

青葱莖頂培養之研究

劉兆烘¹⁾ 張武男²⁾ 曾夢蛟³⁾

關鍵字：青葱、莖頂培養

摘要：本研究探討不同培養基對四季蔥品種(系)新梢誘導之影響、所誘導之四季蔥品種(系)新梢再誘導發根的情形及組培苗出瓶馴化。本研究的目的為探討青蔥莖頂培養發育之生理條件，尋找生長點發育及培植體再生的適宜培養基和培養環境，俾獲得無病毒之健康種苗及大量繁殖技術，提供農民栽培利用。本研究切取'蘭陽 1 號'、'桃園 3 號'及'新竹 821'三品種四季蔥之帶二片葉原體之生長點，培養在 BP、BT1、BT2 及 BT3 四種培養基中，以固體方式進行培養，結果顯示以 BP 培養基最適宜，不但存活率高，產生之芽梢數目也較多。其誘導的芽梢再移到含 B5 配方基本鹽類添加 0.1ppm NAA 之培養基，發根率也最佳。若能配合瓶內馴化技術之應用，提高小苗存活率，可達青蔥組織培養苗商業生產的目標。

前 言

青蔥(*Allium fistulosum* L.)主要栽培品種有北蔥和四季蔥二種(許, 1999)，北蔥種苗大部分為種子繁殖的實生苗，部分北蔥和四季蔥則採無性繁殖的分株苗。青蔥為異交作物，利用實生苗之栽培品種會有異質性之問題，採無性繁殖苗則有繁殖倍率低及帶病毒等缺點(Novak, 1990)。台灣栽培的四季蔥採用無性繁殖，亦出現族群植株感染病毒病情形，不僅降低產量和品質，對產業發展亦有嚴重影響。為避免四季蔥生長勢減退，影響產量，有必要研究發展四季蔥健康種苗及快速繁殖技術。

-
- 1) 國立中興大學園藝學系博士班研究生。
 - 2) 國立中興大學園藝學系兼任教授。
 - 3) 國立中興大學園藝學系教授，通訊作者。

植物組織培養係利用離體細胞、器官或其他具有分生能力的組織，在人工培養基上的生長與分化，已普遍應用於園藝作物之大量快速繁殖、健康種苗生產和品種改良及種源保存。蔥屬作物組織培養研究以大蒜、洋葱和分葱為主，青蔥甚少。李和許(1998)及楊等(2001)雖曾進行四季蔥組織培養之研究，但在培養基和培養環境，以及出瓶後的健化技術上仍存有許多問題有待克服。本研究分別探討不同培養基對四季蔥品種(系)新梢誘導之影響、所誘導之四季蔥品種(系)新梢再誘導發根的情形及組培苗出瓶馴化。期望能建立從無病毒病培植體之取得、培植體增殖之條件、出瓶馴化及繁殖之管理等系列健康種苗生產的技術。本研究的目的是為探討青蔥莖頂培養發育之生理條件，尋找生長點發育及培植體再生的適宜培養基和培養環境，俾獲得無病毒之健康種苗及大量繁殖技術，提供農民栽培利用。

材料及方法

一、試驗材料與培養基

(一)、青蔥品種：本研究供試的青蔥品種(系)計有 '蘭陽 1 號'(Lan Yang No.1)、『桃園 3 號'(Tao Yuan No.3)及『新竹 821'(Hsin Chu 821)等三個四季蔥品種(系)。「蘭陽 1 號」為行政院農業委員會花蓮區農業改良場育成之品種。「桃園 3 號」及『新竹 821」為行政院農業委員會桃園區農業改良場所選育之地方品系。

(二)、培植體取得：

1. 植株水洗後去除葉身、幼根，再切取含短縮莖基盤直徑約 2 公分的葉鞘。
2. 切取的葉鞘以清潔劑清洗，並以 1% 次氯酸鈉(NaOCl) 滴加 Tween20 消毒 15 分鐘，於無菌操作台內取出，再以無菌水清洗三次，利用解剖顯微鏡切取莖基部帶二片葉原體之生長點。

