

EFEK UKURAN, WAKTU PEMANASAN DALAM PERTUMBUHAN DAN PERKEMBANGAN BAWANG PUTIH (*Allium sativum* L.) SECARA INKONVENSIONAL

Asih K. Karjadi ^{1*}, Nurmalita Waluyo ² dan Neni Gunaeni¹

¹BRIN Pusat Penelitian dan Perkebunan
Jl. MH Thamrin
No. 8 Jakarta Pusat

²Balai Penelitian Tanaman Sayuran
Jl Tangkuban Perahu no. 517 Lembang
Bandung Barat

*e-mail korespondensi:
asihkk@yahoo.com

Abstrak. Bawang putih (*Allium sativum* L.) termasuk dalam genus *Allium* sp, diperbanyak secara vegetatif melalui umbi/siung. Pada tanaman yang diperbanyak secara vegetatif penyakit sistemik virus akan terbawa pada turunan berikutnya. Teknik inkonvensional kultur jaringan dikombinasikan dengan ukuran dan perlakuan pemanasan bahan eksplan bisa membantu eliminasi virus. Pelaksanaan kegiatan di Laboratorium kultur jaringan Balitsa pada bulan April s.d Juli 2018. Tujuan dari penelitian untuk melihat pengaruh ukuran, waktu pemanasan bahan eksplan terhadap pertumbuhann jaringan bawang putih varietas Tawang Mangu. Adapun perlakuannya (1) ukuran eksplan E1= 1/3 siung, E2 = shoot tip, E3= Jaringan meristem, (2) waktu pemanasan 37°C T1= Tanpa pemanasan, T2= pemanasan 2 minggu, T3 = pemanasan 4 minggu, T4= pemanasan 6 minggu. Komposisi media tumbuh: MS + MS vits + sucrose 30 g/l + IAA 2 mg/l + Kinetin 2 mg/l + GA₃ 0.01 mg/l + Gelgro 2 g/l, pH 5.7. Hasil penelitian (1) Pengamatan secara visual semakin kecil ukuran eksplan dan lama waktu pemanasan menurunkan % eksplan tumbuh normal. (2) Persentase kontaminasi 33.33 – 60% disebabkan bakteri atau jamur. (3) Persen terinfeksi hasil uji virus pada plantlet tumbuh normal dengan teknik DAS ELISA 40 – 66.67%.

Kata kunci: bawang putih, explant size, meristem, pemanasan, shoot tip, ukuran eksplan

Abstract. Garlic (*Allium sativum* L.) is included in the genus *Allium* sp., propagated vegetatively through clove. In plants that are propagated vegetative, viral systemic diseases will be carried over to the next generation. In conventional methods/ tissue culture techniques combined with size and heat treatment the explant material can used as virus elimination. The activity research conducted at the Balitsa tissue culture laboratory from April to July 2018. The purpose of the study was to see the effect of size, heat treatment of explant material on the growth and development of garlic variety Tawang Mangu. The treatments were (1) explant size E1 = 1/3 clove, E2 = shoot tip, E3 = meristem tissue, (2) heat treatment 37°C, T1 = without treatment, T2 = heat treatment for 2 weeks, T3 = heat treatment for 4 weeks, T4 = heat treatment 6 weeks. The composition of the growing media: MS + MS vits + sucrose 30 g/l + IAA 2 mg/l + Kinetin 2 mg/l + GA₃ 0.01 mg/l + Gel gro 2 g/l, pH 5.7. The results of the study (1) were visually observed that the smaller the

size of the explants and the length of heat treatment, the lower the percentage of explants that grew normally. (2) Percentage of contamination 33.33 – 60% caused by bacteria or fungi. (3) The percentage of infected plantlet with virus with DAS ELISA technique were 40 – 66.67%.

Keywords : *explant size, garlic, heat treatment, meristem, shoot tip*

PENDAHULUAN

Bawang putih (*Allium sativum* L), adalah tanaman yang termasuk dalam keluarga *Allium* sp., yang diperbanyak secara vegetatif melalui umbi/siung. Di beberapa negara maju perbanyak benih bawang putih sudah dilakukan secara in vitro/inkonvensional/mikropropagasi baik untuk tujuan peningkatan mutu atau hanya perbanyak tanaman (Abo El Nil, 1977; Moriconi *et al.*, 1990). Prinsip dasar perbanyak adalah teori sel yang dikemukakan oleh Scheiden dan Schwann (1839-1939), dimana sel merupakan unit biologis terkecil yang dapat melakukan aktifitas hidup, reproduksi dan tumbuh (Gabriele *et al.*, 2001, Conci *et al.*, 2003, Ling 2010). Teknik perbanyak tanaman secara inkonvensional/in vitro adalah suatu metode menumbuhkan bagian tanaman berupa potongan jaringan atau organ yang terpisahkan dari lingkungan alami dan ditumbuhkan dalam media buatan secara aseptik (Barandiara *et al.*, 1999; Koch dan Tanami, 1995). Media tumbuh yang dipergunakan pada teknik kultur jaringan terdiri dari unsur hara makro, mikro, asam amino, vitamin serta supplement organik lainnya seperti sumber karbohidrat, zat pengatur tumbuh (Badoni dan Chamka, 2010, Eady *et al.*, 1998, Gopal dan Garg, 2011)

