

# 建立檳榔心芋組織培養並應用於誘變育種之初探

丁昭伶 \*、羅宇秀

農業部苗栗區農業改良場

## 摘要

本研究探討培養基中添加植物生長調節劑對檳榔心芋芽體增殖與發根之影響，並利用增殖之組織培養芽體為材料，以不同強度  $\gamma$  射線照射進行誘變育種。結果顯示培養基中添加 6-benzylaminopurine (BA) 或 Kinetin 具有效促進芽體增殖之效果，其中 0.5、1.0 mg/L BA 及 1.0 mg/L Kinetin 處理獲得之芽體增殖數依序為 2.5、2.6 及 2.1，顯著高於不添加細胞分裂素對照之 1.0。進一步探討不同濃度 BA(0.5、1.0、1.5、2.0、3.0 及 5.0 mg/L) 對促進芽體增殖的效率，結果顯示芽體增殖數在 2.3~2.9 間，但各濃度間不具顯著差異。接續以生長素處理進行促進芽體發根試驗，結果顯示添加 1.0 mg/L Indole butyric acid (IBA) 及 0.1 mg/L 1-Naphthaleneacetic acid (NAA) 的根數分別為 12.5 及 14.5，顯著高於未添加生長素對照之 7.8。利用組織培養增殖之芽體以  $\gamma$  射線不同劑量 (0、5、10、15、20、25 Gy)(1 Gy = 1 Gray = 1 m<sup>2</sup>/s<sup>2</sup>) 進行照射，並於處理後 3 個月進行調查，結果顯示以 15 Gy 處理最佳，有最高之芽體存活率達 99.6% 與變異率 27.7%，而以 20 Gy 處理後芽體已低於半致死量，顯示  $\gamma$  射線較適宜之照射劑量應在 15~20 Gy 之間。

**關鍵詞：**檳榔心芋、組織培養、誘變處理、 $\gamma$  射線

\*論文聯繫人

e-mail: ding@mdares.gov.tw

## 前言

芋 (*Colocasia esculenta* (L.) Schott) 原生印度－馬來西亞地區 (Indo-Malaysian region)，為天南星科 (Araceae) 重要根莖類作物，其球狀地下莖富含澱粉及低量的脂

肪和礦物質；葉及葉柄富含胡蘿蔔素，在許多國家芋球莖為主要的澱粉來源，芋葉、葉柄及花則供作蔬菜食用 (Seetohul *et al.*, 2008)，亦常被多元利用於烹飪、甜品及加工原料等。臺灣近十年來芋之栽培面積約 2,514 公頃，年產量約 41,883 公噸（臺灣農業年報），主要產區有臺中市、苗栗縣、屏東縣及花蓮縣等地，以食用母芋的檳榔心芋為主要栽培品種，採水芋耕作方式與水稻輪作。因栽培品種單一、環境變遷及耕作習慣等綜合因子導致近年來病害發生日趨嚴重，其中軟腐病為造成產量及品質降低之主要原因，影響產業甚鉅。芋為無性繁殖作物，種苗（子芋）帶菌是軟腐病為害及傳播的主要來源及管道，利用組織培養可建立無特定病原之健康種苗，有利於降低軟腐病發生率。

經由品種選育育成抗（耐）軟腐病品種是降低病害最直接途徑，此外，育成高耐候性或具其他優良性狀之品種亦有利產業發展及增加品種多樣性。然而，芋在自然環境下鮮少開花結籽，有些栽培種甚至不曾開花，此一特性造成芋不易以傳統雜交育種達到品種改良之目的 (Onwueme, 1999; Banjaw, 2017)，因此，利用組織培養結合誘變育種，選拔性狀優良之變異株，可望作為改良芋品種之替代途徑。誘變育種已成功應用於多種作物，包括穀物、豆類、花卉、油料植物、藥用和芳香植物等，可改進品種之諸多特性，如增加產量、營養品質及適應性等 (Raina *et al.*, 2016; Agrawal and Kumar, 2021)。芋之誘變研究包含物理性之放射線及化學性之秋水仙素處理，其中 Malamug *et al.* (1994) 指出芋以  $\gamma$  射線配合頂芽培養，可得到相對高頻度及廣泛的型態變異，包括株型、葉形、球莖型態、開花等。

