

壹、植物組織培養發展概況

利用植物各部位如根、莖、葉、芽、花芽、花序、子房、珠被、胚珠、花藥、花粉及胚等器官、組織或細胞當起始之培養材料，或稱之為培植體(explant)，無菌培養於透光容器內，提供無機鹽類、糖類、維生素、氨基酸或其他有機成分及生長調節物質，並控制溫度與光線或氣體等環境因子，促使培植體生長分化及再生，或養育出獨立個體之小植株(plantlet)。此系列之操作統稱為體外培養技術(*in vitro* technology)，即為慣稱之組織培養(tissue culture)。

組織培養在農業上之應用發展居重要角色，特別在園藝作物之加速繁殖、高品質健康種苗生產及作物改良上皆產生直接效益。

十九世紀末，植物學家注意到植物組織細胞在扦插無性繁殖時，具有分化芽或根的能力，並開始對這一方面進行研究。從組織培養百年之發展歷程，概可分為早期啓蒙階段、無菌培養繁殖蘭科模式作物、生長調節劑應用於分化、體胚發生與細胞全能性，1970年代後建立體細胞雜交技術，在1980年代後組織培養與重組DNA兩大體外生物技術整合。

普林斯頓大學White氏的研究室早在1930年代進行蕃茄根尖培養，於液體培養基可連續生長，經分切繼代培養(subculture)仍可再生長，並發現酵母抽出物Glycine及Pyridoxin等物質，為體外培養的重要生長物質。White氏所建立之培養基成為體外培養之基本配方之一。Gantheret及White於1939分別在菊芋及煙草培植體誘導癒合組織形成，並可繼代培養維持未分化薄壁細胞群。

植物內生賀爾蒙在1960年代前後大部分已被揭曉，體外培養技術提供生長素活性及生理作用檢定之重要依據，Skog及Miller(1959)發現癒合組織不定芽與不定根形成受Cytokinin及Auxin的濃度及相對比例之影響。培植體經由不同生長素組合及程序變換，可控制其在體外之再生及發育方向，高濃度之(Auxin)促使培植體逆分化，形成癒合組織及癒合組織再生不定根，而Cytokinin有助癒合組織形成，並促進再分化誘導多數之不定芽或擬胚(embryoid)發生。

Murashige及Skog(1962)以煙草癒合組織檢定體外培養系統，開發出完整人工培養基，因此僅需稍加調整生長調節劑，幾可適合進行大多數作物之體外培養，此MS配方被列為體外培養之基本培養基。

體外培養再生研究與應用，以蘭科作物為前驅材料，因其原被列為稀有貴族花卉，主要受限於其繁殖效率。其子房雖含有大量的胚珠，但果莢成熟時，其有性胚乃停滯於細胞之球胚期，分化不完全胚，有賴蘭菌根共生才發育，但成活率非常有限。Knudson (1943, 1946)建立蘭花非共生發芽之無菌播種，提供簡單無機鹽類、碳源及有機物，原始胚在體外繼續完成胚發育，生長為原球芽體(proto-corm)，相當於分化完整的雙極胚體，並發芽成苗，是為蘭花實生繁殖上一大突破。

法人Morel (1952, 1960)發現東亞蘭之莖頂 (shoot apex) 在體外具很強再生能力，可誘長分化出原球芽體，經分切繼代培養大量再生增殖，突破蘭花無性繁殖之瓶頸。從莖分生組織(meristem)再生增殖所獲得之小植株群，其遺傳特性一致，亦屬無性繁殖，故另稱為分生營養系(mericlone)，此高效率之加速增殖系統造成蘭花無性繁殖大革命。

Steward氏等(1964)從胡蘿蔔塊根組織逆分化取得的單細胞，誘使形成胚狀體，稱之擬胚(embryoid)，並可發芽長成小植株。以細胞為培養及再生之單位，是為植物體外培養發展重要轉折點。

另由未受精胚珠，如非洲菊可由卵細胞進行孤雌生殖(gynogenesis)發育成單倍體擬胚。由以上事例證實體細胞或減數分裂產物單倍體雌雄配子之性細胞，具有如同受精卵細胞之胚分化(embryogenesis)能力，而再生成獨立個體。細胞核內遺傳物質與細胞質具完整基因組，給予適當誘導條件，便具有再生為個體之能力，此原理之應用，促使器官再生作用(organogenesis)，進而途徑跨進體胚再生作用(somatic embryogenesis)。

(Cooking, 1960)發現植物之細胞壁，經由酵素處理可分解掉，得到無細胞壁的植物細胞稱之原生質體(protoplast)。原生質體互相接觸其細胞膜會發生融合，而合成一個細胞(Power等氏, 1970)。Carlson(1972)首先報告原生質融合(proto-plast fusion) 而再生出小植株，此技術稱之細胞雜交(cell hybridization)。Melchers氏等(1978)由蕃茄及馬鈴薯不同屬間進行體細胞雜交，並再生培育出新的作物種，此在體外培養發展上為一重要里程碑。