

肖尊安 主编

# 植物生物技术



Chemical Industry Press



化学工业出版社  
现代生物技术与医药科技出版中心

# 植物生物技术

肖尊安 主编



化学工业出版社  
现代生物技术与医药科技出版中心

· 北京 ·

(京)新登字 039 号

**图书在版编目 (CIP) 数据**

植物生物技术/肖尊安主编. —北京: 化学工业出版社, 2005. 3  
ISBN 7-5025-6723-2

I. 植… II. 肖… III. 植物-生物技术  
IV. Q943

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2005) 第 015841 号

---

**植物生物技术**

肖尊安 主编

责任编辑: 李 丽 孟 嘉

责任校对: 顾淑云 于志岩

封面设计: 关 飞

\*

化学工业出版社 出版发行  
现代生物技术与医药科技出版中心

(北京市朝阳区惠新里 3 号 邮政编码 100029)

发行电话: (010) 64982530

[http:// www. cip. com. cn](http://www.cip.com.cn)

\*

新华书店北京发行所经销

北京云浩印刷有限责任公司印刷

三河市东柳装订厂装订

开本 787mm×1092mm 1/16 印张 19 字数 459 千字

2005 年 4 月第 1 版 2005 年 4 月北京第 1 次印刷

ISBN 7-5025-6723-2/Q·139

定 价: 38.00 元

---

**版权所有 违者必究**

该书如有缺页、倒页、脱页者, 本社发行部负责退换

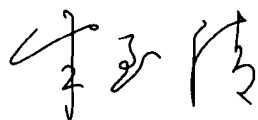
## 序

20世纪70年代细胞生物学和分子生物学的迅速发展导致了植物细胞工程和基因工程的建立，两者的结合构成了现代植物生物技术。30多年来，植物生物技术在农业、林业、园艺和医药业上得到广泛应用，催生了一批新型生物产业，显示出巨大的生命力。有鉴于此，近年来植物生物技术作为一门重要的技术学科也在综合性大学和农林院校普遍开设。

国内已有多本分别论述植物细胞工程或植物基因工程的专著问世，但是还缺少一本对细胞工程和基因工程两方面均有详细阐述的植物生物技术教科书，肖尊安博士等的新作《植物生物技术》正好弥补了这方面的不足。该书的作者，北京师范大学的肖尊安博士、华中科技大学的余龙江博士、中国农业大学的李永春博士和王国英博士、北京林业大学的陈己任博士和王华芳博士、北京理工大学董润安博士以及中国林业科学院的孙振元博士，在植物生物技术的教学和科研上都有多年的工作经验，他们撰写的新书具有理论与实践相结合的特点，除了对生物技术的基本原理有透彻的阐述，对各种生物技术的具体方法的要点和操作流程也有比较详细的介绍，因此该书不仅可以作为大专院校的教学参考书，对于从事植物生物技术研究和应用的人员也有重要的参考价值。

生物技术源起于细胞生物学和分子生物学，同时也是推进生物学基础学科发展的有力工具。近年来植物生物技术，特别是转基因技术已经被广泛用于研究基因的功能、细胞的分化和植物发育过程的调控，并且取得了许多重要的研究成果，在肖尊安主编的这本《植物生物技术》中对于这些新的研究成果也有所论述，因此从事植物细胞生物学、植物分子生物学、植物功能基因组学和植物发育生物学的研究人员也会对该书产生浓厚的兴趣。

相信肖尊安主编的《植物生物技术》会成为植物生物技术教学和科研人员的有力助手，希望该书的出版对我国植物生物技术的进一步发展产生推动作用。



中国科学院植物研究所

2005年3月23日

# 前 言

21世纪是生命科学的世纪,伴随着生物技术和新兴生物产业的发展,将从生物技术研发领域形成一个又一个国民经济新的增长点。为适应新世纪我国社会经济的发展,培养生物技术方面的人才,我们在多年教学和科研的基础上,将植物生物技术中的植物组织培养、植物细胞工程和植物基因工程的内容进行了整合,编写了《植物生物技术》一书。

