。

本教材由李永文(保定职业技术学院),刘新波(黑龙江农垦林业职业技术学院)任主编,黄海帆(河南农业职业学院)任副主编。其中概述、实验实训由李永文执笔;基本操作技术由刘新波执笔;试管苗快速繁殖技术、植物脱毒技术由黄海帆执笔;基本原理与设施、种质离体保存由缙艳霞(呼和浩特职业学院)执笔;植物试管苗工厂化生产与管理由李红(保定职业技术学院)执笔;植物组织培养一般方法由董凤丽(黑龙江生态工程职业学院)执笔;蔬菜的组织培养由贾晓梅(保定学院)执笔;药用植物的组织培养由张彩玲(黑龙江农业经济职业学院)执笔;园林及观赏植物的脱毒与快繁由梁明勤(河南农业职业学院)执笔;果树的组织培养由尹振君(沧州职业技术学院)执笔。全书最后由李永文统稿。

本书在编写过程中,得到了各参编单位领导和全国许多同行和朋友的大力支持和关怀,本教材广泛参阅了大量国内外文献,在此我们也向这些专家、学者致以诚挚的谢意。

由于时间仓促,编者水平有限,书中难免有不当及错误之处,恳请同行和广大读者批评指正,以便修改。

编 者

2007年6月

目 录

概述	1
0.1 植物组织培养的概念及类型	1
0.1.1 植物组织培养的概念	1
0.1.2 植物组织培养的类型	1
0.2 植物组织培养的发展	2
0.2.1 探索阶段(20世纪初至30年代中期)	2
0.2.2 奠基阶段(20世纪30年代中期至50年代末期)	3
0.2.3 迅速发展阶段(20世纪60年代至今)	4
0.3 植物组织培养的应用	5
0.3.1 植物离体快速繁殖	5
0.3.2 植物脱毒技术	6
0.3.3 植物新品种培育	6
0.3.4 植物次生代谢产物生产	7
0.3.5 种质资源的离体保存	7
0.3.6 培育人工种子	7
0.4 复习思考题	8
第1章 基本原理和设施	9
1.1 植物组织培养的基本原理	9
1.1.1 植物细胞全能性	9
1.1.2 植物细胞的分化	10
1.1.3 植物激素在形态建成中的作用	12
1.2 植物组织培养的常用设施、设备及培养环境	14
1.2.1 基本设施	15
1.2.2 主要仪器和设备	16
1.2.3 调控组织培养的主要环境条件	19
1.3 复习思考题	21
第2章 基本操作技术	23
2.1 器具洗涤	23
2.1.1 洗涤液	23

2.1.2 各种器具的洗涤.....	23
2.2 培养基的制备.....	24
2.2.1 培养基的成分及作用.....	24
2.2.2 常用培养基的配方及其特点.....	27
2.2.3 培养基的制备.....	29
2.3 灭菌技术.....	34
2.3.1 常用灭菌方法.....	35
2.3.2 设施、器皿和用具灭菌.....	37
2.4 无菌操作技术.....	37
2.4.1 无菌操作前的准备工作.....	37
2.4.2 外植体的表面灭菌.....	38
2.4.3 外植体接种.....	40
2.5 复习思考题.....	40
第3章 试管苗快速繁殖技术.....	42
3.1 试管苗快速繁殖意义和一般程序.....	42
3.1.1 试管苗快速繁殖意义.....	42
3.1.2 试管苗快速繁殖的一般程序.....	43
3.2 无菌培养物的建立.....	43
3.2.1 外植体的选择.....	44
3.2.2 常用试验方法.....	47
3.2.3 外植体的培养.....	49
3.3 中间繁殖体的增殖培养.....	52
3.3.1 中间繁殖体的增殖方式.....	53
3.3.2 影响增殖生长的因素.....	54
3.4 试管苗的壮苗与生根培养.....	55
3.4.1 试管苗的壮苗培养.....	55
3.4.2 试管苗的生根培养.....	56
3.5 试管苗的驯化与移栽.....	56
3.5.1 试管苗的特点.....	57
3.5.2 试管苗的驯化.....	57
3.5.3 移栽基质的选配.....	58
3.5.4 试管苗的移栽.....	58
3.5.5 移栽后管理.....	59
3.6 组织培养过程中常见问题及解决办法.....	60
3.6.1 污染及其预防措施.....	60

