

超低溫冷凍去病毒技術在臺灣幾種重要無性繁殖作物健康 種苗產業上之應用評估

鄭櫻慧^{1*}、夏奇鈺²、陳金枝¹、張瑞璋¹

¹ 農業試驗所植物病理組，台中市，41362，臺灣

² 農業試驗所生物技術組，台中市，41362，臺灣

* 通訊作者，電子郵件：yhcheng@tari.gov.tw

摘要

鄭櫻慧*、夏奇鈺、陳金枝、張瑞璋。2018。超低溫冷凍去病毒技術在臺灣幾種重要無性繁殖作物健康種苗產業上之應用評估。植物醫學60(2): 1-6。

超低溫冷凍技術主要應用於種原保存，去病毒為附加效果。目前去病毒技術主流仍為生長點組織培養，但在不易得到無病毒生長點培植體且已建立超低溫冷凍保存系統的作物，可評估使用超低溫冷凍去病毒技術（冷療處理）之可行性。比較生長點組織培養與超低溫冷凍技術對去除病毒的效果，過去的研究案例顯示，以生長點培養的再生率較高，惟去病毒率則以超低溫冷凍處理較高，不同品種間之再生率與去病毒率差異極大。本報告嘗試以經濟效益評估蝴蝶蘭、文心蘭、百香果、紅龍果、馬鈴薯、甘藷、草莓、柑桔及綠竹等9種作物應用超低溫冷凍技術去除病毒的可行性。其中草莓及柑桔已有應用超低溫冷凍技術之報告，在有新病毒發生且無法以生長點組織培養去病毒之情況下，建議可嘗試超低溫冷凍去病毒技術之開發應用；蘭花種類繁多，目前農政單位並無提供健康種苗，業者通常以確認無病毒之植株進行分生苗繁殖，農業試驗所（農試所）亦利用擬原球體（Protocorm-Like Body, PLB）加上薄層培養技術建立蝴蝶蘭去病毒技術；馬鈴薯及甘藷生長點培養去病毒效率較超低溫冷凍技術高；百香果、紅龍果及綠竹則尚未建立超低溫冷凍相關技術。總結評估推論目前蝴蝶蘭、文心蘭、百香果、紅龍果、馬鈴薯、甘藷及綠竹等7種作物在臺灣較無發展超低溫冷凍技術去除病毒之急迫性與必要性。

關鍵詞：超低溫冷凍保存、冷療處理、生長點組織培養、擬原球體

無性繁殖作物係利用母體之部份組織來延續後代，若母體

已受病毒感染，則其病毒也會逐代傳遞累積而日趨嚴重，建立無特定病毒之健康種苗為首要防治之道。病毒在植物體內的系統性移行是靠維管組織傳遞，植物生長點（約0.1~0.5 mm）因尚未有維管組織生成，為植物體內少數可逃脫病毒感染之組織，故生長點培養成為獲得無病毒種苗的重要途徑。超低溫冷凍保存（cryopreservation）主要應用於種原保存，去病毒為附加效果，以去病毒為目的之操作，稱為冷療處理（cryotherapy）。因為冷療處理切取的培植體較大（約2 mm），生長點培養去病毒則需切取0.3-0.6 mm，因此冷療處理適用於生長點太小不易操作的作物。目前已有利用超低溫冷凍去病毒技術成功的作物包括：李、香蕉、葡萄、馬鈴薯、柑橘、樹莓（覆盆子）、朝鮮薊、甘藷、大蒜和蘋果等(9, 14)。國內自2002年開始施行文心蘭種苗病毒驗證須知，陸續推出種苗無特定病害驗證之無性繁殖作物如：蝴蝶蘭、綠竹、柑桔、甘藷、馬鈴薯、百香果及香蕉均已建立無特定病毒健康種苗繁殖體系。因目前尚未有以冷療技術為主要去病毒手法的案例，以下僅就國內多數已進行種苗無特定病害驗證體系之無性繁殖作物，包括：蝴蝶蘭、文心蘭、百香果、紅龍果、馬鈴薯、草莓、甘藷、柑桔及綠竹等共9種作物，評估利用超低溫冷凍去病毒之經濟效益及可行性（表一）。