(三)、培養基製備：培養基以 B5 (Gamborg *et al.*, 1968) 配方為基本鹽類，蔗糖濃度為 20g/l。殺菌前，培養基之 pH 值以 KOH 或 HCL 調至 5.7 ± 0.1 ，並加入 6g/l 洋菜粉，培養基分裝至直徑 2.5 cm，高 12 cm 試管，每試管 8 ml 培養基，再以高溫 121°C 與高壓 1.2 kg/cm^2 的滅菌釜滅菌 20 分鐘。培養室溫度 $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ ，光照 16 小時/天，暗期 8 小時，光強度 3,000 lux。

(四)、新梢誘導培養基：

培養基參照 Gamborg *et al.*, (1968) 研發之 B5 培養基，再加以修改。計有下列組合：

1. BP：B5 + 2ip 2ppm + NAA 0.1ppm
2. BT1：B5 + TDZ 0.1ppm + NAA 0.1ppm
3. BT2：B5 + TDZ 0.5ppm + NAA 0.1ppm
4. BT3：B5 + TDZ 1ppm + NAA 0.1ppm

結 果

一、不同培養基對四季葱品種(系)新梢誘導之影響

本研究進行切取四季葱品種(系)之生長點誘導無病毒苗株再生。調查 BP、BT1、BT2 及 BT3 等四種不同培養基配方對四季葱品種(系)新梢誘導結果如表 1 所示。BP 培養基培植體成活數以'新竹 821'品種 9 個最高，'桃園 3 號'及'蘭陽 1 號'二品種均為 8 個。新梢增殖總數亦以'新竹 821'品種 382 個最多，為'桃園 3 號'品種 96 個的 4 倍，亦較'蘭陽 1 號'品種 220 個多 1.8 倍。每重複新梢增殖平均數'新竹 821'、'桃園 3 號'及'蘭陽 1 號'品種，分別為 42.4、12 及 27.5 芽，仍以'新竹 821'品種最高，'蘭陽 1 號'品種次之，'桃園 3 號'品種最少。

BT1 培養基培植體成活數以'蘭陽 1 號'品種的 9 個最多，'新竹 821'品種 7 個次之，最少的'桃園 3 號'品種僅有 5 個，品種間呈顯著差異。新梢增殖總數'蘭陽 1 號'品種高達 103 個最多，'新竹 821'及'桃園 3 號'品種分別為 52 個和 58 個，品種間差異不顯著，但較'蘭陽 1 號'品種少約 1 倍，品種間則呈顯著性差異。每重複新梢增殖平均數'蘭陽 1 號'與'桃園 3 號'品種分別為 11.4 及 11.6 芽，品種間呈不顯著差異，但顯著多於'新竹 821'品種的 7.4 芽。

BT2 培養基對四季葱品種(系)新梢增殖結果，培植體成活數極低，僅有 4-5 個，以'新竹 821'及'桃園 3 號'品種同為 5 個最高，'蘭陽 1 號'品種 4 個最低，品種間差異並不顯著。新梢增殖總數供試三品種呈倍數差異，以'新竹 821'品種 46 個最多，較'桃園 3 號'品種的 26 個多約 1 倍，也較'蘭陽 1 號'品種的 15 個多約 2 倍，而'桃園 3 號'品種較'蘭陽 1 號'品種多約 1 倍，品種間呈顯著性差異。每重複新梢增殖平均數'蘭陽 1 號'與'桃園 3 號'品種均極低，分別為 3.8 與 5.2 芽，'新竹 821'品種則高達 9.2 芽，品種間呈顯著差異。

調查 BT3 培養基對四季葱品種(系)新梢增殖結果以'新竹 821'及'桃園 3 號'品種培植體成活數較高，分別為 7 個與 8 個，'蘭陽 1 號'品種 5 個較低。新梢增殖總數品種間呈極顯著差異，以'桃園 3 號'品種 25 個最多，較'蘭陽 1 號'品種 6 個多 4 倍，也較'新竹 821'品種 25 個多 10 個。每重複新梢增殖平均數介於 1.2~3.1 個，亦以'桃園 3 號'品種之 3.1 個最多，'新竹 821'品種 2.1 個居次，'蘭陽 1 號'品種僅 1.2 個最少，品種間呈不顯著差異。