3.6.2 褐变及其防止措施.....	60
3.6.3 玻璃化现象及其预防措施.....	62
3.7 复习思考题.....	64
第4章 植物脱毒技术.....	65
4.1 植物病毒病的危害.....	65
4.1.1 植物病毒病的危害.....	65
4.1.2 植物病毒病的致病特点.....	66
4.1.3 培育脱毒苗木的意义.....	68
4.2 植物脱毒方法.....	69
4.2.1 茎尖分生组织脱毒.....	70
4.2.2 物理方法脱毒.....	74
4.2.3 其他脱毒方法.....	76
4.3 脱毒苗的鉴定.....	79
4.3.1 指示植物检测法.....	80
4.3.2 电子显微镜检测法.....	82
4.3.3 酶联免疫吸附检测法.....	83
4.3.4 分子生物学检测法.....	84
4.4 建立无病毒苗木繁育体系.....	85
4.4.1 无病毒苗木繁殖体系的几个环节.....	86
4.4.2 我国无病毒苗木繁殖体系发展概况.....	87
4.5 复习思考题.....	87
第5章 植物组织培养一般方法.....	88
5.1 愈伤组织培养.....	88
5.1.1 愈伤组织的诱导和分化.....	88
5.1.2 愈伤组织的形态发生.....	90
5.2 器官培养.....	92
5.2.1 根的培养.....	92
5.2.2 茎的培养.....	93
5.2.3 叶的培养.....	94
5.3 胚胎培养.....	95
5.3.1 胚培养.....	95
5.3.2 胚乳培养.....	97
5.3.3 子房培养.....	97
5.4 花药和花粉培养.....	98
5.4.1 花药培养.....	98

5.4.2	花粉培养	100
5.4.3	单倍体植株染色体加倍	102
5.5	细胞培养	102
5.5.1	单细胞培养	103
5.5.2	细胞悬浮培养	105
5.6	原生质体培养	107
5.6.1	原生质体培养	107
5.6.2	细胞融合	109
5.7	复习思考题	110
第6章	种质离体保存	111
6.1	常温保存	111
6.2	低温保存	112
6.3	超低温保存	114
6.3.1	材料预处理	114
6.3.2	冷冻方法	115
6.3.3	化冻操作与保存材料生活力和存活率的检测	117
6.4	复习思考题	118
第7章	植物试管苗工厂化生产与管理	119
7.1	植物组织培养工厂的设计	119
7.1.1	植物组织培养工厂的选址	119
7.1.2	植物组织培养工厂的构成与设施设备	119
7.1.3	植物组织培养工厂的设计初步	120
7.1.4	组培苗工厂化生产技术	122
7.2	生产规模与生产计划	124
7.2.1	增殖率的估算	124
7.2.2	生产计划的制定	124
7.3	试管苗的质量标准	125
7.3.1	试管苗的质量标准	125
7.3.2	出圃苗的质量标准	127
7.4	成本核算与效益分析	127
7.4.1	成本核算	127
7.4.2	效益分析	129
7.4.3	降低成本提高效益的措施	129
7.5	组培苗工厂化生产管理与经营	130
7.6	复习思考题	132

第8章 果树组织培养	133
8.1 葡萄	133
8.1.1 脱毒	133
8.1.2 快繁	134
8.2 草莓	135
8.2.1 脱毒	135
8.2.2 快繁	137
8.3 苹果	138
8.3.1 脱毒	138
8.3.2 快繁	139
8.4 猕猴桃	141
8.4.1 无菌培养的建立	141
8.4.2 中间繁殖体的增殖培养	141
8.4.3 诱导生根	142
8.4.4 试管苗的驯化与移栽	142
8.5 樱桃	143
8.5.1 快繁	143
8.5.2 脱毒	144
8.6 杏	145
8.6.1 脱毒	145
8.6.2 快繁	146
8.7 复习思考题	146
第9章 蔬菜的组织培养	147
9.1 马铃薯	147
9.1.1 茎尖培养与脱毒	147
9.1.2 试管微型薯生产	150
9.2 大蒜	151
9.2.1 脱毒培养	151
9.2.2 无毒苗鉴定	152
9.3 甘薯	153
9.3.1 培养意义	153
9.3.2 培养方法	153
9.4 生姜	154
9.4.1 种姜催芽	154
9.4.2 外植体灭菌及接种	155

