

# 蘆筍莖頂培養之研究<sup>1</sup>

賴本智 陳良築 許淼淼 蔡新聲<sup>2</sup>

**摘要：**含有 0.1~0.5 mg/l Naphthaleneacetic acid (NAA), 0.1~0.5 mg/l Furfurylaminopurine (Kinetin) 及 2.5% Sucrose 之 Murashige *et al.* (1972) 基本鹽類培養基可誘導蘆筍培養莖頂形成最多之芽及根。田間採取不同質地，不同位置之芽體培養顯示白色硬莖芽體之繁殖力優於綠色軟莖，距頂芽 1cm 以內之芽體又優於遠離頂芽者。不同品種間及品種內不同單株間莖頂培養誘導芽體繁殖之能力差異不大。莖頂培養大量繁殖後之試管苗，於 11 月份低溫下移植之成活率高於 5 月份高溫移植者。移植之最適苗齡為培養後 3 個月之試管苗，配合低溫及適當保濕，其成活率可達 87%。莖頂培養繁殖之植株，經與母株外型比較及根端細胞染色體檢定，均顯示與母株相同，證明莖頂培養是大量繁殖優良母株的最好方法之一。

蘆筍屬雌雄異株之常異交作物，田間產量的表現，雄株高於雌株<sup>(14,16,19)</sup>，若能種植經選拔後高產之全雄株個體，則可大大提高產量<sup>(3,4,5,13)</sup>；利用種子繁殖，將產生等量的雌雄個體，且株間具有不同的生產力，因此提高產量受到很大的限制<sup>(15,20)</sup>，而質優高產的雄株雖可利用傳統分株法繁殖，但所得數量太少，且宿根頭易老化是其缺點<sup>(26)</sup>，若能在短時間內大量繁殖優良雄株，則不但有助於收量的提高，且對採種事業上優良親本繁殖及利用，益處極大<sup>(12,27)</sup>。利用莖頂培養的大量繁殖方法是達到此一目的最有效途徑<sup>(13,18,19,20,22,27)</sup>。本研究之目的在找出蘆筍莖頂培養之最適培養基，培養體間之種種特性，莖頂培養植株之移植時間及移植苗齡，及經培養繁殖後植株的穩定性，以做為今後大量繁殖優良雄株之參考。

## 材料與方法

利用種植於臺南改良場本場及義竹蘆筍中心的 UC157 及 UC309 等美國引進之優良蘆筍品種，選取田間優良株的嫩莖做為大量繁殖研究之材料。每次採取之蘆筍嫩莖，經 10°C 低溫儲藏 5 小時後，以 10% Clorox (含 0.5% NaClO) 消毒 10 分鐘，再以無菌水清洗數次後，切取大小約 1 mm 之莖頂為培養材料。

### (一) 莖頂培養最適培養基之探討：

切取 UC157 及 UC309 兩種品種田間嫩筍的芽體，培養於含有 0.3 mg/l 及 0.1 mg/l kinetin 之 Murashige *et al.* (1972) 基本鹽類培養基上，經 10 星期生長，切取發育良好大小約 1mm 的莖頂，培養於表 1 及表 2 所列含有不同 auxin 或 cytokinin 濃度組合的 Murashige *et al.* (1972) 基本鹽類培養基上，以找出最適莖頂培養基。

1. 臺灣省農業試驗所研究報告第 1078 號。本試驗承臺灣區洋菇、蘆筍試驗研究審議小組及中正科技講座補助，試驗材料，承臺南區農業改良場提供，文承劉博士大江斧正，謹此申謝。

2. 本所農藝系助理研究員、助理、研究助理及研究員。臺灣省 臺中縣 霧峰鄉。

## (二) 嫩筍上不同質地、不同部位芽體繁殖力差異之研究：

將田間採得之 UC309 嫩筍，區分為白色硬莖及綠色軟莖二部分，分別採取距頂芽 1 cm 內及 1~8 cm 間之芽體培養於含有 0.3 mg/l NAA 及 0.1 mg/l kinetin 之 Murashige *et al.* (1972) 基本鹽類培養基上，以測定不同質地、不同部位芽體經由莖頂培養大量繁殖之能力。UC157 及 UC309 二品種間同時標示品種內之不同單株，以測定品種間及品種內單株間芽體繁殖力之差異性。