一、蝴蝶蘭、文心蘭：

蘭花為臺灣重要外銷農產品之一，以蝴蝶蘭及文心蘭為主力產品。感染蘭科植物之病毒眾多，包括：蕙蘭嵌紋病毒（*Cymbidium mosaic virus*, CymMV）、齒舌蘭輪斑病毒（*Odontoglossum ringspot virus*, ORSV）、胡瓜嵌紋病毒（*Cucumber mosaic virus*, CMV）及番椒黃化病毒（*Capsicum chlorosis virus*, CaCV）等，尤以CymMV與ORSV兩種病毒最為普遍，亦為國際間共識需檢測之病毒種類^(6, 7)。蘭科植物雖然很早就被發現利用莖頂培養可得到無病毒之種苗，但生長點培

2 J. Plant Med.

表一、國內具健康種苗繁殖體系作物去病毒之方法及冷療處理應用於去病毒之評估

TABLE 1. The establishment of seedling certification system and the evaluation of application of cryotherapy on 9 vegetative propagation crops in Taiwan

	國內無病毒健康種苗現況	國內成熟應用的去病毒方法	冷療處理	
			國外成功報告	是否推薦使用
蝴蝶蘭	未全面建立	PLB誘導與篩選	無	否，PLB誘導與篩選，可達到去病毒需求。
文心蘭	未建立	與蝴蝶蘭相同	無	
百香果	已建立	頂梢嫁接	無	否，低溫可能導致變異，且未建立相關技術。
紅龍果	未建立	待開發	無	
馬鈴薯	已建立	生長點培養	有	否，生長點培養去病毒效率較高。
甘藷	已建立	生長點培養	有	
草莓	已建立	莖頂培養+抗病毒藥劑	無	是，已有應用此技術於保存或去病毒之報告。
柑桔	已建立	頂梢嫁接	有	
綠竹筍	已建立	莖頂培養	無	否，未建立相關技術。

養需要較高的操作技巧，且效率低為其缺點。蘭科植物可經由人為誘導產生protocorm-like body (PLB, 擬原球體)，繁殖效率高，可做為大量繁殖之材料。目前超低温冷凍技術在蘭科植物之應用仍以種原保存為主要目的，未有以去病毒為目的之研究論文發表，但國立中興大學廖松淵教授建立之「蝴蝶蘭超低温冷凍保存去病毒技術」，結合莖頂分生組織培養、化學療法及冷療處理，可成功去除蝴蝶蘭之病毒CymMV，並有技術移轉授權案例。2003年⁽⁷⁾謝等學者利用分生組織誘導之擬原球體配合去病毒藥劑ribavirin處理，獲得無病毒植株。農業試驗所(農試所)夏等學者⁽⁸⁾利用薄層(thin cell layer, TCL)培養技術誘導及繁殖PLB，並配合ribavirin進行蝴蝶蘭去病毒處理，存活培植體之去病毒率達100%。文心蘭為複莖性蘭花，PLB之誘導率及繁殖率高於蝴蝶蘭，預期亦可利用此技術達到去病毒之目的。此外，目前業者大多以經確認無病毒之植株進行分生苗繁殖，獲得無病毒苗株之方法相當多元，因此冷療處理應用於蝴蝶蘭及文心蘭較無必要性。

二、百香果：

百香果素有「果汁之王」美稱，農試所培育的台農一號為紫色種與黃色種雜交後選育的雜交品種，鮮果及加工品質均優於原生種，目前已成為臺灣及東南亞百香果栽培之主力品種。台農一號以嫁接苗繁殖，接穗以台農一號品種蔓生莖嫁接於耐真菌性病害之黃色種實生苗之砧木，病毒會透過接穗嫁接擴散到無性繁殖之嫁接苗。為害百香果之病毒國際間紀錄約20種，臺灣已知有6種：2種東亞百香果病毒 (*East asian passiflora*

virus, 簡稱EAPV)：EAPV-AO類群 (原*Passionfruit woodiness virus*) 及EAPV-IB類群 (原*Passionfruit mottle virus*)、豇豆蚜媒嵌紋病毒 (*Cowpea aphid-borne mosaic virus*, CABMV) (原*Passionfruit crinkle virus*)、CMV；二種Begomovirus屬病毒：聖誕紅捲葉病毒 (*Euphorbia leaf curl virus*, EuLCV) 及木瓜捲葉廣東病毒 (*Papaya leaf curl Guangdong virus*, PaLCuGDV)⁽³⁾，6種病毒中以EAPV危害最為嚴重。透過組織培養之百香果苗，需經田間栽培馴化與鮮果園藝性狀的評估，以確保其原園藝性狀穩定後。因百香果為熱帶亞熱帶果樹，對低溫極其敏感。百香果生長最適宜的生長溫度為15-33℃，4℃時葉片和藤蔓嫩梢乾枯，當百香果受寒害時，生長點受害而有可能導致新生芽葉畸形，產生葉片縮似病毒病之徵狀。因此百香果之去病毒技術，推斷仍以生長點培養法為宜，不建議以超低温冷凍法進行。

