

分蔥利用莖頂培養生產無病毒種苗之研究

陳宥庄¹⁾ 李文汕²⁾ 張武男³⁾

關鍵字：分蔥、莖頂培養、去病毒

摘要：分蔥'佳里'、'學甲'、'福建'、'菲律賓'及'泰國'品系(品種)以250、500及750 μm 不同莖頂大小培養，進行無病毒植株之培育，250 μm 之分蔥莖頂所得之平均芽數、長芽率及培植體存活率較低，但獲得無病毒植株之百分比最高，750 μm 之分蔥莖頂所得之平均芽數最高，但獲得無病毒植株之百分比最低。

前 言

分蔥為多年生草本，一般以二年生栽種，鱗莖易分蘖，分蘖的鱗莖僅基部連結，常供作繁殖之用(黃, 1995)。分蔥適於冷涼氣候，高溫則休眠，生育適溫在 20 °C 左右(黃, 1995)，多分佈在東南亞、南亞及非洲少數國家，為許多熱帶國家的重要作物。台灣主要產地為中南部沿海地區之台南縣市、嘉義縣及雲林縣，9~11 月為栽培適期。分蔥之鱗莖與葉均可供食用，為烹調時廣泛使用的食物香料(Bos, 1982)。

大部分栽培的蔥屬作物多以種子繁殖，但當某些種類無法生產有活力之種子或為異質體需要維持時，則需仰賴營養繁殖(Dunstan and Short, 1979a, b; Novak, 1990)。傳統的营养繁殖具有繁殖速率低及病害之傳送(病毒會存在營養組織中)等缺點(Novak, 1990)。分蔥為無性繁殖作物，一旦感染系統性病毒，會經由營養器官代代相傳，使整個營養品系之族群皆感染，鱗莖小且分球數少，致使產量及品質下降，使優良品系遭淘汰，農民沒有利益可圖，甚而使分蔥產業沒落。目前台灣一部分的分蔥種球是由東南亞進口，而東南亞某些品系的分蔥種球會開花，台灣栽培分蔥主要以採收鱗莖為主，農民怕開花會使分蔥產量降低，因此多將會開花的分蔥植株拔除，因而在栽培上產生了許多的問題。

-
- 1) 國立中興大學園藝學系研究生。
 - 2) 國立中興大學園藝學系副教授。
 - 3) 國立中興大學園藝學系教授，通訊作者。

病毒在植株的分佈不均，莖頂及根尖通常不含病毒或含量極低 (Wang and Hu, 1980 ; George, 1993)，生長點或莖頂培養為無病毒之健康種苗生產最簡便且最有效的技術 (林, 1985 ; Hansen, 1985 ; 蔡, 1988 ; Wang and Charles, 1991)，目前台灣草莓及馬鈴薯之無病毒健康種苗已經由莖頂培養而進入實用階段 (林, 1985)。莖頂培養 (shoot apex culture) 乃培植體只帶分生組織部位及葉原體稱為莖頂培養 (馬及許, 1992)。生長點具有最高的潛能可產生與培植體來源相同基因型及表現型之植株 (Wang and Charles, 1991)。因此莖頂培養技術成為獲得無病毒苗之主要方法，以此技術所生產的分蘖無病毒種苗，即可供農民種植之用，減少分蘖種球的進口。