植物種類、植體部位、照射劑量、照射時機及照射次數等條件均能影響誘變結果，例如菊花癒傷組織對  $\gamma$  射線的忍受性因品種而異，以相同處理劑量而言，分成 2 次照射處理較 1 次處理的效果為好 (朱和江, 2004)；觀賞鳳梨組培芽原體以 75 Gray 劑量處理，可得到較高比率的枝條變異率 (林和蔡, 2005)；蔓綠絨藉由結合組織培養與輻射誘變的方式，可有效獲得蔓綠絨變異體，對於無性繁殖作物之育種與品種開發具有助益 (陳等, 1999)。根據國際原子能總署 (International Atomic Energy Agency) 統計，至 2021 年為止，全世界已利用誘變自 226 個物種中獲得近 3,364 個變異株。如何建立適當之誘變條件是誘變育種成功與否的重要關鍵，利用組織培養技術結合誘變處理，可於短時間內在實驗室內完成初步選拔及增殖具有變異性狀的植物體，節省時間及空間成本，特別適用於無性繁殖作物的育種改良。

本研究以國內主要栽培種檳榔心芋為材料，進行不同生長調節劑對組織培養芽體繁殖倍率影響之探討，期能建立無特定病原之健康種苗，經馴化定植於田間有助於降低軟腐病發生率。另利用已建立之芋組織培養芽體，探討利用不同劑量  $\gamma$  射線照射處理對檳榔心芋進行誘變育種之可能性。

## 材料與方法

### 一、檳榔心芋組織培養體系之建立

(一) 試驗材料取自苗栗地區水芋田，選取生長強健且外觀無病蟲害檳榔心芋植株之子芋球莖作為培植體。

(二) 無菌培養之建立(初代培養)：子芋去除葉片及外葉鞘並經清水洗淨後，切取頂芽(含約  $1\text{ cm}^2$  之球莖)以 70% 乙醇浸漬 30 秒，接著以 1% 次氯酸鈉利用超音波消毒 15 分鐘，之後移至無菌操作臺以無菌水清洗 3 次後，切取長度約 0.5 cm 之芽體(含約  $0.5\text{ cm}^2$  之球莖，圖一)。培養基內含 1/4 量 MS (Murashige and Skoog, 1962) 並添加 20 g/L sucrose (Sigma)、8 g/L Agar (Difco Bactoagar)，pH 調至 5.7，以 121°C 高溫滅菌 20 分鐘。此一培養基(以下簡稱基礎培養基)亦為下列各試驗培養基之基本成分。培養環境之光照週期為光期 16 小時，暗期 8 小時，溫度  $24 \pm 2^\circ\text{C}$ ，待芽體增殖後進行下列各試驗。

### (三) 細胞分裂素對芽體增殖之影響

#### 1. 6-benzylaminopurine (BA) 及 Kinetin 對檳榔心芋芽體增殖之影響

取大小約 0.5 cm 之無菌芽體，培養於含有 0.5、1.0 mg/L 濃度之 BA (Sigma) 及 Kinetin (Sigma) 基礎培養基中，以未添加細胞分裂素之基礎培養基作為對照，每處理 5 重複，每重複含 5 個培植體進行芽體增殖試驗，培養環境之光照及溫度條件同初代培養。每月調查芽體生育情形(包括芽體數、株高、葉片數及根數等)。

#### 2. 不同濃度 BA 對芽體增殖之影響

取大小約 0.5 cm 之無菌芽體分別培養於添加 0.5、1.0、1.5、2.0、3.0 及 5.0 mg / L 濃度 BA 之基礎培養基中，培養條件、重複數及調查項目同前述。

#### (四) 生長素對芽體發根之影響

取增殖之芽體培養於含有 0.1、0.5 及 1.0 mg/L Indole butyric acid (IBA, Sigma) 或 1-Naphthaleneacetic acid (NAA, Sigma) 之基礎培養基中，培養條件同前述，經一個月培養後調查芽體數、株高、葉片數及根數等。



圖一、檳榔心芋組織培養之初代培養。(A) 子芋外觀，(B) 消毒前之芽體，含約  $1\text{ cm}^2$  球莖之頂芽，(C) 接種於培養基約 0.5 cm 大小之培養芽體 (含約  $0.5\text{ cm}^2$  球莖)