Dalam perbanyak tanaman secara vegetatif, penyakit sistemik virus merupakan salah satu penyakit penting yang perlu dipecahkan. Hal tersebut dikarenakan penyakit tersebut dapat terbawa pada turunan berikutnya. Menurut Walkey (1987), infeksi

penyakit ini dapat mengurangi produksi antara 25 – 50 % jumlah siung (*Clove*), jumlah maupun bobot umbi dapat tereduksi sampai 45%.

Ada 3 cara yang dapat dilakukan padat teknik kultur jaringan untuk perbanyak yaitu (1) menanam jaringan meristemik agar dapat berproliferasi, (2) menginduksi *explant* membentuk kalus dan (3) menginduksi *embryogenesis somatic*. Jaringan meristem adalah bagian titik tumbuh tanaman yang masih aktif dalam melakukan pembelahan sel. Agar jaringan meristem dapat tumbuh dan berproliferasi menjadi tanaman, umumnya jaringan ini diambil dengan beberapa daun primordial (Armini *et al.*, 1992). Penanaman jaringan meristem atau *shoot tip* menurut Ling (2010) dan Bertaccini *et al.* (2004), menyatakan bahwa mengisolasi eksplan tersebut merupakan salah satu kunci keberhasilan dalam proliferasi yang membutuhkan waktu dan keahlian. Oleh karena itu perlu dilakukan teknik kombinasi ukuran dari eksplan dan pemanasan/heat treatment untuk eliminasi virus bawang putih.

Teknik untuk menghilangkan penyakit sistemik virus pada tanaman yang diperbanyak secara vegetatif. Salah satunya dapat dilakukan dengan kombinasi perlakuan ukuran dan pemanasan bahan eksplan. Diharapkan kombinasi ini dapat meningkatkan kualitas dan kuantitas tanaman yang dihasilkan. Kegiatan penelitian bertujuan untuk melihat pengaruh dari ukuran dan perlakuan pemanasan bahan eksplan terhadap proliferasi eksplan bawang putih varietas Tawang Mangu.

BAHAN DAN METODE

Pelaksanaan penelitian dilakukan di Laboratorium kultur jaringan Balai Penelitian Tanaman Sayuran/Balitsa pada bulan April s.d Juli 2018. Sumber bahan eksplan menggunakan siung bawang putih varietas Tawang Mangu yang telah pecah dormansi dan terinfeksi virus OYDV atau SYSV. Sebagai perlakuan penelitian adalah (1) ukuran eksplan E1 = 1/3 siung, E2 = *shoot tip*, E3= Jaringan meristem, (2) waktu pemanasan T1= Tanpa pemanasan, T2 = pemanasan 37°C 2 minggu, T3 = pemanasan 37°C 4 minggu, T4 = pemanasan 37°C 6 minggu. Komposisi media tumbuh : MS + MS vits + sucrose 30 g/l + IAA 2 mg/l +Kinetin 2 mg/l + GA₃ 0.01 mg/l + Gelgro 2 g/l, pH 5.7.

Tahapan persiapan bahan eksplan bawang putih :

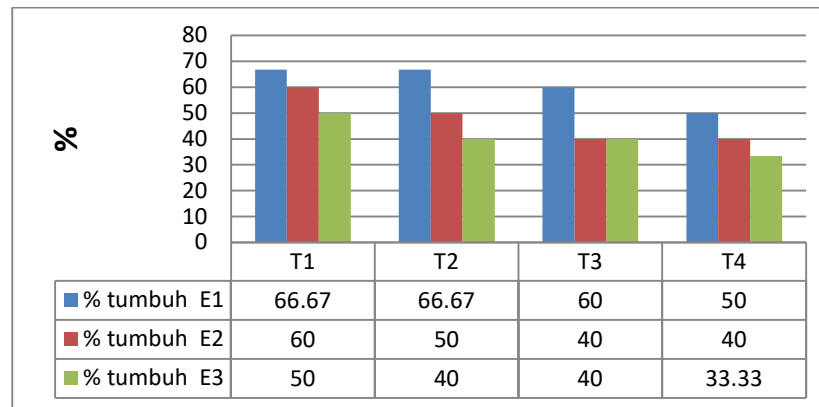
1. Umbi/siung bawang putih varietas Tawang Mangu yang telah pecah dormansi, diseleksi dengan uji serologi DAS ELISA yang terinfeksi OYDV atau SYSV. Kupas umbi, cuci dengan larutan deterjent, lalu bilas kembali dengan aquadest 2 – 3 kali, celupkan ke alkohol 70% dan direndam di larutan klorox 25 % selama 10 – 15 menit. Bilas kembali dengan aquadest steril 3 – 5 kali, pindahkan ke cawan petri steril. Yang dilapisi kertas saring untuk menyerap sisa aquades.