材料與方法

一、分蘖莖頂培養

試驗材料採用 '福建'、'學甲'、'泰國'、'菲律賓' 及 '佳里' 等地方品系 (品種) 之鱗莖，先種植於珍珠石中，使其長芽與發根，以利切取莖頂時之抓握，並確定不是處於休眠狀態。分蘖之生長點位於高於基盤表面的中心，基盤底部多附著髒的物質，致使消毒較不容易，因此於種植一星期後，將鱗莖橫切一半，根仍保留，並剝去外層鱗片數層，以稀釋之肥皂水沖洗，並置超音波振盪器中振盪 30 秒，用流水清洗，於 70 % 酒精浸 30 秒後，經 1 % Clorox 加入 2 滴 Tween 20 浸 10 分鐘 (其中 1 分鐘置超音波振盪器中振盪，其餘手搖)，以無菌水清洗三次，再於解剖顯微鏡 (Olympus, SZS) 下切取大小約為 250、500、750 μm 之莖頂，置於已添加 BA 2 mg/l 及 NAA 1 mg/l 之 MS 固體培養基表面培養 (並以鋁箔紙及腊膜 (Parafilm, American National Can) 封住試管口)。本試驗皆以修改之 Murashige and Skoog (MS) (1962) 之鹽類及有機質為基本配方進行莖頂培養試驗。計 5 品系 (品種)，3 種莖頂大小，共 15 個處理，每一處理 6 重複，每重複 6 支試管。生長箱日/夜溫度為 25 / 20 $^{\circ}\text{C}$ ，每日光照 16 小時，光度 30~50 $\mu\text{mole m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 。培養 70 天後，調查平均芽數 (總芽數 \div 長芽的培植體數)、長芽率 (長芽的培植體數 \div 總培植體數 $\times 100\%$)、癒合組織發生率 (產生癒合組織的培植體數 \div 總培植體數 $\times 100\%$) 及培植體存活率 (存活的培植體數 \div 總培植體數 $\times 100\%$)。經莖頂培養產生之芽體移到發根培養基 (MS 加 NAA 0.5 mg/l) 形成根後，假植在已滅菌之 BVB No.4 介質中 (用 128 格穴盤植)，置於日/夜溫度為 25/20 $^{\circ}\text{C}$ ，光照 16 小時，光度 100~150 $\mu\text{mole m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ，相對濕度 80 % 之生長箱環境中馴化，經兩週後移至溫室，並定植於 6 寸盆中。

調查數據採用 SAS 統計套裝軟體 (SAS Institute, Cary, NC) 中之 PROC ANOVA (analysis of variance procedure) 進行變方分析 ($\alpha = 0.05$)，並以 Fisher's LSD 進行品系 (品種) 與莖頂大小之各平均值比較。其中百分率之數據均經 $\sin^{-1}\sqrt{\text{percentage}}$ 轉換後再進行統計分析。

二、分蔥葉片之病毒檢定

分蔥病毒檢測材料採用切取不同莖頂大小所培養而成之植株，置於溫室生長，於結球前期，摘取中段葉片，以 Dot Blot Immunoassay 方式檢測是否有病毒之存在。病毒血清種類有 GCLV (農試所鄧汀欽博士提供)、LYSV (亞洲蔬菜研究發展中心病理室自製)、SLV (西德 BBA)、OYDV (西德 BBA)、SYSV (西德 BBA)、MbFV (Mite borne Filamentous virus) (西德 BBA) 及 Potyvirus (西德 BBA)。

Dot Blot Immunoassay 的步驟如下：分蔥葉片加入 4°C 之 TBS buffer (0.05 M Tris, 0.75 M NaCl, pH 8.0) 100 μ l 於離心管中，用塑膠棒搗碎，離心 4 分鐘，取上層澄清組織液 2 μ l 點在硝化纖維膜(BIO-RAD, 孔隙度 0.45 μ m)上，每一樣品皆需點在欲處理不同血清之硝化纖維膜上，最後加上對照組 (即帶有病毒之植株，以確定血清是否有作用) 及健康株，標明清楚血清種類。加入 Blocking buffer (TBS 加入 0.03 % skim milk 及 glycine 0.02 %) 10 ml 至塑膠盤中，將樣品硝化纖維膜放入充分浸漬，搖晃 1 小時 (100 rpm)。倒掉 Blocking buffer，加入抗血清 (用 TBS 稀釋 1000 倍或 500 倍)，搖晃 1 小時，倒出。用 working stock (TBS-T, TBS 加稀釋 2000 倍之 Tween 20) 洗三次 (搖晃並每隔 10 分鐘換一次 working stock)。加入抗體 Ig-G (免疫球蛋白, 稀釋 5~40 倍) 浸漬搖晃 1 小時，加入 TBS buffer 淹沒浸漬搖晃 30 分鐘，倒出拍乾，加 substrate buffer (0.1M) 浸 3 分鐘。對照組呈紫色後之樣品硝化纖維膜，用水流洗 2 分鐘後，用手輕微甩乾，再以 Stop solution (即 0.5 % 之 Clorox) 浸泡樣品硝化纖維膜 4 分鐘，並戴手套將葉綠素抹去，再用水大量流洗，置濾紙中吸乾。若有呈色反應者即表帶有病毒。