Fig. 1. *In vitro* culture establishment of *Colocasia esculenta* (L.) Schott. (A) Small corms with buds for the primary culture. (B) Terminal buds containing about  $1\text{ cm}^2$  corm before sterilization. (C) Cultured explant with 0.5 cm in size (containing about  $0.5\text{ cm}^2$  corm)

#### 二、放射線誘變處理

取前述建立之無菌芽體以鈷 -60  $\gamma$  射線照射進行放射線處理，照射處理於國立清華大學之鈷六十照射場中進行，照射劑量率為 38 Gy/min，處理劑量為 5、10、15、20、25 Gy，以未照射培植體作為對照，每皿接種 25 個培植體，每處理 10 重複。經  $\gamma$  射線照射後之芽體培養於基礎培養基中，每月繼代 1 次並於 30、60 及 90 天時調查存活率及觀察培植體是否產生變異。

#### 三、統計分析

試驗採完全隨機設計，試驗資料以 SAS EG ver.7.1 統計分析軟體進行變方分析，並利用最小顯著差異性測驗 (least significant difference test, LSD) 比較各處理平均值間之差異。

## 結果與討論

### 一、細胞分裂素對芽體增殖之影響

#### (一) BA 及 Kinetin 對檳榔心芋芽體增殖之影響

試驗結果顯示，培養基添加 BA 及 Kinetin 皆可促進檳榔心芋芽體增殖，其中除了 0.5 mg/L Kinetin 與對照無顯著差異外，另三種處理之芽體增殖率均顯著高於對照。添加 0.5、1.0 mg/L BA 及 1.0 mg/L Kinetin 經一個月培養之芽體增殖數分別為 2.5、2.6 及 2.1，但這三種處理間不具顯著差異。各處理之株高在 1.8~2.4 公分間不具顯著差異，但顯著低於對照(4.4 公分)；芽體發根數除了 0.5 mg/L Kinetin 處理之 6.3 與對照 8.3 不具顯著差異外，另三處理之平均根數皆顯著少於對照，而平均葉片數各處理與對照表現均相等(表一)，顯示細胞分裂素可提高芽體增殖率但同時亦會減緩芋芽體生育。Yam *et al.* (1990) 於芋組織培養繁殖研究顯示，培養於添加 NAA 或 BA 之培植體株高及根數皆小於未添加植物生長調節劑之對照，而添加植物生長劑與否並不會影響葉片數，本研究亦得到相似之結果。

表一、不同濃度之 6-benzylaminopurine (BA) 與 Kinetin 對檳榔心芋組培芽體增殖之影響

Table 1. Effects of 6-benzylaminopurine (BA) and Kinetin concentrations on in vitro bud proliferation of *Colocasia esculenta* (L.) Schott

Cytokinin (mg/L)	No. of bud	Height (cm)	No. of leaf	No. of root
Control	1.0 ± 0.0 b <sup>z</sup>	4.4 ± 0.5 a	2.0 ± 0.0 a	8.3 ± 0.7 a
BA	2.5 ± 0.4 a	2.1 ± 0.2 b	2.0 ± 0.0 a	5.0 ± 0.8 b
BA	2.6 ± 0.4 a	2.4 ± 0.0 b	2.0 ± 0.0 a	3.7 ± 1.3 b
Kinetin	2.0 ± 0.4 ab	1.8 ± 0.3 b	2.0 ± 0.0 a	6.3 ± 1.2 ab
Kinetin	2.1 ± 0.4 a	2.0 ± 0.3 b	2.0 ± 0.0 a	4.7 ± 0.2 b

<sup>z</sup> Mean and standard error (n = 5) within each column followed the different letter are significantly different at  $p \leq 0.05$  by Fisher's protected LSD test