培養基之 pH 值均經調整為  $5.7 \pm 0.1$ ，以  $121^\circ\text{C}$ ， $15 \text{ lb/in}^2$  之高溫高壓殺菌 15 分鐘。接種後之培養體置於  $27 \pm 1^\circ\text{C}$  之恆溫，以 1,500 lux 之光強，每日行 16 小時之照射培養，誘導新芽成長及發根，並調查形成的芽數與根數。

## (三) 莖頂培養試管苗之移植時間及移植苗齡對成活率之影響研究：

莖頂培養移植之幼苗為 UC157 品種第 2 單株，莖頂培養於 0.3 mg/l NAA 及 0.1 mg/l kinetin 之 Murashige *et al.* (1972) 基本鹽類培養基上，將培養 4 個月大之幼苗於冬天及夏天分別移植到盛有泥炭土之水稻育苗箱上，每日早晚噴霧 2 次，每次 10 秒鐘，並隨時觀察及調整泥炭土之濕度，1 個月後調查移植成活率。另以相同材料之莖頂經培養 1—5 個月後，在冬天移植於同樣盛有泥炭土之水稻育苗箱上，並注意濕度之保持，移植 1 個月、2 個月及 3 個月後，分別調查其成活率，並比較各苗齡之成活率。

## (四) 莖頂培養所得植株染色體數目的檢定：

切取試管繁殖之蘆筍苗根尖約 0.5 公分，先經 0.002 M 之 8-hydroquinoline 處理 3 小時後，以 ethanol : acetic acid = 3 : 1 固定液固定 12 小時，若需保存則移至 70% 酒精置於  $5^\circ\text{C}$  冰箱中，鏡檢當日先將固定之根尖置於  $60^\circ\text{C}$  之 1 N HCl 溶液中處理 10 分鐘，染色及再軟化的處理是先以 feulgen 染色液處理 2 小時後，再以 5% pectinase 處理 2 小時，最後以 aceto-carmin 壓積製片，於光學顯微鏡下檢查染色體的數目<sup>(1)</sup>。

## 結 果

## (一) 莖頂培養最適培養基之探討：

表 1. 不同 Cytokinin 濃度對蘆筍莖頂培養 10 週後長芽與發根之影響。

Table 1. Effect of cytokinin on shoot and root formation from asparagus shoot tip culture for ten weeks (cv. UC 157 and UC 309)\*

Treatment	Conc. (mg/l) of			UC 157**		UC 309**	
	NAA	Kinetin	BA	No. of shoot	No. of root	No. of shoot	No. of root
1(ck)	0	0	0	3.15 <sup>d</sup>	7.05 <sup>b</sup>	3.45 <sup>c</sup>	5.52 <sup>c</sup>
2	0.3	0	0	4.39 <sup>d</sup>	11.77 <sup>b</sup>	3.75 <sup>c</sup>	5.25 <sup>c</sup>
3	0.3	0.1	0	9.75 <sup>b</sup>	20.23 <sup>a</sup>	9.09 <sup>ab</sup>	12.88 <sup>a</sup>
4	0.3	0.5	0	13.45 <sup>a</sup>	9.77 <sup>b</sup>	11.13 <sup>a</sup>	11.42 <sup>ab</sup>
5	0.3	1.0	0	8.62 <sup>b</sup>	8.89 <sup>b</sup>	11.79 <sup>a</sup>	6.13 <sup>bc</sup>
6	0.3	5.0	0	6.04 <sup>c</sup>	0.11 <sup>c</sup>	10.21 <sup>ab</sup>	0.00 <sup>d</sup>
7	0.3	10.0	0	4.18 <sup>cd</sup>	0.18 <sup>c</sup>	8.65 <sup>ab</sup>	0.07 <sup>d</sup>
8	0.3	0	1.0	3.77 <sup>d</sup>	0.18 <sup>c</sup>	7.81 <sup>abc</sup>	0.00 <sup>d</sup>

\*Basal media: Murashige *et al.* (1972) salts.

\*\*Mean (20—30 plants per treatment) separation in column by Duncan's multiple range test, 5% level.