結果與討論

調查 '福建'、'學甲'、'泰國'、'菲律賓' 及 '佳里' 等品系 (品種) 切取不同莖頂大小培養後之平均芽數、長芽率、癒合組織發生率及培植體存活率。每品系 (品種) 不同莖頂大小的平均芽數，均隨莖頂切取大小的增加而提高 (圖 1.)。不同品系 (品種) 中以 250 μ m、500 μ m 及 750 μ m 之莖頂大小培養，所得之平均芽數依序為：'福建' 為 1.75、2.75 及 4.75，'學甲' 為 2.08、3.15 及 4.77，'泰國' 為 0、0.33 及 0.95，'菲律賓' 為 0、0.17 及 1.42，'佳里' 為 2.33、3.35 及 4.88。由所得之平均芽數可將品系 (品種) 分為兩群，一為平均芽數高者，有 '福建'、'學甲' 及 '佳里'，平均芽數約為 1.75~4.88；一為平均芽數低者，有 '泰國' 及 '菲律賓'，平均芽數約為 0~1.42。長芽率不似平均芽數般有明顯的直線增加趨勢 (圖 1.)，依品系 (品種) 的不同而會有明顯的差異，但皆以 250 μ m 之莖頂的長芽率最低約 0~51.1%，'泰國' 及 '菲律賓' 之長芽率偏低約 0~43.3%。品系 (品種) 間癒合組織的發生亦呈顯著差異 (圖 2.)，'福建'、'學甲' 及 '佳里' 之癒合組織發生率較低，於 10% 以下，而 '泰國' 及 '菲律賓' 之癒合組織發生率較高可達 26.7~83.3%，'泰國' 及 '菲律賓' 之癒合組織發生率以 500 μ m 為最高約 63.3~83.3%。培植體存活率皆以 250 μ m 時為最低