三、紅龍果：

紅龍果又稱為火龍果，為仙人掌科的作物。紅龍果為新興熱帶及亞熱帶果樹。危害紅龍果之病毒有仙人掌X病毒 (*Cactus virus X*, CVX)、蟹爪蘭X病毒 (*Zygocactus virus X*, ZyVX)及紅龍果X病毒 (*Pitaya mosaic virus*, PtMV)，初步調查發現國內紅龍果園多已遭受CVX、ZyVX和PiVX這3種Potexvirus所危害，但發生率各不相同⁽²⁾。目前商業栽培的紅龍果主要是以肉質狀三角莖進行繁殖，病毒極容易經由罹病母株所繁殖之種苗或日常管理中修剪枝芽和採收果實使用剪刀器具散播。紅龍果與百香果同為熱帶、亞熱帶果樹，對低溫極其敏感，因此有關去病毒技術研發，建議先建立組織培養微體繁殖技術，由於生長點培養仍是去病毒技術的主流，應優先利用生長點培養法或是搭配抗病毒藥劑的應用，測試誘導無病毒健康種苗的形成，倘上述技術無法成功，再嘗試以超低温冷凍技術達到去病毒效果。惟此法除了再生系統之外，必須另外建立適用的前處理方法與後續解凍步驟，需要較長研發時間。

四、馬鈴薯：

馬鈴薯又名洋芋、洋山芋、土豆，產於南美祕魯安地斯山脈，為茄科茄屬一年生草本作物，臺灣以中南部的冬季最適合栽植。馬鈴薯為無性繁殖作物，無性繁殖作物之種苗如帶有病蟲害或感染病毒，將造成嚴重的品種退化及生產力下降。馬鈴薯種薯病害驗證作業須知規定種薯檢驗4病毒：馬鈴薯S病毒 (*Potato virus S*, PVS)、馬鈴薯X病毒 (*Potato virus X*, PVX)、馬鈴薯Y病毒 (*Potato virus Y*, PVY)、馬鈴薯捲葉病毒 (*Potato leaf roll virus*, PLRV)⁽⁵⁾。農試所為馬鈴薯種薯病害驗證單位，監測之原原種無上述4種病毒。目前馬鈴薯健康種苗生產以生長點培養技術便可成功去除病毒，建立無病毒組培瓶苗⁽¹⁵⁾，相較於超低温冷凍去病毒技術，具有更方便、快速及成功率高的優點。

五、甘藷：

甘藷是臺灣重要的雜糧作物，每年的栽培面積約在1萬公頃左右，臺灣主要感染甘藷的7種病毒，其中以感染甘藷羽狀斑駁病毒 (*Sweet potato feathery mottle virus*, SPFMV) 為最多，若因種傳累積或複合感染，對甘藷產量會有很大的影響。農試所嘉義分所建立甘藷生長點培養可成功去除病毒，並培育無病毒組培瓶苗。根據文獻⁽⁴⁾及嘉義分所試驗結果，甘藷利用超低溫冷凍進行去病毒，結果顯示台農57號、台農66號及2野生種經過超低溫冷凍處理後的再生率 (2.2-15.2%) 及去病毒率 (44.4-100%) 不同，台農57號及台農66號的再生率分別為2.2%及13.1%，去病毒率都為100%。供試之一野生種的再生率15.2%，但去病毒率僅有44%，差異極大；而利用超低溫冷凍處理後之存活率及再生率更遠低於生長點培養之結果。國外的報告⁽¹⁶⁾雖成功以CIP-199004.2品系進行超低溫冷凍去病毒處理，去除病毒及植物菌質二種病原，利用超低溫冷凍處理去除甘藷的病毒與植物菌質之比率高達100%，惟經過超低溫冷凍處理也降低其再生率，超低溫冷凍未見明顯提高去病毒培植體數量。在其報告中，切取1 mm的生長點培植體即可百分之百得到去病毒苗，高於一般去病毒需要切取的生長點大小 (0.3-0.6 mm)，證明生長點培養已足夠甘藷去病毒之需，故不建議以超低溫冷凍去病毒技術應用於甘藷之去病毒處理。