表 1、2 爲 UC 157 及 UC 309 之試管苗莖頂培養於不同濃度之 cytokinin 及 auxin，經生長 10 個星期後，芽體形成數目及根發育之結果。

表 1 資料顯示不含植物荷爾蒙之基本 Murashige *et al.* (1972) 培養基雖可使一個培養芽體變成三個，且有相當數目的根生成，但培植結果却遠不如加定量 NAA 或 kinetin 之培養基，在 NAA 固定於 0.3 mg/l 之情形下，kinetin 以 0.1~0.5 mg/l 之濃度對促進長芽及生根的效果較好。1.0 mg/l 以上之 kinetin 雖對芽體形成不會造成太大影響，但對根的形成却稍有抑制作用。在 5.0 mg/l 以上則顯著影響根的形成及發育，1.0 mg/l 之 BA 對長芽不但效果不佳，而且嚴重影響根的形成，其作用和 10 mg/l kinetin 極爲相似，兩受測品種 UC 157 及 UC 309 對不同濃度之反應極爲一致。

表 2 資料則爲 kinetin 濃度固定於 0.1 mg/l 下，不同濃度之 NAA 對蘆筍莖頂培養形成芽體及發根所造成的影響。從芽的形成數目觀之，似乎以 0~1.0 mg/l 之 NAA 最佳，過高濃度（超過 5 mg/l）之 NAA，抑制芽體之形成，根的形成數目則稍可忍受較高濃度之 NAA（如 5 mg/l），就生根長芽二者都有利的情形而言，則以 0.1~0.5 mg/l NAA 之濃度最適，而 1 mg/l 之 IAA 效果不錯，NAA 與 IAA 何者較佳有待更進一步研究。

表 2. 不同 auxin 濃度對蘆筍莖頂培養10週後長芽與發根之影響。

Table 2. Effect of auxin on shoot and root formation from asparagus shoot tip culture for ten weeks (cv. UC 157 and UC 309)\*

Treatment	Conc. (mg/l) of			UC 157**		UC 309**	
	NAA	Kinetin	IAA	No. of shoot	No. of root	No. of shoot	No. of root
1	0	0	0	3.15 <sup>cd</sup>	7.05 <sup>d</sup>	3.54 <sup>b</sup>	5.52 <sup>d</sup>
2	0	0.1	0	7.37 <sup>ab</sup>	23.96 <sup>ab</sup>	8.64 <sup>a</sup>	11.41 <sup>cd</sup>
3	0.1	0.1	0	6.67 <sup>ab</sup>	25.50 <sup>a</sup>	6.05 <sup>ab</sup>	10.35 <sup>cd</sup>
4	0.5	0.1	0	6.50 <sup>ab</sup>	23.33 <sup>ab</sup>	5.09 <sup>ab</sup>	22.18 <sup>ab</sup>
5	1.0	0.1	0	5.21 <sup>bc</sup>	18.00 <sup>c</sup>	6.23 <sup>ab</sup>	18.66 <sup>ab</sup>
6	5.0	0.1	0	2.08 <sup>cd</sup>	8.18 <sup>d</sup>	3.79 <sup>b</sup>	15.42 <sup>bc</sup>
7	10.0	0.1	0	1.62 <sup>d</sup>	3.43 <sup>d</sup>	0.54 <sup>c</sup>	6.09 <sup>d</sup>
8	0	0.1	1.0	8.59 <sup>a</sup>	19.42 <sup>bc</sup>	4.09 <sup>b</sup>	9.91 <sup>cd</sup>

\*Basal media: Murashige *et al.* (1972) salts.

\*\*Mean (20—30 plants per treatment) separation in column by Duncan's multiple range test, 5% level.