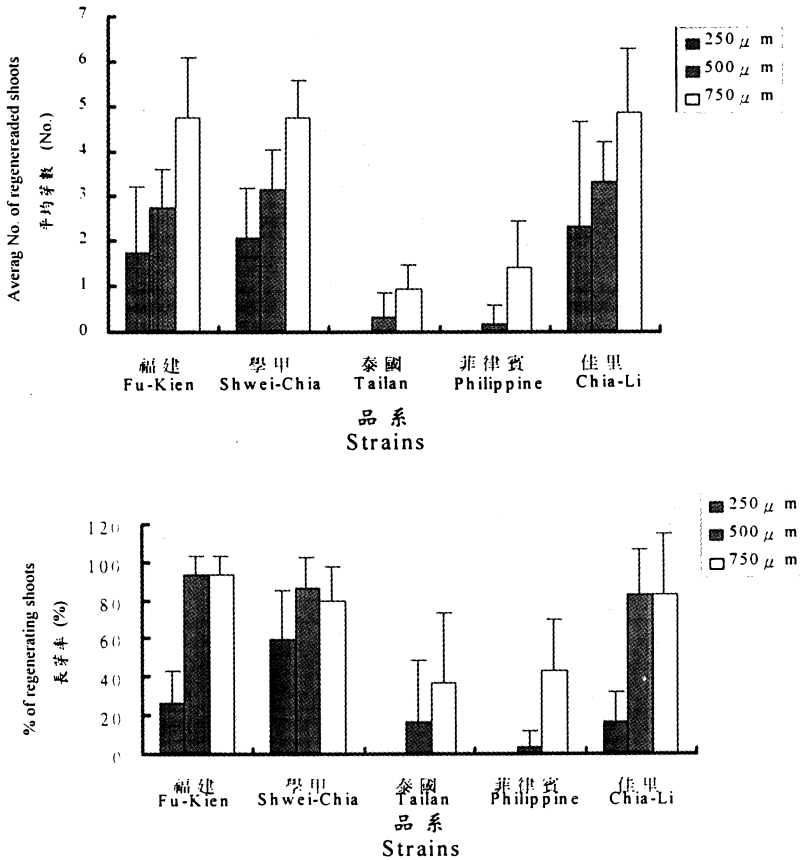


圖 1. 分蔥不同莖頂大小培養之平均芽數及長芽率

Fig. 1. The average number and percentage of regenerated shoots among different shallot strains cultured in different shoot apex sizes.

約 16.7~60%，500 及 750 μm 兩者間則沒有差異，各品系(品種)間之培植體存活率沒有顯著差異(圖 2)。無病毒苗的生產可利用莖頂培養來達成(Wang and Hu, 1980; Sherwood, 1994; 蔡, 1988; Nagata *et al.*, 1992)，但莖頂並不是完全沒有病毒之存在，組織中之病毒會在培養期間消除，至於其消除的機制則仍不清楚。莖頂培養之成活率及獲得健康植株之比較受切取莖頂大小所左右(Kartha and Gamborg, 1975; 林, 1985)。所摘取之莖頂大小與初代培養的成功率有關，摘取部位愈小，成功率愈低，愈大則愈高。但無病毒個體育成率，則恰與此相反(古川, 1988)。以大蒜為例，Havranck (1972) 取 0.4~0.6 mm 大之莖頂培養在 MS 加 NAA (5.4 μM) 形成的芽可獲得 87% 之無大蒜嵌鑲病毒 (GMV) 植

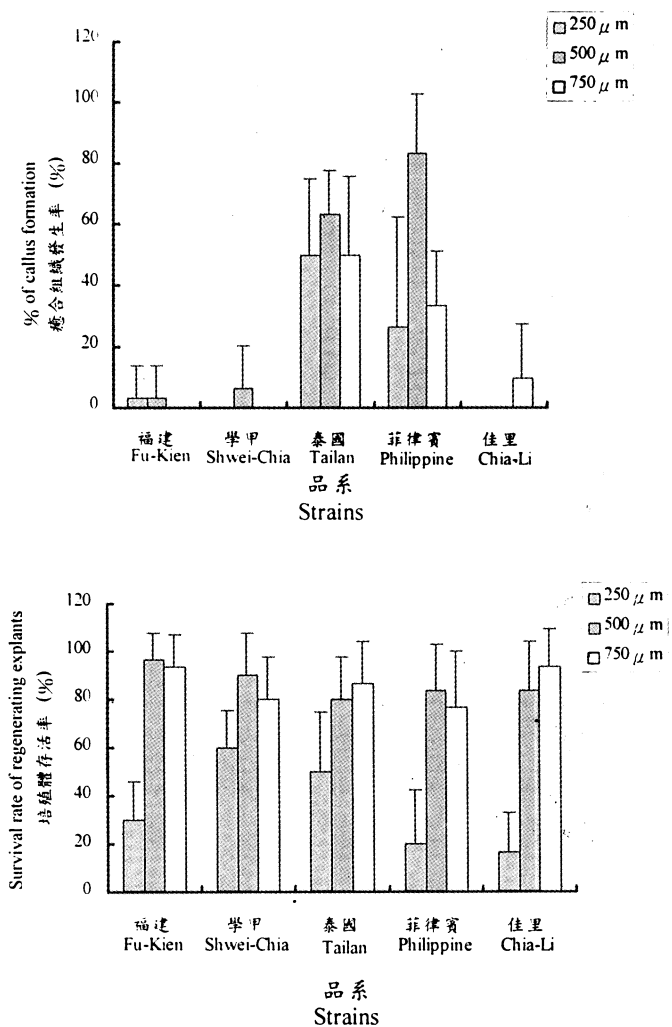


圖 2. 分蘖不同莖頂大小培養之癒合組織發生率及培植體存活率
Fig. 2. The percentage of callus formation and survival rate of regenerated explants of 5 different shallot cultured in different shoot apex sizes.