二、不同培養基誘導之四季葱品種(系)新梢再誘導發根的情形

表二為調查以 BP、BT1、BT2 及 BT3 四種不同培養基配方所誘導再生之四季葱品種(系)芽梢，再移到含 B5 配方基本鹽類添加 NAA 0.1ppm 培養基誘導發根的情形。BP 培養基所培養的'新竹 821'品種之 98 個新梢有 4 個順利發根成功，新梢發根率為 4%。'桃園 3 號'品種的 26 個新梢有 15 個發根成功，發根率為 58%。'蘭陽 1 號'品種之 39 個新梢有 8 個發根，發根率為 21%，品種間呈顯著性差異。

BT1 培養基誘導之四季葱品種(系)新梢在含 B5 配方基本鹽類添加 NAA 0.1ppm 中誘導發根之調查結果，顯示供試'新竹 821'、'桃園 3 號'及'蘭陽 1 號'三品種之發根情形，其中僅'蘭陽 1 號'品種有 1 個新梢發根成功，發根率為 5%，其餘'新竹 821'與'桃園 3 號'品種則全數未發根，故發根率為 0%。

表 1. 不同培養基對三個四季蔥品種(系)新梢增殖之影響

Table 1. Effects of culture mediums on the shoot proliferation of three cultivars (lines) of green onion.

培養基 ^y Medium	品 種 Cultivars (lines)	培植體數目 No. of explants cultivated	培植體成活數 No. of explants survival	新梢增殖數目 Total shoots	新梢增殖率 Shoots per explant
BP	新竹 821	10	9	382	42.4
	桃園 3 號	10	8	96	12.0
	蘭陽 1 號	10	8	220	27.5
	平均值 Mean	10	8.3	232.7	27.3
BT1	新竹 821	10	7	52	7.4
	桃園 3 號	10	5	58	11.6
	蘭陽 1 號	10	9	103	11.4
	平均值 Mean	10	7.0	71.0	10.1
BT2	新竹 821	10	5	46	9.2
	桃園 3 號	10	5	26	5.2
	蘭陽 1 號	10	4	15	3.8
	平均值 Mean	10	4.7	29.0	6.1
BT3	新竹 821	10	7	15	2.1
	桃園 3 號	10	8	25	3.1
	蘭陽 1 號	10	5	6	1.2
	平均值 Mean	10	6.7	15.3	2.1

^y Medium : 1. BP : B5 + 2ip 2ppm + NAA 0.1ppm

2. BT1 : B5 + TDZ 0.1ppm + NAA 0.1ppm

3. BT2 : B5 + TDZ 0.5ppm + NAA 0.1ppm

4. BT3 : B5 + TDZ 1ppm + NAA 0.1ppm

表 2. 以 BP、BT1、BT2 及 BT3 四種不同培養基所誘導再生之三個四季蔥品種(系)芽梢，誘導發根的情形

Table 2. Induction of rooting on three cultivars (lines) of green onion.

培養基 ^y Medium	品 種 Cultivars (lines)	新梢培養數 Total shoots tested	新梢發根數 No. of shoots rooting	新梢發根率 Percentage of rooting (%)
BP	新竹 821	98	4	4
	桃園 3 號	26	15	58
	蘭陽 1 號	39	8	21
	平均值 Mean	54.3	9.0	27.7
BT1	新竹 821	19	0	0
	桃園 3 號	15	0	0
	蘭陽 1 號	20	1	5
	平均值 Mean	18.0	0.3	1.7
BT2	新竹 821	20	1	5
	桃園 3 號	10	0	0
	蘭陽 1 號	6	0	0
	平均值 Mean	12.0	0.3	1.7
BT3	新竹 821	9	0	0
	桃園 3 號	11	0	0
	蘭陽 1 號	3	0	0
	平均值 Mean	7.7	0	0

^y Medium : 1. BP : B5 + 2ip 2ppm + NAA 0.1ppm

2. BT1 : B5 + TDZ 0.1ppm + NAA 0.1ppm

3. BT2 : B5 + TDZ 0.5ppm + NAA 0.1ppm

4. BT3 : B5 + TDZ 1ppm + NAA 0.1ppm

調查 BT2 培養基誘導之四季蔥品種(系)新梢的誘導發根情形與 BT1 培養基誘導之新梢發根情形相似，亦僅一品種且極少數新梢可發根成功，即僅'新竹 821'品種所切取的 20 個新梢有 1 個可以順利發根成功，因此發根率為 5%，其餘'桃園 3 號'品種所切取的 10 個新梢，及'蘭陽 1 號'品種所切取的 6 個新梢，均未能發根成功，故發根率均為 0%。