綜合表 1，表 2 之結果得知蘆筍莖頂培養大量繁殖之最佳培養基爲 0.1~0.5 mg/l kinetin 及 0.1~0.5 mg/l NAA 之 Murashige *et al.* (1972) 基本鹽類培養基。

(二) 嫩筍上不同質地，不同部位芽體繁殖力差異之研究：

表 3 爲採自不同質地、不同部位之 UC 309 蘆筍芽體所具不同繁殖力之差異。資料顯示質地方面，以白色硬莖芽體所具之繁殖力較佳，平均每個芽體經 8 星期的培養約可形成 15 個以上之新芽，而綠色嫩莖則又依不同部位之芽體而有極大之差異。距頂芽 1 cm 以內之芽體幾乎具有和白色硬莖芽相同之繁殖力，而距頂芽在 1 cm 以上之芽體則繁殖力顯著減少，雖經 8 星期培養亦只得 2.7 個新芽而已。根的形成方面，二種質地及不同部位之芽體差異不大。圖 1 爲表 3 之芽體經 20 個星期之生長形成

新芽體之數目，除了綠色嫩莖之遠離莖頂芽（距頂芽 1~8 cm）具較差之長芽能力外，其餘三種芽體都可形成 30~40 左右之新芽體。

表3. 田間嫩筍不同質地，不同位置之芽體培養 8 週後之芽數及根數。

Table 3. Growing ability of buds from different portion of asparagus spears (taken from field) after eight weeks in culture\* (cv. UC 309)

Kind of spear	Bud position on spears	No. of shoot**	No. of root**
Hard (white color)	Within 1cm from apical bud	19.1 <sup>a</sup>	6.0 <sup>a</sup>
	1-8cm from apical bud	15.3 <sup>a</sup>	5.9 <sup>a</sup>
Soft (green color)	Within 1cm from apical bud	12.6 <sup>a</sup>	11.2 <sup>a</sup>
	1-8cm from apical bud	2.7 <sup>b</sup>	9.0 <sup>a</sup>

\*Basal media: Murashige *et al.* (1972) salts with 0.3 mg/l NAA and 0.1 mg/l kinetin.

\*\*Mean (20-30 plants per treatment) separation in column by Duncan's multiple range test, 5% level.

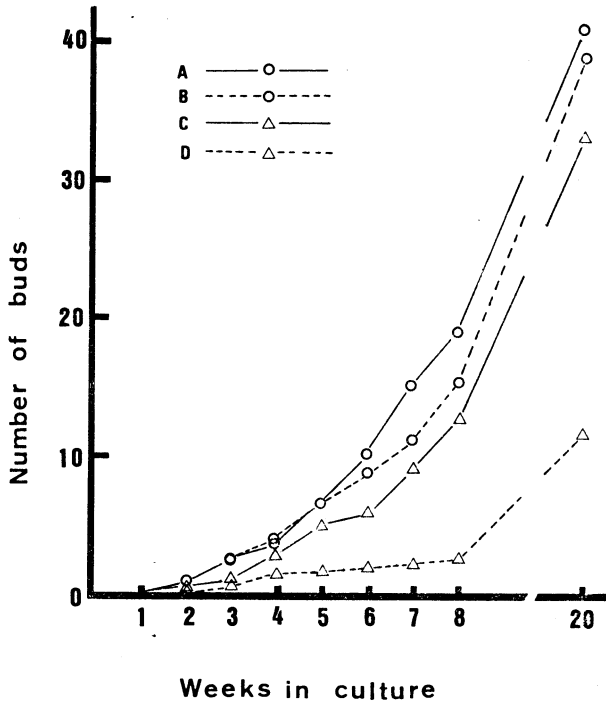


圖1. 田間嫩筍不同質地，不同位置芽體培養後之生長能力。

Fig. 1 Growing ability of buds from different portion of asparagus spears taken from field. Bud position:

- A - within 1cm from apical bud of hard spear.
- B - 1-8cm from apical bud of hard spear.
- C - within 1cm from apical bud of soft spear.
- D - 1-8cm from apical bud of soft spear.

表四顯示田間標示 UC 157 及 UC 309 二品種間及品種內各單株間距頂芽 1 cm 以內之芽體經 12 週培養後形成之芽數及根數。芽數方面，各單株間之差異不大，未達顯著水準，但形成的根數，差異可達顯著水準。蘆筍各單株間之芽體是否具有不同的繁殖力，以表 4 的資料要下結論尚言之過早，詳細結果正進一步研究中。

表 4. 不同植株之蘆筍芽體培養 12 週後之芽數及根數。

Table 4. The growing ability of buds taken from different plant of asparagus after 12 weeks in culture