2. Pelaksanaan penanaman di lingkungan steril Laminer airflow cabinet (L AFC), pada tabung reaksi 15 x 150 mm berisi media 5 – 8 ml. Pada setiap perlakuan di tanam pada 30 tabung reaksi. Kultur diinkubasikan di ruang kultur dengan temperatur 22 – 24 °C, photo periode 16 jam terang dan 8 jam gelap.

Pengamatan dilakukan pada kultur 4, 6, 8 MST terhadap : % tumbuh dan berkembang, % kontaminasi dan mati, % plantlet tumbuh normal dan abnormal, jumlah akar dan jumlah daun.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengamatan dilakukan pada umur 4, 6, 8 MST secara visual pada pertumbuhan dan perkembangan plantlet bawang putih varietas Tawang Mangu dengan perlakuan ukuran eksplan dan pemanasan bahan eksplan disajikan pada Gambar 1. Berdasarkan Gambar 1 menunjukkan persentase dan berkembang secara visual dari 3 macam eksplan dan perlakuan pemanasan bahan eksplan varietas Tawang mangu menunjukkan ukuran dari eksplan, perlakuan pemanasan berpengaruh dalam proliferasi. Semakin lama waktu pemanasan dan ukuran eksplan semakin kecil maka pertumbuhan dan perkembangan semakin rendah. Pertumbuhan dan perkembangan eksplan jaringan meristem (E3), lebih rendah dari *shoot tip* dan 1/3 umbi, demikian pula waktu pemanasan 6 minggu (T4) lebih rendah dari perlakuan lainnya.



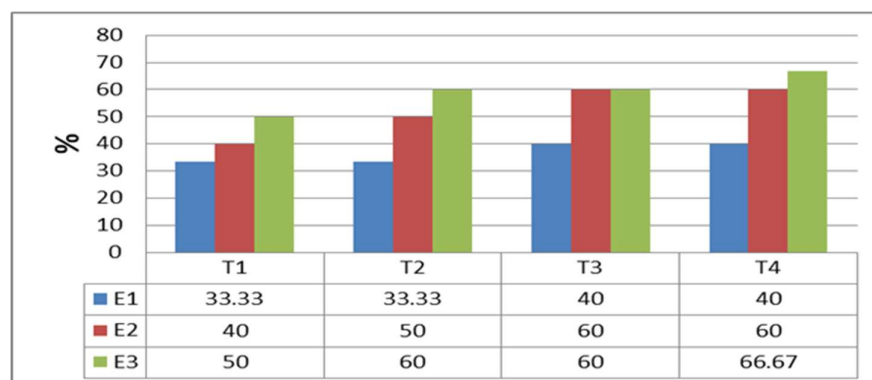
Keterangan : T1= Tanpa pemanasan , T2 = Pemanasan 37°C 2 minggu, T3 = Pemanasan 37°C 4 minggu, T4 = Pemanasan 37°C 6 minggu. E1= 1/3 siung, E2 = *Shoot tip*, E3= Jaringan meristem

Gambar 1. Persentase Pertumbuhan Plantlet Bawang Putih Var. Tawang Mangu

Menurut beberapa literatur (Shen *et al.*, 2008 dan Bertaccini *et al.*, 2004.), perbanyakan dengan teknik kultur jaringan komposisi media selain unsur makro, mikro dan suplemen seperti sumber karbohidrat, zat pengatur tumbuh, asal, sumber, ukuran eksplan serta varietas akan berpengaruh pada proliferasi.

Teknik propagasi secara *in vitro* memiliki beberapa keuntungan yang akan diperoleh diantaranya (1) eksplan yang diperlukan tidak merusak tanaman induk (2)

lingkungan tumbuh aseptik dan terkendali, (3) kecepatan perbanyakan tinggi, (4) serta dapat menghasilkan yang benih sehat dari tanaman induk yang sudah terinfeksi. Demikian pula menurut Geier (1990) dan Kamstayte & Stancys, (2004) menyatakan bahwa pemilihan dan perlakuan bahan eksplan dalam kultur jaringan sangat menentukan pada keberhasilan serta sangat berkaitan dengan kemampuan regenerasi dan proliferasi.