BT3 培養基誘導之新梢發根情形，在新竹 821'、'桃園 3 號'及'蘭陽 1 號'三品種新梢培養數，分別為 9、11 及 3 個，結果全數未能發根成功，故發根率均為 0%。

三、組培苗出瓶馴化

誘導四季蔥組培苗發根，之後將三個四季蔥品種(系)再生苗株移出定植。供試三品種於發根培養基中培養，新梢發根結果'新竹 821'品種有 4 個、'桃園 3 號'品種有 58 個及'蘭陽 1 號'品種有 21 個，合計 83 個新梢順利發根長成小苗。再視生育情況，選取'新竹 821'品種 4 株、'桃園 3 號'品種 15 株，'蘭陽 1 號'品種 8 株，合計 27 株健壯小苗出瓶移入溫室栽培馴化，經過 60 天後，調查小苗馴化成活率結果列於表 3。表中顯示'新竹 821'品種所定植的 4 株小苗，僅 1 株成活，成活率 25%。'桃園 3 號'品種定植 15 株小苗，有 6 株成活，成活率 40%。'蘭陽 1 號'品種定植小苗 8 株，有 4 株成活，成活率 50%。供試三品種小苗成活數以'桃園 3 號'品種的 6 株最多，'蘭陽 1 號'品種 4 株次之，'新竹 821'品種僅 1 株最少，成活率雖亦以'新竹 821'品種的 25% 最低，但成活數最高的'桃園 3 號'品種其小苗成活率仍以 40% 少於'蘭陽 1 號'品種的 50%。

表 3. 組織培養苗馴化成活率

Table 3. Survival rates of *in vitro* plantlets of three cultivars (lines) of green onion after transplanting to the greenhouse.

品 種 Cultivars (lines)	小苗定植數 Total seedling	小苗成活數 No. of survival seedling	小苗成活率 Percentage of seedling survival (%)
新竹 821	4	1	25
桃園 3 號	15	6	40
蘭陽 1 號	8	4	50

討 論

一、不同培養基對四季蔥品種(系)新梢誘導之影響

生長素和細胞分裂素會影響植物的生長與分化(Murashige, 1974)，組織培養常在培養基中添加細胞分裂素以提高繁殖倍率，依作物之不同，常用的細胞分裂素有 KT、BA、TDZ 及 2ip 等。試驗結果顯示供試之四季蔥三品種添加細胞分裂素 2ip 或 TDZ 均能誘導莖頂產生新梢，顯示 2ip 與 TDZ 具有 Cytokinin 之活性，因此會對培植體的頂芽優勢產生抑制作用，並促使側芽和不定芽大量形成。此與 Hussey(1976)報告指出細胞分裂素具有抑制植物頂芽優勢、促進側芽生長和不定芽形成之能力結果相符。亦與楊等(2001)研究分蔥無病毒新梢誘導指出 TDZ 有誘導產生新梢之能力、李和許(1998)研究四季蔥莖頂培養則指出可利用 2ip 誘導產生新梢之研究結果相同。

許多研究指出生長素與細胞分裂素混用，可抵消或降低細胞分裂素的作用效果，如抑制芽之萌發(Orchard *et al.*, 1979)、減少莖之增殖(Lundergan and Janick, 1980)。楊等(2001)研究分蔥無病毒新梢誘導報告指出 TDZ 與 NAA 同時存在一個培養基中，會減少新梢產生之數目。試驗結果顯示三種培養基中同時存在 TDZ 與 NAA 成分的 BT1、BT2 及 BT3 培養基平均新梢產生數目分別為 10.1、6.1 及 2.1 芽，顯著低於不含 TDZ 成分的 BP 培養基平均新梢產生數 27.3 芽，此結果類似前人的研究。