Variety and plant No.	No. of shoot*	No. of root*
UC 157—1	12.4 <sup>a</sup>	7.6 <sup>b</sup>
2—1**	19.5 <sup>a</sup>	10.4 <sup>ab</sup>
2—2	18.1 <sup>a</sup>	6.1 <sup>b</sup>
3	13.7 <sup>a</sup>	14.4 <sup>a</sup>
4	14.4 <sup>a</sup>	6.7 <sup>b</sup>
UC 309—1—1	9.2 <sup>a</sup>	4.9 <sup>c</sup>
1—2	10.0 <sup>a</sup>	4.0 <sup>c</sup>
2—1	11.9 <sup>a</sup>	9.7 <sup>ab</sup>
2—2	8.9 <sup>a</sup>	10.7 <sup>a</sup>
3—1	11.1 <sup>a</sup>	5.8 <sup>bc</sup>
3—2	9.9 <sup>a</sup>	6.8 <sup>abc</sup>
4—1	14.1 <sup>a</sup>	6.9 <sup>abc</sup>
4—2	11.2 <sup>a</sup>	5.5 <sup>bc</sup>
4—3	11.9 <sup>a</sup>	8.1 <sup>abc</sup>

\* Mean (20—30 plants per treatment) separation in column by Duncan's multiple range test, 5% level.

\*\* 2—1 : representing buds taken from plant No. 2, first spear.

### (三) 莖頂培養試管苗之移植時間及移植苗齡與成活率之關係：

表 5 為不同季節移植蘆筍莖頂培養苗對其成活率之影響。資料顯示 UC 157 4 個月大之試管苗，冬天 (11~12 月份) 移植之成活率為 55.8%，約高出夏季 (5~6 月份) 移植之 25.8% 一倍。

表 5. 移植時間對蘆筍莖頂培養苗成活率之影響。

Table 5. Influence of transplanting date on the survival ability of test tube asparagus seedlings\*

Date of transplanting	Total plants used	No. of plants survived	Percent of survival
November 26	120	67	55.8
May 1	120	31	25.8

\*Test tube seedling obtained from shoot tip of UC 157 cultured on the Murashige *et al.* (1972) basal media with 0.3 mg/l NAA and 0.1 mg/l kinetin for 4 months.

表 6 為 UC 157 莖頂培養不同月齡移植後之成活率。培養時間愈短形成之芽數及硬根數愈少，雖然形成的芽數及硬根數以培養 5 個月後之幼苗最多，但成活率却以培養 3 個月幼苗之 66.3% (移植 1 個月後調查) 最高，繼續觀察到第 3 個月後移植成活率可提高至 86.5%，4 月齡為 59.2% 次之，5 月齡、2 月齡及 1 月齡又分別為 54.2、53.9 及 52.7%。3 月齡之幼苗具適量之芽數及硬根數，生育最為旺盛，又無黃化及老化之現象，故移植成活率最佳。蘆筍為多年生宿根作物，莖頂培養繁殖過程中，嫩莖基部往往會形成小根盤，移植初期根部吸收能力慢，嫩莖及嫩葉易於枯萎，以致被錯認為死亡，但 2~3 個月後，可由根盤長出新芽，這是移植三個月後成活率反而升高的原因。

表 6. 不同月齡莖頂培養苗生長情形及移植之成活率。

Table 6. The growth condition and survival ability of asparagus shoot tip after several months in culture\*

Months in culture	No. of shoot forming	No. of hard root forming	No. of plants transplanting	No. of plants survival			Percent of survival		
				A**	B**	C**	A**	B**	C**
1	5.58 <sup>c</sup>	0.26 <sup>c</sup>	112	23	47	59	20.5 <sup>c</sup>	41.9 <sup>c</sup>	52.7 <sup>b</sup>
2	8.54 <sup>b</sup>	6.20 <sup>b</sup>	76	26	34	41	34.2 <sup>b</sup> <sup>c</sup>	44.7 <sup>b</sup> <sup>c</sup>	53.9 <sup>b</sup>
3	10.91 <sup>a</sup> <sup>b</sup>	8.55 <sup>a</sup>	104	69	84	90	63.3 <sup>a</sup>	80.8 <sup>a</sup>	83.5 <sup>a</sup>
4	11.50 <sup>a</sup>	8.70 <sup>a</sup>	120	67	68	71	55.8 <sup>a</sup>	53.7 <sup>b</sup>	53.2 <sup>b</sup>
5	12.10 <sup>a</sup>	9.53 <sup>a</sup>	107	41	58	58	33.3 <sup>b</sup>	54.2 <sup>b</sup> <sup>c</sup>	54.2 <sup>b</sup>

\* Mean (80—100 plants per treatment) separation in column by Duncan's multiple range test, 5% level.