9.4.3	培养基.....	155
9.4.4	炼苗移栽.....	155
9.5	石刁柏.....	155
9.5.1	取材与处理.....	156
9.5.2	接种与培养.....	156
9.5.3	试管苗移栽.....	156
9.6	无籽西瓜.....	156
9.6.1	试管苗繁殖.....	157
9.6.2	试管苗嫁接与移栽.....	157
9.7	甘蓝.....	158
9.7.1	取材与处理.....	158
9.7.2	培养.....	158
9.7.3	诱导生根及移栽.....	159
9.8	复习思考题.....	159
第 10 章	园林及观赏植物的组织培养.....	160
10.1	杜鹃.....	160
10.1.1	无菌培养的建立.....	160
10.1.2	中间繁殖体的增殖培养.....	161
10.1.3	试管苗的壮苗与生根培养.....	162
10.1.4	试管苗的驯化与移栽.....	162
10.2	月季.....	162
10.2.1	无菌培养的建立.....	163
10.2.2	中间繁殖体的增殖培养.....	163
10.2.3	试管苗的壮苗与生根培养.....	164
10.2.4	试管苗的驯化移栽.....	164
10.2.5	月季组织培养的主要影响因素.....	165
10.3	蝴蝶兰.....	166
10.3.1	无菌培养的建立.....	166
10.3.2	中间繁殖体的增殖培养.....	168
10.3.3	试管苗的壮苗与生根培养.....	169
10.3.4	试管苗的驯化移栽.....	169
10.4	百合.....	169
10.4.1	无菌培养的建立.....	170
10.4.2	中间繁殖体的增殖培养.....	170
10.4.3	试管苗的生根培养.....	171

10.4.4	试管苗的驯化移栽.....	171
10.5	樱花.....	171
10.5.1	无菌培养的建立.....	171
10.5.2	中间繁殖体的增殖培养.....	172
10.5.3	试管苗的壮苗与生根培养.....	172
10.5.4	试管苗的驯化移栽.....	173
10.6	杨树.....	173
10.6.1	胡杨的组织培养.....	173
10.6.2	毛白杨的组织培养.....	175
10.7	雪松.....	177
10.7.1	无菌培养的建立.....	177
10.7.2	中间繁殖体的增殖培养.....	178
10.7.3	试管苗的生根培养.....	178
10.7.4	试管苗的驯化移栽.....	178
10.8	复习思考题.....	178
第 11 章	药用植物的脱毒与快繁.....	179
11.1	人参.....	179
11.1.1	无菌体系的建立.....	179
11.1.2	培养程序.....	180
11.2	枸杞.....	182
11.2.1	无菌体系的建立.....	182
11.2.2	培养程序.....	183
11.2.3	试管苗的驯化和移栽.....	184
11.3	银杏.....	185
11.3.1	无菌体系的建立.....	185
11.3.2	培养程序.....	185
11.3.3	试管苗的驯化和移栽.....	186
11.3.4	利用愈伤组织进行细胞悬浮培养提取有用物质.....	187
11.4	芦荟.....	187
11.4.1	库拉索芦荟.....	188
11.4.2	木立芦荟.....	189
11.5	红豆杉.....	191
11.5.1	无菌体系的建立.....	191
11.5.2	培养程序.....	192
11.5.3	紫杉醇的提取与纯化方法.....	193

11.6	地黄	194
11.6.1	无菌体系的建立	194
11.6.2	培养程序	195
11.6.3	驯化与移栽	196
11.6.4	地黄的病毒检测	196
11.7	仙人掌	196
11.7.1	无菌体系的建立	197
11.7.2	培养程序	197
11.7.3	试管苗的驯化和移栽	198
11.8	复习思考题	198
第 12 章	实验实训	199
12.1	参观植物组织培养实验室	199
12.1.1	实训目的	199
12.1.2	仪器与用具	199
12.1.3	方法步骤	199
12.1.4	实训报告	199
12.2	MS 培养基母液的配制与保存	200
12.2.1	实训目的	200
12.2.2	药品与用具	200
12.2.3	方法步骤	200
12.2.4	实训报告	201
12.3	MS 固体培养基的配制	202
12.3.1	实训目的	202
12.3.2	材料与用具	202
12.3.3	方法步骤	202
12.3.4	实训报告	203
12.4	灭菌技术	203
12.4.1	实训目的	203
12.4.2	材料与用具	203
12.4.3	方法步骤	203
12.4.4	实训报告	204
12.5	无菌操作技术	205
12.5.1	实训目的	205
12.5.2	材料与用具	205
12.5.3	方法步骤	205