株，大於 0.6 mm 者生長較好，但只產生少數無病毒再生株，而小於 0.4 mm 者則未能成活。因此要去除病毒所取的莖頂應比 0.5 mm 小 (約生長點帶一葉原體)，若比 0.5 mm 大時，去病毒植株的比率將大幅減少 (Novak, 1990)。莖頂大小則成活不易，或僅形成癒合組織 (蔡, 1988)，大蘖莖頂大小為 0.3~0.5 mm 時存活率為 50%，而 0.5~0.8 mm 存活率為 80%。

分蔥切取莖頂 250、500 及 750 μm 大小培養，切取莖頂愈大，平均芽數愈多，長芽率也愈高，培植體存活率也隨著提高，但莖頂 500 及 750 μm 二者之培植體存活率卻相似，而癒合組織發生率卻以莖頂 500 μm 大小最高，因莖頂 250 μm 大小之培植體存活率低，因而將癒合組織發生率拉低。'福建'、'學甲' 及 '佳里' 為易長芽且不易有癒合組織發生之品系 (品種)，而 '泰國' 及 '菲律賓' 為不易長芽但易有癒合組織發生之品系 (品種)。

分蔥之生長點於休眠狀態時深藏在鱗片下，此時生長點體積小，未行細胞分裂，不但切取莖頂困難，且培養成活率低 (林, 1985; Mohamed-Yasseen *et al.*, 1995)，因此，先將分蔥種植一週後長出根和葉，使生長點細胞分裂旺盛，以提高培養成活率，Xu 等人 (1994) 指出大蒜從已打破休眠之鱗莖所切取之莖頂比從休眠之鱗片切取者增殖率高 35~42%。蔥屬植物之馴化並不難，換至發根培養基後，增加光度約 $100\sim150\text{ mole m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ，待其發根後 15 天，整株夾出清洗，並浸在殺菌劑 (如免賴得 1000 倍) 中 30 分鐘後，即可移至土壤中，保持濕度 80% 左右，先遮光 10 天後移至正常環境下即可生長良好。

感染蔥屬蔬菜的病毒種類已有 15 種被報導 (Bos, 1982; Walkey, 1990; Barg, 1994)，包括 GMV (Garlic mosaic virus) (Nagata *et al.*, 1992; Tsuneyoshi and Sumi, 1996)、GLV (Garlic latent virus)、OYDV (Onion yellow dwarf virus) (Walkey, 1990; Xu *et al.*, 1994; Messiaen, 1994; Bos, 1982; Tsuneyoshi and Sumi, 1996)、TMV (Tobacco mosaic virus) (Nagata *et al.*, 1992; Xu *et al.*, 1994)、LYSV (Leek yellow stripe virus) (Xu *et al.*, 1994; Messiaen, 1994; Tsuneyoshi and Sumi, 1996)、SLV (Shallot latent virus) (Xu *et al.*, 1994; Bos, 1982)、OMV (Onion mosaic virus) (Bos, 1982; Xu *et al.*, 1994)、GMbMV (Garlic miteborne mosaic virus) (Tsuneyoshi and Sumi, 1996)、GYSV (Garlic yellow stripe virus) (Messiaen, 1994)、GCLV (Garlic common latent virus) (Barg, 1994)、CNSV (Cycas necrotic stunt virus)、TSWV (Tomato spotted wilt virus)、Potyvirus (Nagata *et al.*, 1992; Messiaen, 1994; Bos, 1982; Barg *et al.*, 1994; Tsuneyoshi and Sumi, 1996) 及 Carlavirus (Messiaen, 1994; Bos, 1982; Barg *et al.*, 1994; Tsuneyoshi and Sumi, 1996)。生長點或莖頂培養為無病毒種苗生產最簡便且有效的技術 (Havel and Novak, 1985; 蔡, 1988; 林, 1985)。多位學者曾報導利用生長點培養可以生產無病毒大蒜 (Walkey, 1987; Xu *et al.*, 1987)，但因增殖率太低，限制了田間所需大量的無病毒營養系 (Xu *et al.*, 1994)。