第一章~第四章讨论植物生物技术的发展、植物细胞的全能性、操作技术和培养细胞的形态建成;第五章~第十章讨论植物细胞工程的研究领域,内容包括试管苗的快速繁殖、培养细胞突变体的诱导和筛选、有用次生代谢产物的生产、单倍体和多倍体细胞培养、原生质体培养和体细胞杂交以及无病毒苗木的培育和种质资源保存;第十一章~第十五章介绍植物基因工程,内容包括植物基因的克隆、植物细胞的遗传转化、DNA分子标记、转基因植物的性状改良和转基因植物的安全性及其评价。本书在讨论相关技术原理和理论的基础上,介绍了植物生物技术的特点、研究策略和发展方向,为读者了解和学习植物生物技术展现了比较广阔的视野,以期为我国植物生物技术教学和科研尽一点微薄之力。本书可以作为大专院校生物技术相关课程的教材,也可供研究生和有关科技人员参考。

参加本书编写的人员有:北京师范大学肖尊安博士(第一章~第七章、第九章、第十章、第十二章、第十四章、第十五章),华中科技大学余龙江博士(第十三章),中国农业大学李永春博士和王国英博士(第十一章),北京林业大学陈己任博士和王华芳博士(第八章),北京理工大学董润安博士(第十章),中国林业科学研究院孙振元博士(第十五章)。

由于编写者水平有限,难免出现错误,殷切期盼同行专家、教授和广大读者批评指正。

编者

2004年11月10日

# 目 录

<b>第一章 植物生物技术发展简介</b> .....	1
一、植物生物技术发展简史.....	1
二、植物生物技术主要领域的发展.....	3
参考文献.....	6
<b>第二章 植物细胞的全能性</b> .....	7
第一节 植物细胞脱分化与感受态细胞发生.....	7
一、细胞周期与脱分化.....	7
二、植物细胞脱分化的条件和特征.....	8
三、感受态细胞.....	8
第二节 植物细胞的决定作用.....	11
一、诱导细胞决定的信号分子.....	11
二、决定细胞的细胞特征.....	13
三、细胞决定作用发生的时期.....	15
第三节 细胞和组织分化.....	15
一、维管束组织的分化.....	16
二、导管细胞分化的分子调控.....	16
三、培养基成分对维管束分化的影响.....	16
第四节 细胞全能性在细胞培养过程中的变化.....	17
一、愈伤组织的驯化.....	17
二、长期培养物形态发生潜力的丧失.....	18
参考文献.....	18
<b>第三章 实验室的要求和基本操作技术</b> .....	19
第一节 实验室设备.....	19
一、准备实验室.....	19
二、无菌操作室.....	20
三、培养室.....	20
第二节 培养基.....	21
一、无机营养.....	22
(一) 大量元素.....	22
(二) 微量元素.....	25
二、有机营养.....	26
(一) 维生素.....	26
(二) 氨基酸和酰胺.....	27
(三) 碳源.....	28

三、植物生长调节剂 .....	29
(一) 生长素 .....	29
(二) 细胞分裂素 .....	29
(三) 赤霉素和脱落酸 .....	29
(四) 其他生长活性物质 .....	30
四、凝胶剂 .....	30
(一) 琼脂 .....	30
(二) 琼脂糖 .....	30
(三) Gelrite .....	30
五、培养基类型 .....	30
六、培养基的配制 .....	31
第三节 植物材料的表面消毒 .....	32
一、消毒剂 .....	32
二、外植体表面消毒 .....	32
参考文献 .....	33
<b>第四章 培养细胞的形态建成</b> .....	34
第一节 愈伤组织诱导和生长调节 .....	34
一、愈伤组织的诱导 .....	34
二、愈伤组织生长的调节 .....	34
第二节 器官建成 .....	35
一、培养细胞器官建成的特征 .....	35
二、器官建成过程中培养细胞的生理变化 .....	36
(一) 蛋白质和核酸变化 .....	36
(二) 碳水化合物和呼吸变化 .....	36
(三) 内源激素水平的变化 .....	36
(四) 多胺水平的变化 .....	37
三、诱导器官建成的特异性基因 .....	37
(一) 不定根发生的特异性基因 .....	37
(二) 不定芽发生的特异性基因 .....	38
四、器官发生的假说 .....	41
(一) 激素学说 .....	41
(二) 拟分生组织学说 .....	41
(三) 位置效应理论 .....	42
(四) 胞间信息传递假说 .....	43
第三节 体细胞胚胎建成 .....	43
一、体细胞胚胎建成的特征 .....	43
(一) 形态与解剖 .....	43
(二) 体细胞胚胎建成的途径 .....	44
(三) 体细胞胚胎建成的过程 .....	44
二、胚性细胞的生理变化 .....	48