#### (二) 不同濃度 BA 對芽體增殖之影響

檳榔心芋芽體培養於添加 0.5、1.0、1.5、2.0、3.0 及 5.0 mg/L 濃度 BA 之基礎

培養基中，以未添加 BA 之培養基作為對照，經一個月培養後調查顯示，培養基中添加不同濃度 BA 均可促進芽體增殖，平均芽體增殖數為 2.3~2.9 個，除了高濃度 3.0 及 5.0 mg/L BA 處理與對照無顯著差異外，其他 4 個 BA 濃度 (0.5~2.0 mg/L) 處理之芽體增殖數均顯著高於對照，但添加 BA 各處理之株高及根數均顯著低於對照組，葉片數亦以對照組顯著較多，但和 3.0 mg/L 處理不具顯著差異（表二）。

表二、不同濃度 6-benzylaminopurine (BA) 對檳榔心芋組培芽體增殖之影響

Table 2. Effects of 6-benzylaminopurine (BA) concentrations on *in vitro* bud proliferation of *Colocasia esculenta* (L.) Schott

BA (mg/L)	No. of bud	Height (cm)	No. of leaf	No. of root
0.0	1.0 ± 0.0 b <sup>z</sup>	4.5 ± 0.2 a	2.6 ± 0.0 a	9.4 ± 0.4 a
0.5	2.6 ± 0.5 a	2.1 ± 0.3 b	1.9 ± 0.0 bc	4.1 ± 0.9 bc
1.0	2.4 ± 0.5 a	2.1 ± 0.5 b	1.9 ± 0.0 bc	5.3 ± 1.8 b
1.5	2.9 ± 0.5 a	2.3 ± 0.3 b	1.6 ± 0.0 bc	2.5 ± 1.3 cd
2.0	2.6 ± 0.6 a	2.3 ± 0.3 b	1.4 ± 0.0 c	2.0 ± 0.9 cd
3.0	2.3 ± 0.5 ab	2.2 ± 0.3 b	2.0 ± 0.0 ab	0.5 ± 0.3 d
5.0	2.3 ± 0.6 ab	1.7 ± 0.2 b	1.5 ± 0.0 bc	0.0 ± 0.0 d

<sup>z</sup> Mean and standard error (n=5) within each column followed the different letter are significantly different at  $p \leq 0.05$  by Fisher's protected LSD test.

## 二、生長素對芽體發根之影響

將檳榔心芋芽體培養於添加 0.1、0.5 及 1.0 mg/L IBA 及 NAA 之基礎培養基中，以未添加生長素之基礎培養基作為對照，經 30 天後調查發根情形，結果顯示以添加 0.1 mg/L NAA 及 1.0 mg/L IBA 處理之芽體平均發根數分別為 14.5 及 12.5，顯著高於不添加生長素之對照及其他處理，但與添加 0.5 mg/L NAA 之處理 (11.3) 不具顯著差異；株高以添加 0.1、0.5 mg/L IBA、0.1 mg/L NAA 及對照顯著高於其他處理，株高分別為 5.6、5.1、4.2 及 5.3 cm；而各處理之芽體數和葉片數與對照皆無顯著差異（表三）。另由試驗觀察 1.0 mg/L NAA 處理之根呈現肥大畸型現象，顯示 1.0 mg/L NAA 之濃度可能偏高不利根系發育。

表三、不同濃度 Indole butyric acid (IBA) 與 1-naphthaleneacetic acid (NAA) 對檳榔心芋組培芽體發根與生長之影響<sup>z</sup>

Table 3. Effects of Indole butyric acid (IBA) and 1-naphthaleneacetic acid (NAA) on rooting and growth of *Colocasia esculenta* (L.) Schott in vitro buds<sup>z</sup>

Auxin	mg/L	No. of bud	Height (cm)	No. of leaf	No. of root
Control	0.0	1.1 ± 0.1 a <sup>y</sup>	5.3 ± 0.9 a	2.4 ± 0.2 a	7.8 ± 0.8 c
IBA	0.1	1.1 ± 0.1 a	5.6 ± 0.6 a	2.5 ± 0.2 a	7.5 ± 1.2 c
IBA	0.5	1.3 ± 0.2 a	5.1 ± 0.6 a	3.1 ± 0.4 a	9.1 ± 0.8 bc
IBA	1.0	1.1 ± 0.1 a	3.0 ± 0.4 bc	2.9 ± 0.3 a	12.5 ± 1.5 ab
NAA	0.1	1.0 ± 0.0 a	4.2 ± 0.6 ab	2.8 ± 0.2 a	14.5 ± 1.4 a
NAA	0.5	1.3 ± 0.3 a	2.6 ± 0.4 c	2.9 ± 0.4 a	11.3 ± 1.7 abc
NAA	1.0	1.3 ± 0.2 a	1.8 ± 0.3 c	2.9 ± 0.2 a	8.9 ± 1.8 bc

<sup>y</sup> Mean and standard error (n = 5) within each column followed the different letter are significantly different at  $p \leq 0.05$  by Fisher's protected LSD test.