\*\* A, B, C: Data obtained from seedling have been transplanted into peat moss for 1, 2 and 3 month respectively. Seedling were transplanted on November.

#### (四) 莖頂培養植株染色體數目之檢定

經由莖頂培養繁殖的植株由肉眼觀察，發現其外部形態與母株完全一致，且根尖細胞的染色體經檢查後，也證實全為正常的二倍體 ( $2N=20$ )，故莖頂培養後代植株具有高度的遺傳穩定性是不容懷疑的。

## 討 論

利用莖頂培養大量繁殖蘆筍植株之研究，許多文獻均曾提及<sup>(20,23,24,25,26)</sup>。在莖頂培養過程中，長芽及發根能力，極易受到下列因素影響，如培養基中 cytokinin 及 auxin 的種類與濃度<sup>(18,23,27)</sup>、培植體的來源、位置、種類及大小等<sup>(22,23,26,27)</sup>。有關蘆筍莖頂培養，培養基中 cytokinin 及 auxin 之種類及適當含量，許多學者看法不同<sup>(18,23,27)</sup>，如 Yang 等氏認為 0.1 mg/l NAA 配合 0.1 mg/l kinetin 最適合莖頂繁殖<sup>(23,24)</sup>，Murashige 等氏則使用 0.3 mg/l NAA 配合 0.1 mg/l kinetin<sup>(18)</sup>，但 Harada 氏却認為 1.0 mg/l NAA 及 0.1 mg/l zeatin 最適合莖頂繁殖<sup>(11)</sup>。本試驗得知含有 0.1~0.5 mg/l NAA 及 0.1~0.5 mg/l kinetin 之 Murashige *et al.* (1972) 基本鹽類培養基最適合蘆筍莖頂大量繁殖之用。

適量的 kinetin 可增加嫩莖與根之誘導，同時減少嫩莖基部癒傷組織之形成，濃度太高或太低不但不利於發根，且會對培植體移植時的成活率造成重大影響<sup>(18,23)</sup>，一般 kinetin 之效果優於 BA，故大多數學者培養蘆筍莖頂，均添加 kinetin 於培養基中<sup>(18,25,26,27)</sup>，此與 Harada (1973) 蘆筍莖頂培養的結果相異，他認為在 NAA 配合下，BA 較 kinetin 易於誘導長芽及發根，添加 zeatin 之誘導效果更高。

0.1 mg/l~0.5 mg/l NAA 配合 0.1 mg/l kinetin 之濃度有利於發根，而且不會抑制芽體形成，濃度過高則不但減少形成的芽數及根數，同時會造成癒傷組織之大量形成。Yang (1974) 發現 UC 500 W 品種的芽體培養於 0.1 mg/l NAA 配合 0.1 mg/l kinetin 之組合，可誘導芽體形成最多的芽數及根數，若提高 NAA 濃度至 0.3 mg/l，可稍為抑制芽體之生長及發根能力，同時增加癒傷組織之形成，因而減少培養苗之成活率<sup>(18,23)</sup>，本研究發現影響試管苗移植成活率之主要因子為移植時之溫度及濕度，NAA 雖提高至 0.5 mg/l，對成活率尚不致造成影響。

田間白色硬莖及綠色軟莖嫩筍上不同位置之芽體經 8 週培養後，顯示愈近頂端之芽體繁殖力愈佳。且白色硬莖之芽體培養後較易長芽，而綠色軟莖之芽體則易發根，此種現象隨着培養時間延長，仍有相同之趨勢，故田間嫩筍之大量繁殖以採自近頂芽之芽體可得較佳之繁殖力。