三、体细胞胚发生的基因表达 .....	50
四、体细胞胚胎建成的假说 .....	52
第四节 培养细胞形态建成的调节 .....	53
一、外植体的选择 .....	53
二、培养基成分 .....	55
三、培养的环境条件 .....	57
参考文献 .....	58
<b>第五章 试管苗的快速繁殖 .....</b>	<b>60</b>
第一节 试管苗繁殖的基本步骤 .....	60
一、组培苗的建立 .....	60
二、组培苗的增殖 .....	61
三、生根 .....	63
(一) 壮苗 .....	63
(二) 诱导生根的条件 .....	63
(三) 诱导生根的方法 .....	63
四、移栽 .....	64
(一) 组培苗的生长发育特征 .....	64
(二) 炼苗 .....	64
(三) 移栽条件 .....	64
第二节 人工种子 .....	65
一、人工种子的种类和制备 .....	65
(一) 人工种子的种类 .....	65
(二) 人工种子的制备 .....	65
二、人工种子的萌发 .....	67
参考文献 .....	67
<b>第六章 培养细胞突变体的诱导和筛选 .....</b>	<b>68</b>
第一节 突变细胞的来源 .....	68
一、体细胞无性系变异的特征 .....	68
二、体细胞无性系变异的来源 .....	68
(一) 外植体细胞来源的变异 .....	69
(二) 离体培养诱导的变异 .....	71
第二节 培养细胞突变发生的机理 .....	73
一、染色体数目变化 .....	73
二、染色体结构和 DNA 多态性的变化 .....	74
三、基因突变 .....	74
四、基因扩增 .....	75
五、细胞质基因变异 .....	75
六、转座因子活化 .....	76
七、DNA 甲基化 .....	76
第三节 诱导培养细胞突变的主要类型 .....	76



一、氨基酸和氨基酸类似物抗性选择 .....	77
二、抗病性选择 .....	77
三、除草剂抗性的选择 .....	78
四、耐盐性选择 .....	79
五、其他性状选择 .....	79
第四节 培养细胞变异的筛选和鉴定 .....	79
一、一般筛选程序 .....	80
二、不同培养物的筛选 .....	80
三、体细胞无性系的鉴定 .....	81
参考文献 .....	82
<b>第七章 有用次生代谢产品的生产 .....</b>	<b>83</b>
第一节 细胞培养 .....	83
一、悬浮细胞的来源和起始培养 .....	83
二、悬浮细胞培养方式 .....	85
(一) 分批培养 .....	85
(二) 连续培养 .....	86
三、固定化培养 .....	86
(一) 包埋技术 .....	87
(二) 吸附技术 .....	88
(三) 共价结合技术 .....	88
四、植物细胞反应器的类型 .....	89
(一) 悬浮培养生物反应器 .....	89
(二) 固定化细胞生物反应器 .....	90
五、培养细胞生长量和活力分析 .....	92
(一) 细胞生长量的分析 .....	92
(二) 培养细胞活力的测定 .....	92
第二节 培养细胞生产有用次生代谢产物 .....	92
一、有用次生代谢产物的种类 .....	93
二、培养细胞的生产特征 .....	93
三、两步培养法生产次生代谢产物 .....	93
(一) 培养基成分 .....	95
(二) 培养条件 .....	96
四、诱发反应 .....	97
五、生物转化 .....	98
(一) 单萜烯的生物转化 .....	99
(二) 甾类激素的生物转化 .....	99
(三) 吲哚碱和紫杉醇的生物转化 .....	101
参考文献 .....	101
<b>第八章 单倍体和多倍体细胞培养 .....</b>	<b>102</b>
第一节 花药和花粉培养 .....	102