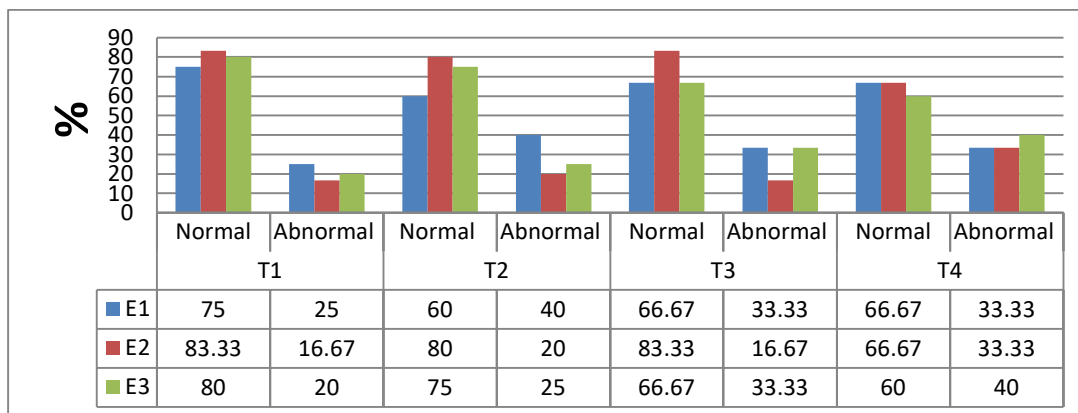
Keterangan : T1= Tanpa Pemanasan , T2= Pemanasan 37°C 2 minggu, T3 = Pemanasan 37°C 4 minggu, T4= Pemanasan 37°C 6 minggu. E1= 1/3 siung, E2 = *Shoot tip*, E3= Jaringan meristem

Gambar 2. Persentase Kontaminasi dan Mati Plantlet Bawang Putih Var. Tawang Mangu

Pada Gambar 2 pengamatan secara visual persentase kontaminasi dan mati sampai dengan umur 8 MST, 66,67 % untuk eksplan jaringan meristematik dengan pemanasan 37°C selama 6 minggu. Pada umumnya penyebab kontaminasi adalah bakteri atau jamur. Pemanasan sumber eksplan akan meningkatkan % kontaminasi dan mati. Sumber kontaminasi dapat juga terbawa dari bahan eksplan (Haque *et al.*, 1997; Rokhsana *et al.* 2002, Armini *et al.*, 1992). Materi eksplan yang tertutup sumber kontaminan pada akhirnya akan tidak berkembang. Hal ini dapat diakibatkan langsung dari serangan bakteri atau jamur. Sumber eksplan yang terbebas dari kontaminasi adalah langkah penting. Apabila tidak dihilangkan dari media yang

mengandung sumber karbohidrat, vitamin, mineral dapat mengakibatkan bakteri dan jamur akan berkembang biak.

Dalam penelitian kultur jaringan kontaminan merupakan faktor pembatas dalam keberhasilan (Badoni dan Chamka, 2010; Lee *et al.*, 2009), dapat berasal dari (1) internal dan eksternal dari bahan eksplan, (2) spora dari jamur atau bakteri yang masuk ke dalam kultur, (3) peralatan yang kurang steril, keadaan lingkungan dan ruang inkubasi kultur yang tidak menunjang, dan (4) teknik pelaksanaan yang tidak baik dan ceroboh. Pada sterilisasi materi bahan eksplan harus memperhatikan, bahan sterilan tidak akan mematikan sel tanaman bahan eksplan atau kontaminan harus dihilangkan tanpa mematikan sel-sel tanaman



Keterangan : T1= Tanpa pemanasan, T2= pemanasan 37oC 2 minggu, T3 = pemanasan 37°C 4 minggu, T4= Pemanasan 37°C 6 minggu. E1= 1/3 siung, E2 = Shoot tip, E3= Jaringan meristem

Gambar 3. Persentase Plantlet Tumbuh Normal dan Abnormal Bawang Putih var. Tawang Mang

Dalam Gambar 3 persentase tumbuh normal dan abnormal terlihat plantlet tumbuh normal pada umur 8 MST diatas 80% kecuali pada perlakuan T4. Beberapa faktor yang mempengaruhi proliferasi eksplan menjadi plantlet sangat kompleks yaitu (a) faktor genetik (b) unsur hara makro, mikro, karbohidrat, (c) fisik cahaya, suhu, pH media tumbuh, (d) tambahan bahan organik zat pengatur tumbuh, vitamin, asam amino.