12.5.4	实训报告	205
12.6	月季茎段培养	206
12.6.1	实训目的	206
12.6.2	材料与用具	206
12.6.3	方法步骤	206
12.6.4	实训报告	207
12.7	百合鳞茎培养	207
12.7.1	目的要求	207
12.7.2	材料与用具	207
12.7.3	方法步骤	207
12.7.4	实训报告	208
12.8	杨树叶片的组织培养	208
12.8.1	实训目的	208
12.8.2	材料与用具	208
12.8.3	方法步骤	208
12.8.4	实训报告	209
12.9	马铃薯茎尖培养	209
12.9.1	实训目的	209
12.9.2	材料与用具	209
12.9.3	方法步骤	209
12.9.4	实训报告	210
12.10	草莓花药培养	210
12.10.1	实训目的	210
12.10.2	材料与用具	210
12.10.3	方法步骤	210
12.10.4	实训报告	211
12.11	小麦胚培养	211
12.11.1	实训目的	211
12.11.2	材料与用具	211
12.11.3	方法步骤	212
12.11.4	实训报告	212
12.12	脱毒苗的鉴定	212
12.12.1	实训目的	212
12.12.2	材料与用具	212
12.12.3	方法步骤	213

12.12.4 实训报告.....	214
12.13 试管苗的炼苗与移栽.....	214
12.13.1 实训目的.....	214
12.13.2 材料与用具.....	214
12.13.3 方法步骤.....	215
12.13.4 实训报告.....	215
12.14 植物组织培养技术开发方案的设计与实施.....	215
12.14.1 实训目的.....	215
12.14.2 方法步骤.....	216
12.14.3 实训报告.....	216
附录	217
一、常见英文缩写与词义.....	217
二、常用有机物质的分子量及浓度换算表.....	218
三、常用无机物质的分子量及浓度换算表.....	219
四、蒸汽压力与蒸汽温度对应表.....	220
五、培养物的异常表现、可能原因及改进措施.....	221
参考文献	222

概 述

【教学目标】

1. 掌握植物组织培养的概念、类型及特点。
2. 了解植物组织培养发展历程。
3. 熟悉植物组织培养主要应用方面。

0.1 植物组织培养的概念及类型

0.1.1 植物组织培养的概念

植物组织培养是指通过无菌操作分离植物材料接种到培养基上，在人工控制的条件下（营养、激素、温度、光照、湿度）进行培养，使其生长、分化并再生为完整植株的过程。由于培养材料是在脱离植物母体条件下在试管或其他容器中进行培养，所以又称为离体培养或试管培养。狭义的植物组织培养是指对植物的各种组织及培养产生的愈伤组织所进行的培养。

目前用作植物组织培养的植物材料几乎包括植物体的各个部位。离体器官如根、茎、叶、花、果实、种子等；组织如花药、胚珠、形成层、胚乳等；细胞如体细胞、花粉；以及除去细胞壁的原生质体。上述各种用于植物组织培养的植物材料，均取自植物母体，为进行离体培养的初始材料，在植物组织培养中称为外植体。

0.1.2 植物组织培养的类型

根据培养材料种类、培养过程等，可以将植物组织培养分为不同类型。

1. 根据培养材料种类划分

- (1) 植株培养：指对具有完整植株形态的幼苗或较大的植株进行的离体培养。
- (2) 胚胎培养：指对植物成熟或未成熟胚进行的离体培养。胚胎培养材料主要有幼胚、成熟胚、胚乳、胚珠、子房等。
- (3) 器官培养：指对植物体各种器官及器官原基进行的离体培养。器官培养材料有根

(根尖、切段)、茎(茎尖、切段)、叶(叶原基、叶片、子叶)、花(花瓣、雄蕊)、果实、种子等。一般培养的是什么器官,就可以称为什么培养,如培养的器官是花药,就称之为花药培养。

(4) 组织培养: 指对植物体各部位组织或已诱导的愈伤组织进行的离体培养。组织材料主要有分生组织、形成层、表皮、皮层、薄壁细胞、髓部、木质部等。

(5) 细胞培养: 指对植物的单个细胞或较小的细胞团进行的离体培养。细胞培养材料主要有性细胞、叶肉细胞、根尖细胞、韧皮部细胞等。

(6) 原生质体培养: 指对通过物理或化学的方法除去细胞壁的原生质体进行的离体培养。

2. 根据植物组织培养过程划分

(1) 初代培养: 指将植物体上分离得到的外植体进行最初几代培养的阶段。主要目的是建立无菌培养体系, 再进一步建立无性繁殖系。通常此阶段在植物组织培养中比较困难, 又称启动培养。