蘆筍莖頂培養植株移植時間以冬季較適合，可能是冬季的低溫減少了移植幼苗之蒸散作用，及嫩莖枯萎之速度，因而獲致較佳之移植成活率<sup>(25)</sup>。同時，移植後泥炭土濕度之調整也頗為重要，據 Yang (1974) 以 Jiffy-7 泥炭盆罩以噴霧裝置控制適當濕度可得極高之移植成活率。莖頂培養 3 個月齡之幼苗，移植後成活率最高，此結果與 Yang (1977) 報導培養 3 個月之幼苗擁有最適量之芽數及根數，具有最佳活力，可得最高成活率相吻合<sup>(25,27)</sup>。

蘆筍莖頂較其細胞或癒傷組織擁有更高的發育自主能力<sup>(19)</sup>，經培養後極易長成形質穩定的多數芽體，早為許多學者所發現<sup>(1,17)</sup>，不僅外部形態和內部構造殊少變異，而且後代植株根尖細胞的染色體數目也極為一致，故蘆筍莖頂培養確為保存優良親本且短時間內可大量繁殖之最有效途徑<sup>(13,23)</sup>。

## 引用文獻

1. Chen, C. C. and C. M. Chen. 1980. Changes in chromosome number in microspore callus of rice during successive subcultures. *Can. J. Genet. Cytol.* 22: 607-614.
2. Chen, C. C. and M. H. Lin. 1976. Induction of rice plantlets from anther culture. *Bot. Bull. Academia Sinica* 17: 18-24.
3. Corriols-Thevenin, L. 1979. Different methods in asparagus breeding. *In Eucarpia*, 5th asparagus-symposium, under the auspices of the Hessian Minister for agriculture. pp. 8-20. Geisenheim Forschungsanstalt, Federal Republic of Germany.
4. Dore, C. 1979. Different utilizations of in vitro cloning techniques. *In Eucarpia*, 5th asparagus-symposium, under the auspices of the Hessian Minister for agriculture. pp. 146-149. Geisenheim Forschungsanstalt, Federal Republic of Germany.
5. Falavigna, A. 1979. Pure lines *Asparagus officinalis* L. obtained by in vitro culture in Italy. *In Eucarpia*, 5th asparagus-symposium, under the auspices of the Hessian Minister for agriculture. pp. 91-99. Geisenheim Forschungsanstalt, Federal Republic of Germany.
6. Gresshoff, P. M. and C. H. Doy. 1972. Haploid *Arabidopsis thaliana* callus and plants from anther culture. *Aust. J. Biol. Sci.* 25: 259-264.
7. Gresshoff, P. M. and C. H. Doy. 1972. Development and differentiation of haploid *Lycopersicon esculentum* (tomato). *Planta* 107 (2): 161-170.
8. Gresshoff, P. M. and C. H. Doy. 1974. Deviation of a haploid cell line from *Vitis vinifera* and the importance of the stage of meiotic development of anthers for haploid culture of this and other genera. *Z. Pflanzenphysiol. Bd.* 73. S. 132-141.
9. Guha, S., R. D. Iyer, N. Gupta and M. S. Swaminathan. 1970. Totipotency of gametic cells and the production of haploids in rice. *Current science* No. 8 April 20: 174-176.
10. Guha-Mukherjee, S. 1973. Genotypic differences in the in vitro formation of embryoids from rice pollen. *J. Exp. Bot.* 24: 139-144.