Pada perbanyakan tanaman dengan teknik kultur jaringan dipengaruhi juga oleh

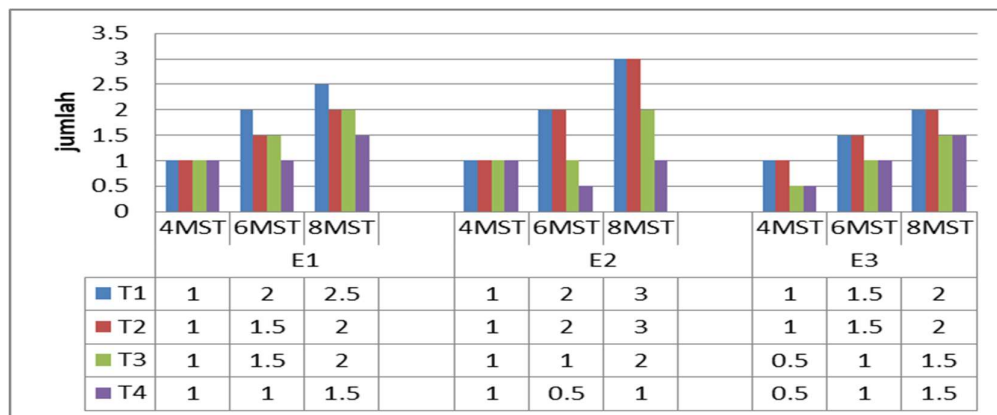
respon dari varietas, jenis eksplan, perlakuan bahan eksplan dan komposisi media yang digunakan (Eady *et al.*, 1998; Conci *et al.*, 2003). Sesuai dengan pendapat Khar *et al.* (2005), Hu *et al.* (2015) dan Goliono *et al.*, 2003, menyatakan bahwa pemilihan asal eksplan dalam kultur jaringan penting dalam keberhasilan dan pemilihan eksplan berkaitan erat dengan kemampuan beregenerasi.

Upaya untuk menghilangkan penyakit virus pada berbagai tanaman telah

berhasil dilakukan dengan menggunakan beberapa teknik seperti kultur meristem, terapi panas pada bahan eksplan lalu dilanjutkan dengan teknik kultur jaringan. Dari beberapa kasus menunjukkan bahwa laju perkembangan tanaman setelah mendapat perlakuan pemanasan semakin kecil seiring dengan meningkatnya suhu pemanasan bahan eksplan (Tan *et al.* 2010; Lozays Saldana dan Merlinlara 2011, Ling 2010, Haider *et al.*, 2015).

Ada 2 teknik yang umum dilakukan dalam memproduksi tanaman bebas penyakit sistemik virus adalah pemanasan dan perlakuan bahan kimia dapat dilakukan secara kombinasi atau tunggal dilanjutkann

dengan teknik kultur jaringan (Awan *et al.*, 2007; Gopal dan Grag, 2011. Ohta *et al.*, 2011, Seldak *et al.* 2007). Tanaman bebas virus dapat diartikan virus tertentu terdeteksi negatif di tanaman. Kombinasi perlakuan dapat dilakukan untuk menghasilkan tanaman bebas virus yang ditentukan oleh sensitivitas virus. Perlakuan pemanasan bahan eksplan efektif apabila dapat menonaktifkan virus. Adapun tujuan perlakuan pemanasan adalah untuk menonaktifkan multiplikasi dari virus tanpa mematikan sel-sel mematikan tanaman (Ghaenizadek *et al.*, 2014, Dixit dan Chaudhary, 2013).



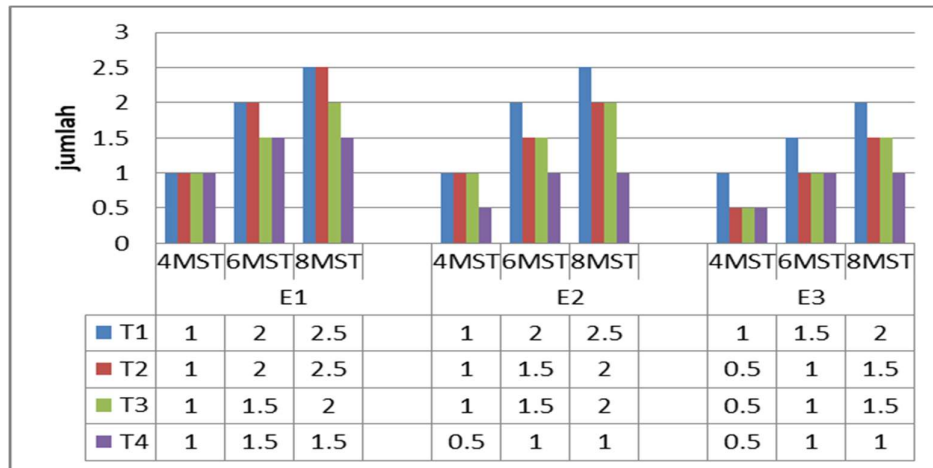
Keterangan : T1= Tanpa pemanasan , T2= Pemanasan 37°C 2 minggu, T3 = Pemanasan 37°C 4 minggu, T4 = Pemanasan 37°C 6 minggu. E1= 1/3 siung, E2 = Shoot tip, E3= Jaringan meristem