<sup>z</sup> Data were collected one month after the treatment.

### 三、檳榔心芋組織培養苗誘變處理

檳榔心芋芽體以鈷  $60\gamma$  射線照射 (0、5、10、15、20 及 25 Gy) 經 1 個月培養，劑量 10 Gy 以下各處理之存活率皆為 100%，15 Gy 以上可見植株褐化現象 (圖二)，15、20 及 25 Gy 處理之植株褐化率分別為 0.4、65.4 及 83.5%。處理後 3 個月調查，5、10 Gy 及對照組培植體之存活率皆為 100%，15、20 及 25 Gy 之存活率分別為 99.6、26 及 1.6%，各處理 (含對照組) 之平均芽體數在 2~3.2 間，變異率 4.1~27.7%，以 15 Gy 最高達 27.7%，次為 20 Gy 之 23.2%，培植體外表可見之變異包括植株型態、葉片形狀及色斑等 (圖三)。性狀調查結果，各處理之平均株高 1.93~5.64 公分、葉數 2.6~4.1、根數 5.1~7.9，性狀調查數值表現皆以 5 Gy 處理最高，20 Gy 處理最低 (表四)。Malamug *et al.* (1994) 指出芋以頂芽組織培養配合  $\gamma$  射線處理可得到相對高頻度及廣泛的型態變異，包括株型、葉形、球莖型態、開花等，照射劑量 5~20 Gy 之平均誘變率為 11.8%，以 20 Gy 最高 33.3%，5 Gy 和 15 Gy 次之 (12.5%)，但 15 Gy

及 20 Gy 照射後芽體死亡率皆逾 50% 以上，其他研究亦指出  $\gamma$ -射線 20 Gy 為芽的致死劑量，10 Gy 會影響植體之葉片數和株高但對新芽無影響 (Seetohul *et al.*, 2008; Nurilimala *et al.*, 2017)，本研究以 20 Gy 照射亦達 74% 芽體死亡率。綜合芽體存活率及變異率結果顯示，檳榔心芋組織培養芽體以 15 Gy 劑量進行照射誘變之表現最佳，而 20 Gy 已達半致死量，因此建議利用  $\gamma$  射線進行檳榔心芋誘變之適宜照射劑量約為 15~20 Gy。

表四、不同劑量  $\gamma$  射線處理對檳榔心芋芽體存活率及變異發生之影響<sup>z</sup>

Table 4. Effects of different doses of  $\gamma$ -rays on the survival rate and variation of *Colocasia esculenta* (L.) Schott in vitro shoots<sup>z</sup>

$\gamma$ -rays (Gy)	survival rate (%)	No. of shoots	Variation rate (%)	Height (cm)	No. of leaf	No. of root
0	100	2.6	4.1	4.47 ± 1.06	3.4 ± 0.2	7.0 ± 1.2
5	100	2.6	15.2	5.64 ± 0.80	3.7 ± 0.6	7.9 ± 0.8
10	100	2.2	14.3	4.61 ± 0.83	3.7 ± 0.2	6.4 ± 1.1
15	99.6	2.2	27.7	3.43 ± 0.73	4.1 ± 0.8	6.4 ± 1.1
20	26	3.2	23.2	1.93 ± 0.93	2.6 ± 1.1	5.1 ± 2.4
25	1.6	2.0	12.5	2.95 ± 1.48	3.0 ± 1.5	7.0 ± 3.6

<sup>z</sup> Data were collected three months after the treatment.