11. Harada, H. 1973. Differentiation of shoots, roots and somatic embryos in asparagus tissue culture. *In Eucarpia*, 4eme reunion sur la selection de lasperge. pp. 163-72. Versailles, France.
12. Hasegawa, P. M., T. Murashige, and F. H. Takatori. 1973. Propagation of asparagus through shoot apex culture. II. Light and temperature requirements, transplantability of plants, and cytological characteristics. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 98 : 143-148.
13. Hondelmann, W. and B. Wilberg. 1973. Breeding all male-varieties of asparagus by utilization of anther and tissue culture. *Z. Pflanzenzuchtg.* 69 : 19-24.
14. Hung, L. 1979. Feasibility of selected all-male seedlings of asparagus planting method in Taiwan. *In Eucarpia*, 5th asparagus symposium, under the auspices of the Hessian Minister for agriculture. pp. 27-38. Geisenheim Forschungsanstalt, Federal Republic of Germany.
15. Ito, P. J. and T. M. Currence. 1965. Inbreeding and heterosis in asparagus. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.* 86 : 338-346.
16. Loptien, H. 1972. Cytogenetic studies on sex determination in asparagus. *In Eucarpia*, 5th asparagus symposium, under the auspices of the Hessian Minister for agriculture. pp. 21-23. Geisenheim Forschungsanstalt, Federal Republic of Germany.
17. Malnassy, P. and J. H. Illison. 1970. Asparagus tetraploids from callus tissue. *HortSci.* 5 (5) : 444-445.
18. Murashige, T., M. N. Shabed, P. M. Hasegawa, F. H. Takatori and J. B. Jones. 1972. Propagation of asparagus through shoot apex culture. I. Nutrient medium for formation of plantlets. *J. Amer. Soc. HortSci.* 97 : 158-161.
19. Shii, C. T. 1974. Recent developments in micro-propagation of asparagus. (*Asparagus officinalis* L.) *Chinese Horticulture* 20 (5) : 251-257.
20. Takatori, F. H., T. Murashige and J. I. Stillman. 1968. Vegetative propagation of asparagus through tissue culture. *HortSci.* 3 : 20-22.
21. Tomes, D. T. and G. B. Collins. 1976. Factors affecting haploid plants production from in vitro anther cultures of *Nicotiana* species. *Crop Sci.* 16 : 837-840.
22. Tsay, H. S. P. C. Lai and N. C. Chi. 1980. Studies on anther culture and haploid plant regeneration of asparagus. *Jour. Agric. Res. China* 29 (4) : 309-319.
23. Yang, H. J. and W. J. Clore. 1973. Rapid vegetative propagation of asparagus through lateral bud culture. *HortSci.* 8 : 141-143.
24. Yang, H. J. and W. J. Clore. 1974a. Development of complete plantlets from moderately vigorous asparagus shoots of stock plants *in vitro*. *HortSci.* 9 : 138-140.
25. Yang, H. J. and W. J. Clore. 1974b. Improving the survival of aseptically-cultured asparagus plants in transplanting. *HortSci.* 9 : 235-236.
26. Yang, H. J. and W. J. Clore. 1975. In vitro reproductiveness of asparagus stem segments with branch-shoots at a node. *HortSci.* 10 : 411-412.
27. Yang, H. J. 1977. Tissue culture technique developed for asparagus propagation. *HortSci.* 12 (2) : 16-17.



## Studies on Shoot Tip Culture of *Asparagus*<sup>1</sup>

Pen-Chih Lai, Liang-Jwu Chen, Meau-Meau Hsu and Hsin-Sheng Tsay<sup>2</sup>

### Summary

*Asparagus (Asparagus officinalis L.)* shoot tips of UC157 and UC309 were cultured on Murashige *et al.* (1972) basal medium supplemented with various amounts of auxin and cytokinin. It was found that the basal medium added with 0.3 mg/l NAA, 0.1mg/l kinetin and 2.5% sucrose could provide the best result in producing complete plantlets from the excised shoot tips.

The growth and differentiating ability of buds from the white hard spear (cv. UC309) was superior to that from the green soft spear. Furthermore, bud section within 1 cm from the shoot tip showed the highest growth vigor and differentiating rate than the lower bud sections. No difference in the ability of shoot production was found among individual plants of the same variety or among different varieties.

Survival rate of asparagus seedlings transplanted from test tube to the greenhouse was higher when performed under low temperature (November) than under high temperature (May). Seedling age of three-month in test tube was considered the most suitable for transplanting. When high humidity was maintained, survival rate as high as 87% could be obtained.

Cytological examination on the root tips of asparagus seedlings originated from shoot tips or lateral buds of spear culture showed diploid chromosome number of  $2N=20$ . No polyploid plants were found. Those results indicated that this propagating method can effectively maintain the nature of mother plants.

---

1. Contribution No. 1078 from the Taiwan Agricultural Research Institute.

2. Assistant Agronomist, Research Assistant, Assistant and Senior Agronomist, respectively of the Department of Agronomy, TARI, Wufeng, Taichung Hsien, Taiwan 431, ROC.