Gambar 4. Rata-rata Jumlah Akar Plantlet Bawang Putih var. Tawang Mangu

Pengamatan rata-rata jumlah akar secara visual plantlet bawang putih varietas Tawang Mangu pada umur 4 s.d 8 MST adalah 0.5 – 2.5 yang disajikan pada Gambar 4. Eksplan meristem dari bahan eksplan dengan perlakuan pemanasan T4 (35°C, 6 minggu), terlihat pertumbuhan akarnya terhambat.

Keberhasilan pertumbuhan dan perkembangan dalam kultur jaringan dipengaruhi oleh beberapa hal yaitu genotype

tanaman, macam dan perlakuan bahan eksplan serta komposisi media yang digunakan (Hamidah *et al.*, 1997, Kapoor *et al.*, 2011). George *et al.* (2008) juga menyatakan bahwa keberhasilan aplikasi dan pengembangan dalam perbanyak kultur jaringan tanaman dengan berbagai perlakuan sangat dipengaruhi oleh tingkat kesesuaian bahan eksplan yang dikulturkan agar dapat beregenerasi dan tumbuh menjadi plantlet.



Keterangan : T1= Tanpa pemanasan, T2= pemanasan 37°C 2 minggu, T3 = pemanasan 37°C 4 minggu, T4 = Pemanasan 37°C 6 minggu. E1= 1/3 siung, E2 = Shoot tip, E3= Jaringan meristem

Gambar 5. Rata-rata Jumlah Daun Plantlet Bawang Putih var. Tawang Mangu

Pengamatan secara visual pada umur tanaman 4 – 8 MST rata-rata jumlah daun pada perlakuan pemanasan dan ukuran eksplan berjumlah 0.5 – 2.5 yang disajikan pada Gambar 5. Eksplan jaringan meristem (E3), rata-rata jumlah daunnya terkecil bila dibandingkan dengan perlakuan eksplan E1 dan E2 baik dari perlakuan pemanasan maupun tanpa pemanasan. Semakin lama perlakuan pemanasan bahan eksplan dan semakin kecil ukurannya maka rata-rata jumlah daunnya semakin kecil.

Dalam perbanyak tanaman melalui kultur jaringan respon dari eksplan sangat bervariasi bergantung pada beberapa komponen yaitu a) media tumbuh, unsur yang ditambahkan ke media kultur, b) jenis eksplan : ukuran, perlakuan bahan eksplan. Kombinasi dari dua atau lebih komponen yang diaplikasikan secara simultan maupun parsial yang diaplikasikan untuk meningkatkan respon dari eksplan (Roksana *et al.*, 2002; HU *et al.*, 2015, Waswa *et al.*, 2017).

Tabel 1. Hasil Pengujian Virus Plantlet dengan Metode Serologi DAS ELISA

	E1				E2				E3				
	Jml		Terinfeksi		Jml		Terinfeksi		Jml		Terinfeksi		Total
	OYDV	SYSV	OYDV	SYSV	OYDV	SYSV	OYDV	SYSV					
T1	15	5	3	8(8/15= 53.33%)	15	5	5	10(10/15= 66.67%)	12	3	3	6 (6/12= 50%)	
T2	12	4	4	8(8/12= 66.67%)	12	3	3	6 (6/12= 50%)	9	2	3	5 (5/9= 55.56%)	
T3	12	3	4	7(7/12= 58.33%)	10	2	2	4 (4/10= 40%)	8	2	2	4(4/8= 50%)	
T4	10	3	2	5(5/10= 50%)	8	2	2	4 (4/8 = 50%)	6	1	2	3(3/6= 50%)	

Keterangan : T1= Tanpa pemanasan, T2= pemanasan 37°C 2 minggu, T3 = pemanasan 37°C 4 minggu, T4 = Pemanasan 37°C 6 minggu. E1= 1/3 siung, E2 = Shoot tip, E3= Jaringan meristem, OYDV = Onion Yellow Dwarf Virus; SYSV = Shallot Yellow Stripe Virus