Paques (1991)報告指出細胞分裂素濃度愈高，不定芽的誘導能力愈強，但其玻璃質苗比率亦較高，常常造成組培苗的大量損失。依作物之不同，常用的細胞分裂素有 KT、BA、TDZ 及 2ip 等，其中 TDZ 的生理活性最強，2ip 居次，KT 最弱(Gaspar *et al.*, 1996)。試驗結果發現 BT1、BT2 及 BT3 三種培養基發生培植體玻璃質化的情形較 BP 培養基嚴重，以致誘導新梢數量顯著較少。此結果與 Gaspar 等人(1996)研究以 TDZ 對培植體的作用大於 2ip 之結果相一致。並由此結果據以推論添加 TDZ 的 BT1、BT2 及 BT3 三種培養基，其細胞分裂素活性應高於添加 2ip 的 BP 培養基，因此培養於 BT1、BT2 及 BT3 三種培養基中的培植體發生玻璃質苗比率較高，此與 Paques(1991)研究結果相符。

由於 TDZ 具 Cytokinin 之活性，其生物特性與 adenine-type cytokinin 相似，可促進癒合組織生長、誘導器官形成及刺激乙烯之產生(Mok *et al.*, 1982)。黃和李(1995)與 Visser 等(1992)在大豆與康乃馨切花組織培養之研究指出低濃度 TDZ (0.0022~0.088 mg/l) 對植物組織培養即具有極高的效應。本試驗結果之 BT1、BT2 及 BT3 三種培養基誘導新梢數量與 TDZ 添加濃度成負相關，以添加最低 TDZ 濃度(0.1ppm)的 BT1 誘導新梢數量最多，及添加 TDZ 濃度 (1ppm) 最高的 BT3 誘導新梢數量最少。本試驗結果不僅與許多前人研究結果相符，同時顯示青蔥莖頂培養利用添加 TDZ 生長調節劑以誘導新梢產生時，所添加 TDZ 濃度以低於 0.1ppm 效果最佳，且隨添加超過 0.1ppm 的濃度愈高，莖頂新梢產生反受抑制。

二、不同培養基誘導之四季蔥品種(系)新梢再誘導發根的情形

組織培養癒合組織生長須仰賴生長素與細胞分裂素的平衡，當細胞分裂素濃度高於生長素時會誘導芽體的發育，反之則促進根部的發育(Murashige, 1977)。組織培養為誘導增殖體形成不定根，常需在培養基中添加 Auxin 類生長調節劑(梁, 1996；Pierik, 1987)。惟亦有報告指出任何生長調節劑的配比對根誘導均有不利影響，因新芽一旦產生並已展葉，即可自行合成足以誘導生根的內源激素(張和張, 1995)。本試驗為促使增殖體發根，仍於培養基中添加濃度 0.1ppm 的 NAA 生長調節劑，試驗結果發現供試三品種發根率差異極大。由 BP 培養基所誘導的新梢於移入發根培養基培養後，供試'新竹 821'、'桃園 3 號'與'蘭陽 1 號'三品種均能順利誘導發根，其發根率介於 4~58%。由 BT1、BT2 及 BT3 培養基所培養的新梢玻璃質化嚴重，BT1 與 BT2 均只有其中的一個品種能誘導發根，BT3 則三品種均無發根。由於生長調節劑的作用強弱等同濃度高低，即 BT1、BT2 及 BT3 培養基添加 TDZ 生長調節劑，其作用強度等同添加高濃度的細胞分裂素，造成所誘導的新梢可能含有高濃度的細胞分裂素，因此當新梢移入發根培養基培養時，培養基成為細胞分裂素濃度高於生長素的環境，以致影響發根能力。此與 Paques(1991)報告指出細胞分裂素濃度愈高，不定芽的誘導能力愈強，但其玻璃質苗比率亦較高結果相符。此外試驗結果亦與梁(1996)及 Pierik(1987)報告指出當增殖體本身能產生較高的 Auxin 時，不宜再於培養基中額外添加 Auxin，否則反會抑制發根之結果類似。並由學者研究報告指出大蒜以未添加任何生長調節劑的 MS 培養基培養最易生根(Shuto *et al.*, 1993)，推測蔥屬作物的增殖體本身應能產生較高的 Auxin。因此本研究結果建議，青蔥組織培養發根誘導培養基添加生長調節劑的必要性及添加濃度，應再進一步探討。