(2) 继代培养: 指将初代培养诱导产生的培养物重新分割, 并转移至新鲜培养基上继续培养的阶段。主要目的是使培养物得到大量繁殖, 又称为增殖培养。

(3) 生根培养: 指诱导组培苗产生根, 进而形成完整植株的阶段。其目的是使组培苗生根, 形成完整个体, 为移栽做好准备。

此外, 根据培养方式不同, 又可分为固体培养、半固体培养和液体培养。液体培养没有加入琼脂等固化剂进行固化, 可进行液体震荡培养解决通气问题。还可以根据培养方法的不同, 分为平板培养、微室培养、悬浮培养和单细胞培养等。

0.2 植物组织培养的发展

植物组织培养技术的发展可追溯到 20 世纪初期, 根据其发展情况大致分为三个阶段。

0.2.1 探索阶段(20 世纪初至 30 年代中期)

20 世纪初, 在 Schleiden 和 Schwann 提出的细胞学说推动下, 1902 年德国植物生理学家 Haberlandt 提出了植物细胞具有全能性的设想, 设想在适当的条件下, 离体植物细胞具有不断分裂和繁殖, 并再生成完整植株的潜在能力。为了证实这一设想, 他在加有蔗糖的 Knop 培养液中对小野芝麻和凤眼兰的叶肉细胞和虎眼万年青属植物的表皮细胞等进行离体培养实验, 并发表了《植物细胞离体培养实验》的论文。限于当时的技术手段, 他只观察到细胞的生长、细胞壁加厚等, 并没有观察到细胞分裂。实验未取得成功的原因, 一是

选择的实验材料已经高度分化，二是培养基过于简单，但是他的“植物细胞具有全能性”的设想为植物组织培养的研究与发展奠定了基础。

1904年，Hanning 在无机盐和蔗糖溶液中对萝卜和辣根菜胚进行培养，发现离体胚可以充分发育，并提前形成小苗。1922年，德国的 Kotte 和美国的 Robins 在含无机盐、葡萄糖、多种氨基酸和琼脂的培养基上，分别培养豌豆、玉米和棉花的茎尖和根尖，发现离体培养的组织可进行有限的生长，形成了缺绿的叶和根，但未发现培养细胞有形态发生能力。1925年和1929年，Laibach 将不能成活的亚麻种间杂种胚培养成功，获得杂种植株。

在 Haberlandt 实验之后，人们对植物组织培养的各个方面进行了大量的探索性研究。一些植物幼胚培养获得成功，离体器官培养也有了一定进展，跨出了万里长征的第一步。

0.2.2 奠基阶段（20 世纪 30 年代中期至 50 年代末期）

1934年，美国植物生理学家 White 利用无机盐、蔗糖和酵母提取液组成的培养基进行番茄根离体培养，建立了第一个活跃生长的无性繁殖系，使根的离体培养实验获得了真正的成功。1937年 White 用吡哆醇、硫胺素、烟酸 3 种 B 族维生素取代酵母提取液，培养成功，建立了第一个由已知化合物组成的综合培养基，该培养基后来被定名为 White 培养基。

同年，法国的 Gautheret 在研究山毛柳和黑杨等形成层的组织培养实验中，发现了 B 族维生素和生长素对组织培养的重要意义，直接导致了 1939 年 Gautheret 连续培养胡萝卜根形成层获得首次成功。Nobecourt 也用胡萝卜建立了类似的连续生长的组织培养物。因此 White、Gautheret 和 Nobecourt 三位科学家被誉为植物组织培养学科的奠基人。1943年，White 提出了植物“细胞全能性”理论，并出版了《植物组织培养》手册，使植物组织培养成为一门新兴的学科。

1948年，美国人 Skoog 和我国植物生理学家崔澂，在对烟草茎切段和髓培养，以及器官形成的研究中发现，腺嘌呤或腺苷不仅可以解除培养基中生长素（IAA）对芽形成的抑制作用，能诱导形成芽，而且发现腺嘌呤与生长素的比例是控制根和芽形成的主要条件之一。

1952年，Morel 和 Martin 首次通过茎尖分生组织的离体培养，从已受病毒侵染的大丽花中获得脱毒植株。

1953—1954年，Muir 利用振荡培养和机械方法获得了万寿菊和烟草的单细胞，并实施了看护培养，使单细胞培养获得初步成功。

1955年，Miller 发现了嘌呤类似物激动素（6-呋喃氨基嘌呤），其诱导细胞增殖和芽分化的作用较腺嘌呤强 3 万倍。到 1957 年，Skoog 和 Miller 提出植物生长调节剂控制器官形成的概念，指出通过控制培养基中生长素和细胞分裂素的比例来控制器官的分化模式，大大促进了植物组织培养的发展。

1958年，英国学者 Steward 等以胡萝卜髓部细胞为材料，通过震荡培养成为悬浮细胞