Hasil dari beberapa penelitian tentang penyakit sistemik virus pada tanaman bawang putih atau keluarga *Allium* sp. yaitu kelompok Carla virus, Potty virus dan Allexi virus (Gunaeni *et al.*, 2011; Tan *et al.*, 2010). Penyakit virus yang umum menyerang tanaman bawang putih diantaranya SLV (*Shallot Latent Virus*), OYDV (*onion Yellow Dwarf virus*) dan SYSV (*Shallot Yellow Strip virus*). Penyakit sistemik virus yang umum menyerang tanaman *Allium* sp. di Indonesia ialah OYDV, SYSV atau gabungan keduanya. Penyakit virus yang menginfeksi tanaman bawang putih (*Allium sativum* L.) akan terakumulasi pada generasi tanaman berikutnya. Hal ini dapat mengakibatkan pertumbuhan tanaman terhambat, dikarenakan penyakit tersebut akan berkembang bersamaan dengan perkembangan dan pertumbuhan tanaman.

Hasil uji penyakit sistemik virus dari plantlet yang tumbuh normal dengan metode serologi DAS ELISA, terlihat persentase kultur yang masih terinfeksi virus 40 – 66.67 % (Tabel 1). Dari hasil tersebut dapat dikatakan dengan perlakuan ukuran eksplan dan perlakuan pemanasan bahan eksplan, plantlet yang tumbuh dan berkembang masih ada yang terinfeksi virus. Pada penelitian ini masih terdeteksi penyakit sistemik virus, dimana mengindikasikan perlakuan pemanasan bahan dan ukuran eksplan belum optimal untuk mengeliminasi penyakit virus. Sehingga Ketika eksplan beregenerasi partikel virus masih terbawa (Zaitlin dan Palukaitis, 2000; Pannattoni *et al.*, 2013; Paprstein *et al.*, 2008).

SIMPULAN

Hasil penelitian dapat disimpulkan:

- (1) Pengamatan secara visual, ukuran eksplan memberikan pengaruh pada persentase pertumbuhan, umumnya semakin kecil ukuran eksplan

- persentase plantlet tumbuh abnormal akan semakin tinggi.
- (2) Hasil uji virus pada plantlet terhadap OYDV dan SYSV dengan menggunakan serologi DAS ELISA menunjukkan bahwa plantlet masih terkontaminasi virus tersebut sebesar 40 – 66,67 %.
- (3) Kultur terkontaminasi bakteri dan jamur yang terbawa bahan eksplan sebesar 33.33 – 60%.

DAFTAR PUSTAKA

- Abo El Nil, MM 1977. Organogenesis and embryo genesis in callus culture of garlic (*Allium sativum* L). *Plant Sci. letter.* 9; 259 - 264.
- Armini, NM; GA Wattimena; L. Winata. 1992. Perbanyak tanaman dalam bioteknologi tanaman I. Dalam Wattimena *et al.* (eds) PAU Bioteknologi IPB. Dirjen Dikti Depnt P&K, pp 12 – 18.
- Awan A.R; Mughal S.M; Iftiehar Y and Khan H.Z. 2007. In vitro elimination potato leaf roll virus from potato varieties, *Euro. J. Sci. Res.* 18; 155 - 164.
- Badoni, A, and Chamka, J.S. 2010. In vitro sterilization protocol for micro propagation of *Solanum tuberosum* cv. Kufri Himalini. *Academia Arena.* 2 (4); pp 24-27.
- Barandiara, X; Martin N; Rodriguez Conde, M.F; Pietro Adi M.J and Pietro, A 1999. An efficient method for callus culture and shoot regeneration of garlic (*Allium sativum* L). *Hort. Sci.* 34; 348 – 349.
- Bertaccini A, Botti S, tabanelli D, Dradi G, Fogher C, Previati A, Re F, 2004 Micropropagation and establishment of mite-borner virus free garlic (*Allim sativum* L). *Acta Hort.* 631; 201-206
- Conci.V.C.Canavelli A. Lunello P. Rienzo J.D. Nome S.F. Zumelzu G and Italia