三、組培苗出瓶馴化

學者研究報告指出增殖體在高濕度與低光度環境下生長，常使氣孔構造及形態改變而無法關閉(Pospislova *et al.*, 1999)，所以增殖體出瓶時異常的高蒸散速率，易使移植後增殖體水分散失，不利出瓶後之生長(Pospislova *et al.*, 1992；Preece and Sutter, 1991)。許多學者指出瓶內馴化(acclimatized *in vitro*；*in vitro* hardening)能降低瓶內相對濕度、增加氣體交換率與葉表面蠟質的形成及氣孔的功能，可藉以避免瓶苗產生玻璃質化現象，亦可增加瓶外馴化時之光合作用率及降低蒸散作用率，以利瓶苗在瓶外馴化時存活率的增加與減少瓶苗的損失(Rigchie *et al.*, 1991；Short *et al.*, 1987；Smith *et al.*, 1990)。本試驗雖未採用瓶內馴化，惟為增加小苗根部的保水力與透氣度，並為降低小苗出瓶後的高蒸散速率和減少水分散失，採用珍珠石：蛭石=1：1 的材料為栽培介質，及小苗出瓶移入溫室後立即以白色透明塑膠布覆蓋二天的方式因應。經溫室內 60 天生長後，結果小苗因缺水而枯萎的情形仍嚴重發生，以致供試三品種小苗成活率均低於 50%，此與學者 Preece and Sutter (1991)研究指出組織培養苗出瓶後直接置於溫室或田間，常因水分逆境和低光合作用而降低存活率的結果相同。另由試驗結果推論青蔥組織培養苗已具有自營能力，依學者研究指出具有自營能力之植株，出瓶前先增加光度予以馴化，可使新葉快速展開，進而可提高存活率(Donnelly *et al.*, 1984)。本研究結果建議，組織培養因培養基中添加生長調節劑 cytokinin、

培養環境之高溫度與容器內高濕度，及培植體切取部位與來源等外在因子會對植物的玻璃質化產生重大影響，因此青蔥組織培養大量繁殖系統，可利用調控培養基組成分、增加培養基硬度及改變培養條件等方法，有效降低玻璃質化比率，並可利用瓶內馴化技術以減少小苗出瓶後因水分逆境和低光合作用所造成存活率低的問題，達到青蔥組培苗商業生產上的目標。

參 考 文 獻

- 李阿嬌、許苑培。1998。四季蔥莖頂培養之探討。桃園區農業改良場研究彙報。34:1-8。
- 許苑培。1999。四季蔥品種'桃園3號'之育成及特性。蔬菜作物試驗研究彙報(第九輯)。鳳山熱帶園藝試驗分所編印。pp.310-330。
- 黃學林、李筱菊。1995。高等植物組織離體培養的形態建成及其調控。科學出版社。北京。pp.300-330。
- 張松、張沛。1995。利用大蔥幼葉進行組織培養繁殖的研究。園藝學報。22(2):161-165。
- 楊宏瑛、鄧汀欽、張武男。2001。四季蔥健康種苗快速繁殖技術。1.分蔥潛隱病毒檢測與無病毒新梢之誘導。花蓮區農業改良場研究彙報。19:37-48。
- 梁群健。1996。綠竹、麻竹、和蓬萊竹的組織培養。國立台灣大學園藝學研究所碩士論文。台北。p.71。
- Donnelly, D. J. and W. E. Vidaver. 1984. Pigment content and gas exchange of red raspberry *in vitro* and *ex vitro*. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 109:177-181.
- Gamborg, O. L., R. A. Miller, and K. Ojima, 1968. Nutrient requirements of suspension culture of soybean root cells. Exp. Cell Res. 50: 151-158.
- Gaspar, T., C. Kevers, C. Penel, H. Greppin, D. M. Reid, and T. A. Thorpe. 1996. Plant hormones and plant growth regulators in plant tissue culture. *In vitro* Cell. Dev. Biol. 32: 272-289.
- Hussey, G. 1976. *In vitro* release of axillary shoot from apical dominance in monocotyledonous plantlets. Ann. Bot. 40:1323-1325.
- Lundergan, C. J. and J. Janick. 1980. Regeneration of apple shoot proliferation and growth *in vitro*. Hort. Res. 20:19-24.
- Mok, M. C., D. W. S. Mok, K. Shudo, Y. Isoga, and T. Okamoto. 1982. Cytokinin activity of N-phenyl-N-1, 2,3-Thiadiazol-ylurea (thidia- zuron). Phytochem. 21:1509-1511.
- Murashige, T. 1974. Plant propagation through tissue cultures. Annu. Rev. Plant Physiol. 25:135-166.
- Murashige, T. 1977. Plant cell and organ culture as horticultural practices. Acta Hort. 78:17-30.