一、花药培养技术	102
二、影响花药培养的因素	103
三、雄核发育单倍体发生途径	106
四、花粉培养	106
第二节 未受精胚珠和子房培养	109
一、未受精子房培养	109
二、未受精胚珠培养	110
三、胚囊培养	110
四、离体雌核发育的胚胎研究	110
第三节 胚乳细胞培养	111
一、外植体的选择与接种	111
二、愈伤组织诱导	112
三、器官发生诱导	112
四、体细胞胚发生	114
五、培养条件	114
六、胚乳愈伤组织的细胞学特征	114
第四节 离体授粉和受精	114
一、离体授粉	114
二、胚珠和子房培养	116
三、影响离体授粉结实的因子	117
四、离体受精	118
参考文献	119
<b>第九章 原生质体培养和体细胞杂交</b>	<b>121</b>
第一节 植物原生质体培养	121
一、植物原生质体的分离	121
(一) 分离原生质体的酶液成分	121
(二) 分离原生质体的主要步骤	123
(三) 分离原生质体的材料	123
(四) 微原生质体的分离	124
(五) 原生质体的活力检测	125
二、原生质体培养	126
(一) 原生质体培养基	126
(二) 原生质体培养方法	127
(三) 培养条件和原生质体生长发育	128
第二节 植物体细胞杂交	129
一、原生质体融合的方法	129
(一) $\text{NaNO}_3$ 处理	129
(二) 高 pH/高浓度钙处理	129
(三) PEG 处理	130
(四) 电融合	131

二、体细胞杂交的类型	132
(一) 细胞质杂交	132
(二) 微细胞杂交	133
(三) 细胞核的吸收	135
三、体细胞杂种的选择和鉴定	135
第三节 体细胞杂种的遗传	136
一、核对称体细胞杂种	137
二、核不对称体细胞杂种	137
三、细胞质基因组的遗传	138
参考文献	140
<b>第十章 无病毒苗木培育和种质资源保存</b>	142
第一节 植物病毒的主要类型	142
一、植物病毒的概念	142
二、植物病毒的主要类型	142
第二节 植物病毒传播及其在植物体中的移动和分布	144
一、植物病毒传播	144
(一) 介体传播	144
(二) 非介体传播	145
二、植物病毒在植物体内的移动	145
第三节 无病毒苗的培育和鉴定	146
一、培育无病毒苗的途径	146
(一) 组织培养脱除病毒	146
(二) 物理或化学方法脱除病毒	148
二、脱毒苗的鉴定	149
第四节 种质资源保存	150
一、低温保存	150
二、冷冻保存	151
(一) 冷冻	151
(二) 贮存	153
(三) 解冻	153
(四) 重新培养	154
参考文献	154
<b>第十一章 植物基因的克隆</b>	155
第一节 植物基因的结构和功能	155
一、植物基因的结构和特点	155
(一) 植物基因的启动子	156
(二) 植物基因的增强子序列	156
(三) 植物基因的起始子序列	157
(四) 植物基因的加尾信号序列	157
(五) 植物基因的密码子偏好	157

二、植物功能基因的类型	157
第二节 基因克隆的载体	158
一、质粒载体	159
(一) 质粒的生物学特性	159
(二) 质粒载体的特征	159
(三) 几种常见的质粒载体	160
二、噬菌体载体	163
(一) $\lambda$ 噬菌体的生物学特性	163
(二) $\lambda$ 噬菌体载体	164
(三) M13 噬菌体的生物学特性	165
(四) M13 噬菌体载体	165
三、黏粒载体	166
四、人工染色体载体	167
第三节 基因克隆的工具酶	167
一、限制性核酸内切酶及其应用	168
(一) 限制性核酸内切酶的分类和命名	168
(二) II 型限制性核酸内切酶的基本特性	168
(三) 与 II 型核酸内切酶有关的几个概念	169
(四) 限制性核酸内切酶的消化反应	169
二、DNA 连接酶及其应用	169
(一) DNA 连接酶作用的特点	169
(二) DNA 连接反应的条件	170
三、DNA 聚合酶及其应用	170
(一) 大肠埃希菌 DNA 聚合酶 I	170
(二) Klenow 片段	170
(三) T4 DNA 聚合酶	171
(四) 逆转录酶	171
四、修饰性工具酶	171
第四节 基因克隆的策略	173
一、目标 DNA 片段的获得	173
二、载体的选择及制备	174
三、目的 DNA 片段和载体的连接	174
四、重组载体转化宿主细胞	176
五、重组克隆的筛选	176
第五节 植物目的基因的分离克隆方法	178
一、生物芯片	178
二、基因文库的筛选	179
(一) 基因文库的种类	179
(二) 植物核基因组文库的构建	180
(三) 植物 cDNA 文库的构建	181