六、草莓：

草莓為草莓屬之多年生草本植物。草莓性喜冷涼氣候，生育適溫為18-22℃。臺灣因地理氣候之限制，每年可供生產之栽培適期很短，僅限於冬天與春天生產。草莓多以無性繁殖培育種苗，栽培者如果誤用帶有病原之種苗，會造成草莓減產，嚴重時甚至減產達到85%以上。草莓病害以灰黴病、果腐病、白粉病及炭疽病最為嚴重，葉芽線蟲次之。國外報告有草莓潛隱環斑病毒 (*Strawberry latent ringspot virus*, SLRSV) 等20多種病毒危害草莓⁽¹¹⁾。目前，草莓一般以走莖繁殖，亦建立三級制度生產。臺灣的草莓始自七十年代從日本引進栽培，經過桃園改良場馴化與選種，中興大學植病系的無病毒組培苗開發及種苗場的三級制度生產。國內研究機構雖已開發草莓超低溫冷凍保存技術⁽¹²⁾，去病毒仍以莖頂培養為主，或配合熱療法、化學療法以增加去病毒之成功率。另，草莓也有應用花藥培養去病毒等技術，若上述方法均無法達到去病毒效果，則利用已建立的超低溫冷凍技術可嘗試作為去病毒技術之選項。

七、柑桔：

柑桔是泛指芸香科柑桔屬、枳屬及金橘屬的作物，為臺灣分佈最廣，產量最高，產值最大之果樹。柑桔的繁殖方法可分為實生法、嫁接法及空中壓條法。商業上以嫁接法為主，嫁接法利用砧木增加風土適應性、抗病性及產量與品質；實生

法僅用於雜交育種後代選育及砧木培育；空中壓條只有少數柑農利用。柑桔嫁接繁殖有芽接與切接兩種。以往以切接為多，近年芽接已逐漸普遍。臺灣柑桔因普遍遭受病毒病為害，因此健康苗木極為重要。1973年起始的臺灣柑桔健康種苗計畫，選拔之母樹以椪柑、桶柑等品種為主，並以熱療程序消除病原。1982年「臺灣柑桔產業發展輔導方案」成立原種園、採穗園與健康苗圃，以頂梢嫁接 (shoot-tip grafting) 消除病原⁽¹³⁾。目前已培育原種樹92品種、採穗樹32品種品系，並陸續將臺灣歷年來引進之品種予以去除病原。在臺灣，危害最嚴重的是黃龍病 (*Candidatus Liberibacter asiatica*)；此外，柑桔鱗皮病 (*Citrus psorosis virus*, CPsV)、南美立枯病 (*Citrus tristeza virus*, CTV)、溫州蜜柑萎縮病 (*Satsuma dwarf virus*, SDV)、柑桔破葉病毒 (*Citrus tatter leaf virus*, CTLV)、鱗砧病 (*Citrus exocortis viroid*, CEVd)、木孔病 (*Citrus cachexia viroid*, CCaVd) 等均已存在⁽⁸⁾。嘉義分所建立頂梢嫁接及熱療等技術去除病原，檢定合格後作為原原種。雖然柑桔為國際間已建立超低溫冷凍去病毒技術之作物，惟目前國內重要柑桔病毒皆可以頂梢嫁接及熱療處理等技術去除，若有無法去除之病原發生時，超低溫冷凍技術或可彌補其不足之處。

八、綠竹：

綠竹屬於禾本科、竹亞科、籐筴竹屬，綠竹筍是臺灣最著名的食用筍種，為夏季臺灣重要的蔬菜。由於竹類幼年期長，少有開花，結實不易，栽培上仍以分株、扦插及壓條等方法繁殖，分株法為綠竹栽培最普遍採行之方法。選擇健康的竹苗是成功栽培綠竹筍的第一步，竹嵌紋病毒 (*Bamboo mosaic virus*, BaMV) 為綠竹主要病毒病害。BaMV可由二種常見的雙翅目昆蟲腹帶實蠅 (*Gastrozona fasciventris*) 及東方芒蠅 (*Atherigona orientalis*) 蟲媒傳播⁽¹⁾，也可藉由器械如採筍刀及鋤具等傳播，健康母園容易受到污染。現行健康種苗係由中興大學利用組織培養側芽處理抗病毒藥劑ribavirin，成功得到無病毒植株，並由種苗場繁殖，經桃園改良場種植後從產筍量及品質均優的竹株，自外觀判定無感染病毒之病徵者，再以「酵素結合免疫吸附分析法 (ELISA)」進行確認後始供健康種苗的繁殖材料。中央研究院以未受病毒感染材料進行組織培養繁殖⁽¹⁰⁾，亦可作為無病毒健康竹苗來源，故目前超低溫冷凍去病毒技術應用於綠竹筍並無必要性。