分蔥之葉片組織液以 Dot Blot Immunoassay 進行病毒檢測，可檢測到的病毒種類有 SLV、SYSV、MbFV、OYDV 等。'菲律賓'、'學甲'、'泰國'、'福建' 及 '佳里' 以不同莖頂大小培養後，獲得無病毒健康株百分比之情形，隨著切取莖頂大小的增加，獲得健康株之百分比隨之降低 (表 1)。惟 '菲律賓'，750 μm 莖頂之再生植株 (檢測 4 株) 獲得健康株達 100%。'學甲'，250 μm 莖頂之再生植株 (檢測 7 株) 可獲得健康株最多，為 100%，其次為 500 μm 莖頂之再生植株 (檢測 16 株) 獲得健康株 93.8%，最低者為 750 μm 莖頂之再生植株 (檢測 12 株) 可獲得健康株 25%。'福建'，250 μm 莖頂之再生植株 (檢

表 1. '菲律賓'、'學甲'、'泰國'、'福建' 及 '佳里' 以不同莖頂大小培養後獲得無病毒植株之百分比之比較

Table 1. Comparison of number and percentage of virus-free plants obtained among 5 different shallot as cultured in 3 different shoot apex sizes

品系 Strains	莖頂大小 (μm) Size of shoot apes	檢測株數 No. of plant tested	罹病毒株 ^z No. of virus detected plants	無病毒株 (%) No. of virus-free plants
菲律賓 Philippine	750	4	0	100
學甲 ShweiiChia	250	7	0	100
	500	16	1 (S-1)	93.8
	750	12	9 (S-7; Mb*S-2)	25.0
福建 Fu-Kien	250	8	0	100
	500	17	2 (Mb-2)	88.2
	750	26	10 (Sy-1; Mb-3; S-3; Mb*S-1; Sy*S-2)	61.5
佳里 Chia-Li	250	58	3 (S-1)	94.8
	500	97	7 (S-6; S*Sy-1)	92.8
	750	31	8 (Mb-3; S-4; Mb*S-1)	74.2
泰國 Tailand	250	3	1 (O-1)	66.7
	500	6	2 (O-2)	33.3

^z 前面字母 S 表分蔥潛伏病毒 (SLV)；Sy 表分蔥黃條紋病毒 (SYSV)；Mb 表瑞生絲狀病毒 (MbFV)；O 表洋蔥黃矮病毒 (OYDV)；Mb*S-1 表 MbFv 與 SLV 複合感染；後面之數字代表感染該病毒之植株數。

^z Meaning of the front alphabets, S: Shallot latent virus (SLV)；Sy: Shallot yellow stripe virus (SYSV)；Mb: Mite borne filamentous virus (MbFV)；O: Onion yellow dwarf virus (OYDV)；Mb*S-1: MbFV and SLV mixed infection；The rear number means the number of plants infected by the virus.

測 8 株) 獲得健康株達 100%，其次為 500 μm 莖頂之再生植株 (檢測 17 株) 獲得健康株 88.2%，最低為 750 μm 莖頂之再生植株 (檢測 26 株) 獲得健康株 61.5%。'佳里'，250 μm 莖頂之再生植株 (檢測 58 株) 可獲得健康株，為 94.8%，其次為 500 μm 莖頂之再生植株 (檢測 97 株) 可獲得健康株 92.8%，最低為 750 μm 莖頂之再生植株 (檢測 31 株)

獲得健康株 74.2 %。'泰國'，250 μ m 莖頂之再生植株 (檢測 3 株) 可獲得健康株 66.7 %，其次為 500 μ m 莖頂之再生植株 (檢測 6 株) 可獲得健康株 33.3 %。