- R. 2003. Yield Losses associated with virus – infected garlic plants during five successive years. *Plant Dis.* 87; 1411-1415.
- Dixit, V and Chaudhary B.R. 2013. *Allium sativum*: for step approach to efficient micropropagation. *Int j of innovative Biological Research*: 2; 6-14
- Eady C; RC Bulter and Y Suo. 1998. Somatic embryogenesis and plant regeneration from immature embryo culture of onion (*Allium cepa* L). *Plant Cell. Report.* 18; 111- 116.
- Geier T. 1990. Anthurium. In Ammirato, PV; DA Evans; WR Sharp and YPS Bajaj (eds). Handbook of plant cell culture orname ntal species. Mac Grow Hill. N. Y. vol 5; p 228 - 252.
- George EF; Hall MA and de Klerk, GJ 2008. The component of plant tissue culture medium I, macro and micronutrients in (eds) George EF; Hall MA and de Klerk, GJ Plant propagation by tissue culture. The background vol I. 3rd (eds). Springer Netherlands.p 274 - 338.
- Gopal J. and Garg I.D. 2011. An efficient protocol of chemo therapy for elimination of potato (*Solanum tuberosum* L) virus by meristem tip culture. *Ind. J. Ag. Sci.* 81; 544 – 549.
- Gunaeni. N; Wulandari AW and Muharam A. 2011. Insiden penyakit tular umbi pada tiga belas varietas bawang merah asal Jabar dan Jateng. *J. Hort.* 21 (2); 164 - 172.
- Haider S, Hossain M, Rahmans, Sultana S, Quddus T, Chakraborti, M Hoque, Shahriar M and Haque M. 2015. In vitro plantlet regeneration of four local garlic (*Allium sativum* L) accession of Bangladesh. *British Biotech J.* 8: 1- 12.
- Hamidah M; A.G. Karim and P.C. Debergh. 1997. Somatic embryogenesis and plant regeneration Anthurium scherzerianum. *Plant cell tissue and organ cult.* 49; 23 – 27.
- Haque, M.S, T Wada and K. Hattori. 1997. High frequency shoot regeneration and plantlet formation from root tip of garlic. *Plant Cell. Tissue Org. Cult.* 50; 87 – 93
- Hu G, Dong Y, Zhang Z, fan X, Ren F and Zhou J. 2015. Virus elimination from in vitro apple by thermotherapy combined with chemotherapy. *Plant Cell Tissue and organ Culture.* 121 (2); 435 - 443.
- Kapoor R; Nasrin. SA; Mahmuduz Zafar and Mujib. A. 2011. Establishment of efficient methods for callus culture and shoot regeneration of local Indian garlic (var. *Yamum Safed*). *J. of Ecobio technology.* 3 (2); 14-17.
- Khar A; R.D. Bhutani; N Yadau; V.K. Chowdhury. 2005. Effect of explants and genotype on callus culture and regeneration in onion (*Allium cepa* L). *Akdeniz Univ.Ziraat Fak. Dergisi.* 18 (3); 397 – 401
- Koch, M; Tanami Zand Salomon R. 1995. Improved regeneration of shoots from garlic callus. *Hort Sci* 30; 378 -379
- Lee SY; Kim HH; Kim YK; Park NI and Park. SU 2009. Plant regeneration of garlic (*Allium sativum* L) via somatic embryogenesis. *Sci Res. And Essay.* 4 (13); 1569-1574.
- Moriconi, D; Conci, V.C; Nome, S.F 1990. Rapid Multiplication of Garlic (*Allium sativum* L) in vitro. *Phyton* 51: 145-151.
- Ohta S; Kumiga T; Nishikawa F; Yamasaki A; EndoT; Iwani. T and Yoshida T. 2011; Evaluation of novel antiviral agent in the elimination of Satsumo Dwarf (SDV) by micrografting citrus. *J. Japan Soc. Hort. Sci.* 80; 145 – 149.

- Roksana R.; MF Nature; R. Islam and MM Hossai. 2002. In vitro bulblet formation from shoot apex in garlic (*Allium sativum* L). *Plant Tissue Culture*. 12; 11-17.
- Shen, Y; M.E.kane and J. Chen. 2008. Effects of genotype *explants* source and plant growth regulatots on indirect shoot organogenesis in *Dieffenbachia* cultivars. *In vitro Cell. Dev. Biol. Plant*. 44; 282 – 288.
- Tan R; Wang L; Hong Ni; Goloping W; 2010. Enhanced efficiency of virus eradication following thermotherapy of *shoot tips* cultures of pear. *Plant Cell Tissue Organ Cult*. 101; 229 – 235.
- Walkey D.G.A; Webb M.J.W; Bold C.J; Miller A. 1987. Production of virus free garlic (*Allium sativum* L) and shallot (*Allium ascolonicum* L) by meristem tip culture. *J. Hortic. Sci*. 62; 211 – 219.
- Waswa.M, Kahuhenzie R and Ochwa-Seemakula M, 2017. Effect of thermotherapy duration, virus type and cultivar interaction on elimination of potato virus Y and S infected seed stocks. *African J of plant sci*. 11 (30); 61 – 70
- Zaitlin M and Palukaitis 2000. Advances in understanding plant viruses and virus diseases. *Am Dev Phytophatol*. 38; 117 - 143.