組織培養種苗繁殖技術已廣泛應用於多種無性繁殖作物，其主要目的在於繁殖性狀均一旦穩定之優質種苗。國內已進行種苗無特定病害驗證體系的作物如：馬鈴薯、甘藷、柑桔、百香果及綠竹筍均已建立無病毒健康種苗繁殖體系。另外香蕉、葡萄及大蒜等以無性繁殖之重要作物尚有去病毒需求時，亦可參考國外已有的成功例子，開發適用的超低溫冷凍技術，俾獲得去病毒的再生植株。

在健康親本容易受到病毒感染的風險下，利用超低溫冷凍

4 J. Plant Med.

提高去病毒效率有其發展的價值，在甘藷⁽⁴⁾和朝鮮薊⁽¹⁴⁾的試驗中都證明不同品種間差異極大，亦凸顯超低溫冷凍去病毒技術在普遍應用尚有其難度。另一使用限制是超低溫冷凍技術通常適用於具有低溫耐受性的溫帶作物，熱帶及亞熱帶作物較不耐低溫冷凍，可能在過程中細胞會凍傷，導致細胞組織難以存活，例如百香果和紅龍果尚未有使用超低溫冷凍技術的相關報告。綜合而言，生長點組織培養為去病毒技術主流，對於生長點組織培養不易成功且無其他有效方法去病毒的作物，或是對於已建立超低溫冷凍保存系統的作物，可嘗試利用超低溫冷凍去病毒技術，但應用超低溫冷凍技術在不同作物及不同品種均須建立其適合的處理方法與再生系統，需要時間測試研發且難以一體適用。

謝 辭

感謝農試所同仁周建銘助理研究員、陳威臣助理研究員、蔡嫻婷特聘研究員、蕭翌柱副研究員、黃哲倫助理研究員、陳祈男助理研究員及莊庭涵小姐協助資料收集整理並提供寶貴意見，謹此致謝。

引用文獻

1. Chang, K. C., Chang, L. T., Huang, Y. W., Lai, Y. C., Lee, C. W., Liao, J. T., Lin, N. S., Hsu, Y. H., and Hu, C. C. 2017. Transmission of *Bamboo mosaic virus* in bamboos mediated by insects in the order Diptera. *Front. Microbiol.* 8: 870.
2. Chang, Y. C., Kuo, T. Y., Mao, C. H., Lu, Y. C., and Li, Y. S. 2015. Study of pitaya viral diseases in Taiwan. P107-114. In: *Proceedings of the Symposium on Important New Emerging Crop Disease in Taiwan and Their Controls*. Taichung, Taiwan.
3. Chen, C. C., Cheng, Y. H., and De, T. C. 2014. The importance and prospect of virus - free healthy seedlings on the development of passion fruit industry. *Plant seedling biotechnology* 37: 63-70. (in Chinese)
4. Cheng, Y. H., Lin, C. Y., and Lo, S. F. 2015. Effect of cryotherapy to shoot tips culture on elimination of sweet potato virus. *Crop, Environment & Bioinformatics* 12: 132-141. (in Chinese with English abstract)
5. Chiang, K. S., Chung, W. C., Lin, S. H., Lai, H. H., and Wang, S. F. 2008. Group-testing design for the infection rates of potatoes viruses. *Plant Pathol. Bull.* 17: 321-326.
6. Hsia, C. N., Chen, C. C., Lin, N. H., and Tsai, W. T. 2017. Effect of explant type and ribavirin treatment on virus elimination of *Phalaenopsis* spp. *J. Taiwan Agric. Res.* 66: 146-157. (in Chinese with English abstract)
7. Hsieh, R. M., Chen, C. C., Lin, Y. S., Chen, W. H., and Chang, C. A. 2003. *Phalaenopsis* virus elimination by tissue culture. *Taiwan Sugar Res. Inst.*: 39-47. (in Chinese with English abstract)
8. Huang, A. S. and Yang, R. M. 2010. Citrus healthy budwood cultivation and scion supply. *Technol. Service of TARI* 81:7-9. (in Chinese)
9. Li, B. Q., Feng, C. H., Hu, L. Y., Wang, M. R., and Wang, Q. C. 2016. Shoot tip culture and cryopreservation for eradication of *Apple stem pitting virus* (ASPV) and *Apple stem grooving virus* (ASGV) from apple rootstocks 'M9' and 'M26'. *Ann Appl Biol* 168: 142 - 150.
10. Lin, C. S., Kalpana, K., Chang, W. C., and Lin, N. S. 2007. Improving multiple shoot proliferation in Bamboo mosaic virus-free *Bambusa oldhamii* Munro propagation by liquid culture. *HortScience* 42: 1243-1246.
11. Martin, R. R. and Tzanetakis, I. E. 2006. Characterization and recent advances in detection of strawberry viruses. *Plant Dis.* 90: 384-396.
12. Shiau, Y. J. and Chen, G. W. 2014. Study on the cryopreservation of non-cold hardening *Fragaria x ananassa* Duch. shoot tips. *J. Taiwan Agric. Res.* 63: 57-67. (in Chinese with English abstract)
13. Su, H. J., Hwang, A.S., Lee, S. Y., and Hao, C. P. 2007. Conservation, disease-indexing and utilization of pathogen-free citrus and banana genetic resources in Taiwan. *The onservation and Utilization of Tropical/ Subtropical Plant Genetic Resource*: 1-24.
14. Taglienti, A., Tiberini, A., and Barba, M. 2013. Cryotherapy: a new tool for the elimination of artichoke viruses. *J. of Plant Pathology* 95, 597-602.
15. Wang, P. J. and Hu, C. Y. 1982. In vitro mass tuberization and virus-free seed-potato production in Taiwan. *American Potato Journal* 59: 33-37.
16. Wang, Q. C., and Valkonen, J. P. 2008. Elimination of two viruses which interact synergistically from sweet potato by shoot tip culture and cryotherapy. *J. Virol. Methods* 154: 135-145.