切取分蔥莖頂 250 μ m 時健康株可獲 66.7~100 %，500 μ m 時可獲健康株 33.3~88.2，750 μ m 時健康株減至 25.5~74.2 %。莖頂培養獲得無病毒植株常用之大小為 500 \pm 200 μ m (Bertaccini *et al.*, 1986 ; Nagata *et al.*, 1992 ; Sherwood, 1994)。蔥科中之大蔥以 330 μ m 莖頂大小培養獲得成活率只有 20~30 %，但再生的全部植株皆為無病毒株，Ma 等人 (1994) 培養大蒜之不同莖頂大小 (小於 0.3 mm 不帶葉原體，0.3~0.5 mm 及帶三葉原體)，得到去除 garlic mosaic carlavirus 之機率分別為 77.6、45.4 及 26.5 %。大蒜之一般商業用種蒜屬重病毒級植物達 83.3 %，而以莖頂生長點培養所得之植株屬無病毒級種苗的有 52.1 %，微病毒級種苗有 21.0 %，並無法百分之百的完全去除病毒 (林, 1985)。

本試驗所得之結果，建議分蔥莖頂培養切取之大小為帶一葉原體 (約 300 μ m 大小) 之莖頂。因帶一葉原體時，此葉原體可供給圓錐體生長時所需的內生 auxins，使圓錐體不致死亡，而且僅帶一葉原體，可切到未帶病毒之組織或病毒濃度非常低，因此可獲得較高的存活率及無病毒率。

謝 辭

本試驗進行期間蒙中興大學園藝系王才義老師與亞洲蔬菜研究發展中心 Green 博士提供試驗器材與技術，謹此致謝。

參 考 文 獻

- 林昭雄。1985。熱帶地區大蒜健康種苗培育技術之研究。中華農業研究 34(3)：279-291。
- 林昭雄。1986。台灣蔥科蔬菜生產問題及研究方向。p. 124-137。蔬菜研究及生產改進研討會專刊。
- 洪立、黃涵、嚴新富。1992。蔬菜名彙集。國立台灣大學園藝系。
- 黃鵬。1995。分蔥。p.299-230。農家要覽(二)作物篇。豐年社。
- 馬湖軒、許圳塗。1992。園藝作物組織培養實用技術 p. 15-22。園藝作物組織培養之應用研討會專集。
- 蔡新聲。1988。植物組織培養在農業上之應用 p. 99-114。生物技術專題演講論文集 (二)。
- 古川仁朗。1988。圖解組織培養入門 p. 27-28。誠文堂。東京。