- Novak F. J., 1990. Allium tissue culture. *In*: Rabinowitch D. H. and Brewster J. L. (eds.) Onions and Allied Crops. CRC, Florida. 1: 233-250.
- Orchard, J. E., H. A. Collin and K. Hardwick. 1979. Culture of shoot apices of *Theobroma cacao*. *Physiology plant*. 47:207-210.
- Paques, M. 1991. Vitrification and micropropagation: cause, remedies and prospects. *Acta Hort*. 289: 283-290.
- Pierik. R. L. M. 1987. *In vitro* culture of higher plants. Martinus Nijhoff Publishers. Dordrecht Boston Lancaster. The Netherlands. pp.364-370.
- Pospislova J., J. Solarova, and J. Catsky. 1992. Photosynthetic responses to stresses during *in vitro* cultivation. *Photosynthetic* 26:3-18.
- Pospislova, J., I. Ticha, P. Kadlec, and D. Haisel. 1999. Acclimatization of micropropagated plants to *ex vitro* conditions. *Biol. Plant*. 42:481-497.
- Preece, J. E. and E. G. Sutter. 1991. Acclimatization of micropropagated plants to the greenhouse and field. *In*: P. C. Debergh and R. H. Zimmerman (eds.) Micropropagation technology and application. Kluwer Academic Publish. Boston. pp.71-93
- Rigchie, G. A., K. C. Short, and M. R. Davey. 1991. *In vitro* acclimatization of chrysanthemum and sugar beet plantlets by treatment with paclobutrazol and exposure to reduced humidity. *J. of Exp. Bot*. 42(245):1557-1563.
- Short, K. C., J. Warburton, and A. V. Roberts. 1987. *In vitro* hardening of cultured cauliflower and chrysanthemum plantlets to humidity. *Acta Horti*. 212:329-334.
- Shuto, H., T. Abe and T. Sasahara. 1993. *In vitro* propagation of plants from root apex-derived call in Chinese chive (*Allium tuberosum* Rottler) and garlic (*Allium sativum* L.) . *Japan. J. Breed*. 43: 349-354.
- Smith, E. F., A. V. Roberts, and J. Mottley. 1990. The preparation *in vitro* of chrysanthemum for transplantation to soil. 3. Improved resistance to desiccation conferred by reduced humidity. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*.21:141-145.
- Visser, C., J. A. Qureshi, R. Gill, and P. K. Saxena. 1992. Morphoregulatory role of thidiazuron.-Substitution of auxin and cytokinin requirement for the induction of somatic embryogenesis in geranium hypocotyl cultures. *Plant Physiology*. 99:1704-1707.

Studies on the Shoot Tip Culture of Green Onion (*Allium fistulosum* L.)

Chao-Hong Liu ¹⁾ Woo-Nang Chang ²⁾ Menq-Jiau Tseng ³⁾

Key words: Green onion, Shoot tip culture

Summary

This study investigates the effects of different culture media on new shoot induction of Szu Chi Tsung and root induction for those Szu Chi Tsung cultivars having new shoot induced, as well as domestication after the bottle stage. The purpose of this study was to investigate the physiology conditions for shoot tip tissue culture of Green Onions, determine the appropriate media and cultural conditions for shoot tip and plantlets regeneration. The ultimate goal would be to develop the technology to mass produce virus-free Green Onion seedling for farmers. The shoot tips of three Szu Chi Tsung cultivars (lines), namely 'Lan Yang No.1', 'Tao Yuan No.3', and 'Hsin Chu 821', were cut and cultivated in four types of solid culture media: BP, BT1, BT2, and BT3. The results indicate that BP is the most suitable medium for shoot tip propagation; not only the survival rate is high, but also the number of shoots regenerated is high. The regenerated shoots were then transferred into the BP medium with addition of 0.1ppm NAA could optimize the rate of root regeneration. If acclimation technology of *in vitro* plantlets could be applied to increase plantlets survival rate, the goal to commercially producing Green Onion tissue culture seedling can be reached.

1) Graduate student in Ph.D. program, Department of Horticulture, National Chung Hsing University .

2) Adjunct Professor, Department of Horticulture, National Chung Hsing University.

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