ABSTRACT

Cheng, Y. H.^{*}, Hsia, C. N., Chen, C. C., and Chang, R. J. 2018. Evaluation of cryotherapy for its industrial application in virus elimination of several important vegetative propagation crops in Taiwan. *J. Plant Med.* 60(2): 1-6.

*Corresponding author, E-mail: yhcheng@tari.gov.tw

Cryopreservation is a technique commonly used to preserve plant tissues in liquid nitrogen. This method is one of the most important tools to preserve germplasm. When shoot tips are used as explants, cryopreservation may have extra functions in virus elimination. This phenomenon is known as cryotherapy. Studies have shown that using shoot-tip or meristem culture could improve the efficacy of regeneration but fails to completely eliminate viruses occasionally. Cryotherapy could greatly improve the efficiency of virus elimination in some crops. Plant cells in the top layers of apical dome and primordia of two youngest leaves are able to survive after cryotherapy. However, the regeneration rate and virus elimination vary considerably even among different varieties of the same crop. This report evaluates the economic feasibility of cryotherapy applying to eliminate viruses in nine vegetatively propagated crops including *Phalaenopsis*, *Oncidium*, passion fruit, pitaya, potato, sweet potato, strawberry, citrus and bamboo in Taiwan. Cryopreservation has been reported in strawberry and citrus. To deal with newly invasive viruses which can't be eliminated by meristem culture, cryotherapy would be a better alternative. Unlike strawberry and citrus, cryotherapy may not be economically practical in potato and sweet potato because viruses in these two crops can be effectively removed by meristem culture. Cryopreservation has never been developed for passion fruit, pitaya and bamboo and it remains unclear whether or not the method will be effective to eliminate viruses in these three crops. There is an urgent need to eliminate viruses using cryotherapy in orchids. When orchid plants are infected by viruses, meristem culture coupling with chemotherapy and/or thermotherapy is often used to generate virus-free plants. In addition, researchers in the Taiwan Agricultural Research Institute have recently developed a new technique using thin sections from protocorm-like body (PLB) and ribavirin treatment to eliminate viruses in *Phalaenopsis* and *Oncidium*. Through our assessments, we conclude that there is no urgent need to develop cryotherapy to eliminate viruses in *Phalaenopsis*, *Oncidium*, potato, sweet potato, passion fruit, pitaya and bamboo in Taiwan.

Keywords: cryopreservation, cryotherapy, meristem culture, protocorm-like body