- Barg, E., D. E. Lesemann, H. J. Vetten and S. K. Green. 1994. Identification, partial characterization, and distribution of viruses infecting *Allium* crops in south and southeast Asia. *Acta Hort.* 358: 251-258.
- Bertaccini, A., F. Marani and M. Borgia. 1986. Shoot-tip culture of different garlic lines for virus elimination. *Riv. Ortoflorofruitt. It.*, 70: 97-105.
- Bos, L. 1982. Viruses and virus diseases of *Allium* species. *Acta Hort.* 127: 11-29.
- Dunstan, D. I. and K. C. Short. 1979a. Shoot production from the flower head of *Allium cepa* L. *Sci. Hort.* 10: 345-356.
- Dunstan, D. I. and K. C. Short. 1979b. Shoot production from cultured *Allium porrum* tissues. *Sci. Hort.* 11: 37-43.
- George, E. F. 1993. Controlling persistent contaminants and plant diseases. p. 130-162. In : George, E. F. (ed.) *Plant Propagation by Tissue Culture Part I the Technology*. Butler and Tanner.
- Hanelt, P. 1990. Taxonomy, evolution, and history. In: Rabiowitch H. D., and J. L. Brewster (eds.) Vol. I. *Onions and Allied crops*. p. 2-26. CRC Press.
- Havel, L. and F. J. Novak. 1985. Meristem-tip culture of *Allium cepa* L. *Sci Hort.* 27: 209-214.
- Jones, R. N. 1990. Cytogenetics. p.199-214. In: Rabiowitch H. D., and J. L. Brewster (eds.). *Onion and Allied Crops*. Vol. I. CRC, Press.
- Kartha, K. K. and O. L. Gamborg. 1975. *Phytopathology* 65: 826-828.
- Ma, Y., H. L. Wang, C. J. Zhang and Y. Q. Kang. 1994. High rate of virus-free plantlet regeneration via garlic scape-tip culture. *Plant Cell Reports* 14 (1) : 65-68.
- Messiaen, C. M., H. Lot and B. Delecolle. 1994. Thirty years of france' experience in the production of disease-free garlic and shallot mother bulbs. *Acta Hort.* 358: 275-279.
- Mohamed-Yasseen, Y., S. A. Barringer and W. E. Splittstoesser. 1995. In; vitro bulb production from *Allium* spp. *In Vitro. Cell. Dev. Biol.* 31: 51-52.
- Mohamed-Yasseen, Y., W. E. Splittstoesser and R. E. Litz. 1993. In vitro bulb formation and plant recovery from onion inflorescence. *HortScience* 28 (10): 1052.
- Nagata, R., K. Tomiyama, M. Kawakami, A. Todoroki, T. Kashino and H. Takahashi. 1992. Influence of two kinds of viruses and character of virus-free plantlets on the growth of Japanese Shallots (*Allium chinense* G. Don). *Bull. Miyazaki Agr. Exp. Sta. Japan.* 26: 1-12.
- Novak, F. J. 1990. *Allium* tissue culture. Vol. I In: Rabiowitch H. D., and J. L. Brewster (eds.). *Onions and allied crops*. p. 233-250. CRC Press.
- Sherwood, J. L. 1994. Virus-free plants. p.135~138. In : Dixon, R. A. and R. A. Gonzales (eds.). *Plant Cell Culture A Practical Approach (Second Edition)*. IRL Press. New York.

- Tsuneyoshi, T. and S. I. Sumi. 1996. Differentiation among garlic viruses in mixed infections based on RT-PCR procedures and direct tissue blotting immunoassays. *Etiology* 86 (3): 253-259.
- Walkey, D. G. A. 1990. Virus diseases. Vol. I In: Rabiowitch H. D., and J. L. Brewster (eds.). *Onions and Allied crops*. 191-212. CRC Press.
- Wang, P. J. and A. Charles. 1991. Micropropagation through meristem culture. P. 32-52. In : Bajaj, Y. P. S. (ed.). *Biotechnology in Agriculture and Forestry, Vol. 17 High-Tech and Micropropagation I*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- Wang, P. J and C. Y. Hu. 1980. Regeneration of virus-free plants through *in vitro* culture. *Adv. Biochem. Eng.* 18: 61-99, Springer-Verlag, Berlin.
- Xu P., H. Sun, R. Sun and Y. Yang. 1994. Strategy for the use of virus-free seed garlic in field production. *Acta Hort.* 358: 307-311.

Production of Virus-free Shallot (*Allium cepa* var. *ascalonicum*) by Shoot Apex Culture

Yu Chuang Chen ¹⁾ Wen Shann Lee ²⁾ Woo Nang Chang ³⁾

Key words : Shallot, Shoot Apex culture, Virus-free

Summary

Local and introduced shallot strains 'Chia-Yi'、'Shwei-Chia'、'Fu-Chen'、'Philippine' and 'Thailand' were used to study the influences of shoot apex size for producing virus-free seedlings. When shoot apex culture with size of 250、500 and 750 μ m, the apexes of 250 μ m had the lowest average number of regenerated shoots、percentage of regenerating shoots and survival percentage of regenerating explants. But that of 250 μ m had higher virus-free rate. Apexes of 750 μ m had the best average number of regenerated shoots but lowest in virus-free rate.

1) Graduate student, Department of Horticulture, National Chung Hsing University.

2) Associate professor, Department of Horticulture, National Chung Hsing University.

3) Professor, Department of Horticulture, National Chung Hsing University. Corresponding author.