(四) 植物基因文库的筛选	181
三、蛋白质组学	184
四、mRNA 差异显示	184
五、插入失活技术	185
六、图位克隆方法	186
七、其他新方法	187
(一) 基于生物信息学的基因克隆	187
(二) 抑制性消减杂交	187
(三) 代表性序列差别分析	188
(四) 基因表达系列分析	189
参考文献	190
<b>第十二章 植物细胞的遗传转化</b>	<b>191</b>
<b>第一节 农杆菌介导的遗传转化</b>	<b>191</b>
一、根癌农杆菌及其 Ti 质粒	191
二、农杆菌介导的遗传转化机理	193
(一) 感染	194
(二) 致病区蛋白的激活和作用	196
(三) T-DNA 整合到植物基因组	197
三、Ti 质粒的改造和利用	198
(一) 一元载体系统	199
(二) 双元载体系统	199
(三) 选择标记基因和报告基因	200
四、农杆菌介导的基因转移方法	203
(一) 叶圆片法	204
(二) 共培养法	204
(三) 直接接种法	204
<b>第二节 基因直接转移方法</b>	<b>204</b>
一、化学方法	204
(一) PEG 诱导法	205
(二) 脂质体导入法	205
二、物理转化方法	205
(一) 基因枪法	205
(二) 电激法	206
(三) 显微注射法	207
三、农杆菌微弹方法	207
<b>第三节 转基因表达的调控</b>	<b>207</b>
一、组成型表达	208
二、诱导型表达	208
(一) 非植物来源的表达体系	209
(二) 植物对环境信号反应的表达体系	212

(三) 植物发育的表达体系·····	214
三、基因瞬时表达和稳定表达·····	219
第四节 外源基因在转基因植物中的表达·····	219
一、外源基因拷贝数量、插入位点与排列·····	219
二、外源基因表达序列特征·····	221
三、外源基因表达的沉默·····	221
(一) 转录水平的基因沉默·····	222
(二) 转录后水平的基因沉默·····	223
第五节 外源基因清除技术·····	226
一、共转化·····	227
二、位点特异性重组·····	227
三、转座·····	227
四、不使用选择标记基因·····	228
参考文献·····	228
<b>第十三章 DNA 分子标记</b> ·····	229
第一节 非 PCR 依赖的分子标记·····	229
一、限制性片段长度多态性标记·····	229
(一) 基因组 DNA 的限制性酶切·····	230
(二) Southern 印迹·····	231
(三) 使用放射性探针进行杂交·····	232
二、染色体原位杂交·····	233
第二节 基于 PCR 的分子标记·····	234
一、随机扩增多态性 DNA·····	235
二、DNA 扩增指纹印迹·····	237
三、随机引物聚合酶链反应·····	237
四、简单序列重复·····	238
五、扩增片段长度多态性·····	241
(一) AFLP 反应过程·····	241
(二) AFLP 技术的优缺点·····	243
六、特异 PCR 标记·····	245
第三节 DNA 分子标记的应用·····	246
一、遗传多样性与亲缘关系研究·····	246
二、图谱定位控制重要性状的基因·····	248
三、分子标记辅助选择·····	249
四、比较基因组研究·····	249
五、杂种优势预测·····	252
第四节 生物芯片·····	252
一、生物芯片的种类·····	252
(一) 基因芯片·····	252
(二) 蛋白质芯片·····	255

(三) 芯片实验室·····	255
二、生物芯片技术的应用·····	255
参考文献·····	257
<b>第十四章 转基因植物的性状改良</b> ·····	<b>259</b>
<b>第一节 抗虫害</b> ·····	<b>259</b>
一、微生物来源的抗虫基因·····	259
二、高等植物来源的抗虫基因·····	261
(一) 蛋白酶抑制剂·····	261
(二) 植物外源凝集素·····	262
<b>第二节 抗病毒病害</b> ·····	<b>262</b>
一、外壳蛋白基因·····	262
二、卫星 RNA·····	263
三、核糖体灭活蛋白·····	264
<b>第三节 抗细菌和真菌病害</b> ·····	<b>264</b>
一、抗菌蛋白·····	265
(一) 几丁质酶和葡聚糖酶·····	265
(二) 抗菌肽·····	265
二、诱导超敏反应的抗性蛋白·····	265
<b>第四节 抗除草剂</b> ·····	<b>267</b>
一、修饰除草剂的靶蛋白·····	267
(一) 抗草甘膦除草剂·····	267
(二) 抗磺酰脲类与咪唑啉类除草剂·····	268
(三) 抗阿特拉津除草剂·····	268
二、解毒蛋白·····	268
<b>第五节 抗逆性</b> ·····	<b>269</b>
一、抗干旱和盐碱·····	269
二、抗寒·····	270
(一) 甘油-3-磷酸酯酰基转移酶·····	270
(二) 抗冻蛋白·····	270
三、抗重金属污染·····	271
<b>第六节 植物品种品质的改良</b> ·····	<b>271</b>
(一) 种子贮藏蛋白·····	271
(二) 淀粉和糖类·····	272
(三) 脂肪酸·····	273
(四) 维生素·····	274
(五) 延迟果实成熟·····	274
<b>第七节 植物生长发育的调节</b> ·····	<b>276</b>
(一) 调节内源激素水平·····	276
(二) 调节小孢子或花粉发育·····	277
(三) 调节甜味蛋白和花色素成分·····	278

第八节 药物生产.....	278
(一) 抗体.....	278
(二) 可食疫苗.....	280
参考文献.....	281
<b>第十五章 转基因植物的安全性及其评价.....</b>	<b>283</b>
第一节 转基因植物的安全性.....	283
一、选择标记基因.....	283
二、超级草.....	284
三、转基因食品.....	284
四、转基因植物对生物多样性的影响.....	285
第二节 转基因植物的安全性评价.....	286
参考文献.....	287



# 第一章 植物生物技术的发展简介

植物生物技术属于生物技术研究领域之一。按照联合国粮农组织《生物多样性公约》中对生物技术的定义, 生物技术指利用生物系统、活生物体或者其衍生物, 为特定用途而生产或改变产品或过程的任何技术应用。植物生物技术由植物组织培养、植物细胞工程和植物基因工程三部分组成。广义的植物生物技术指提高和改良农作物产量、品质的所有技术; 狭义的植物生物技术指利用植物器官、组织、细胞和通过分子水平的操作, 促进植物繁殖、有用物质生产和植物品种遗传改良的技术。本书讨论的内容属于狭义植物生物技术范畴。

## 一、植物生物技术发展简史

植物生物技术的起源可以追溯到 19 世纪 30 年代, Schleiden 在细胞理论中提出了细胞的全能性, 但没有引起同时代学者的关注。直到 1902 年, 德国植物生理学家 Gottlieb Haberlandt (1854~1945) 提出植物细胞全能性的理论, 即植物体细胞在适当的条件下, 具有不断分裂和繁殖、发育成完整植株的能力。他首次培养小野芝麻和凤眼莲叶栅栏组织细胞以及虎眼万年青表皮细胞的成功, 标志着现代植物生物技术的开始, Haberlandt 也被称为植物组织培养之父。从 Haberlandt 到现今的 100 多年间, 通过许多开创性的研究 (表 1-1), 使植物生物技术逐步成熟并取得巨大成果。

表 1-1 植物生物技术 100 年发展历程

年份	主要进展
1902	G. Haberlandt 开创植物组织培养的实验, 提出细胞全能性学说
1904	B. Hannig 首次探讨十字花科植物的胚胎培养
1922	L. Knudson 非共生萌发兰花种子
1922	W. J. Robbins 根尖离体培养
1924	F. Blumenthal 和 P. Z. Meyer 利用乳汁诱导胡萝卜根外植体形成愈伤组织
1925	F. Laibach 培养亚麻植物种间杂交的胚胎
1929	F. Laibach 通过胚胎培养克服亚麻植物种间杂交不亲和的现象
1934	R. J. Guatheret 离体培养不同树木和灌木的形成层组织, 失败
1934	P. R. White 长期培养番茄根获得成功
1934	F. Kogl 等鉴定出植物第一种激素 IAA
1939	R. J. Gautheret 等成功培养持续生长的愈伤组织
1940	R. J. Gautheret 诱导榆属愈伤组织形成不定芽
1941	J. van Overbeek 等研究椰子乳对曼陀罗属的植物幼胚生长和发育的影响
1942	R. J. Gautheret 观察到植物愈伤组织培养中产生次生代谢物质
1944	F. Skoog 诱导烟草离体培养物形成不定芽
1945	S. W. Loo(罗士韦) 培养芦笋茎尖
1946	E. Ball 获得羽扇豆属与旱金莲植物茎尖培养的完整植株