圖二、檳榔心芋組織培養苗以  $\gamma$  射線照射後經一個月培養之生育情形。 $\gamma$  射線照射劑量 (A) 15 Gy, (B) 20 Gy 與 (C) 25 Gy

Fig. 2. Growth of *Colocasia esculenta* (L.) Schott tissue culture seedlings, one month after being irradiated with  $\gamma$ -rays. Doses of r-ray was (A) 15 Gy, (B) 20 Gy and (C) 25 Gy

本研究經不同劑量  $\gamma$  射線照射獲得之植株逾 2,000 株，並已出瓶馴化種植於溫室觀察，其中色斑突變表現不穩定，會隨栽培時間而漸消失，而植株型態、葉形、葉柄顏色等突變性狀較穩定，具變異之植株後續將進行園藝性狀調查、耐抗病檢測及其他相關試驗，以進一步確認變異之可利用性。



圖三、檳榔心芋以  $\gamma$  射線處理於 3 個月後外表型具有變異之組織培養苗。變異類型 (A) 葉片斑點，(B) 葉色斑及葉形，(C) 葉形，(D) 葉形及株型，(E) 葉形，(F) 葉色斑及葉形，(G) 葉形及株型，(H) 葉形及株型

Fig. 3. External morphological variation of *Colocasia esculenta* (L.) Schott *in vitro* shoots after 3 months culturing derived from  $\gamma$ -ray treatments. Types of morphological variation: (A) Dotted leaf, (B) leaf variegation and leaf shape, (C) leaf shape, (D) leaf shape and plant shape, (E) leaf shape, (F) leaf variegation and leaf shape, (G) leaf shape and plant shape, (H) leaf shape and plant shape

## 誌謝

本研究感謝農業部科技計畫 (109 農科 -7.4.3- 苗 -M1 及 106 農科 -8.6.3- 苗 -M1) 經費支持，並感謝劉瑞芬小姐及約僱技術員林煜崑先生協助田間栽培管理，特此致謝。

## 引用文獻

- 朱建鏞、江純雅。2004。菊花組織培養之誘變育種。植物種苗 6(2):12-18。
- 何偉真。1990。植物組織培養在作物育種上的應用。園藝作物育種講習會專刊：81-98。
- 林學詩、蔡月夏。2005。結合組織培養與放射線照射誘導鳳梨變異之研究。中國園藝 51(3)：241-248。
- 洪立。1990。園藝作物育種方法。園藝作物育種講習會專刊：1-28。
- 陳威臣、蕭翌柱、蔡新聲。1999。 $\gamma$ -射線照射蔓綠絨組培苗莖段之誘變研究。中華農業研究 48(4)：32-41。
- Agrawal, L. and M. Kumar. 2021. Improvement in ornamental, medicinal, and aromatic plants through induced mutation. Journal of Applied Biology & Biotechnology. 9(4): 162-169.
- Banjaw, D. T. 2017. Review of taro (*Colocasia esculenta*) genetics and breeding. J Hortic. 4: 1-4.
- Malamug, J. J. F., S. Yazawa, and T. Asahira. 1994. Morphological variants induced from shoot tips of taro (*Colocasia esculenta* (L.) Schott) treated with gamma radiation. Scientia Hortic. 58(1-2): 105-113.
- Mba, C. 2013. Induced mutations unleash the potentials of plant genetic resources for food and agriculture. Agronomy. (3): 200-231.
- Onwueme, I. 1999. Taro cultivation in Asia and the Pacific. Food and Agriculture Organization of the United Nations Regional Office for Asia and the Pacific. Bangkok, Thailand. 8 pp.
- Raina, A., R. A. Laskar, S. Khursheed, R. Amin, Y. R. Tantray, K. P. and S. Khan. 2016. Role of mutation breeding in crop improvement-past, present and future. Asian Research Journal of Agriculture. 2(2): 1-13.
- Seetohul, S., D. Puchooa and V. M. Ranghoo-Sanmkhiya. 2008. Genetic improvement of taro (*Colocasia esculenta* var *esculenta*) through *in-vitro* mutagenesis. University of Mauritius Research Journal. (13A): 79-89.

- Verma, V. M. and J. J. Cho. 2010. Plantlet development through somatic embryogenesis and organogenesis in plant cell culture of *Colocasia esculenta* (L.) Schott. AsPac. J. Mol. Biol. 18(1): 167-170.
- Yam, T. W., G. I. Hsu, and J. Arditti. 1990. Plant regeneration in vitro of South Pacific taro (*Colocasia esculenta* var. *esculenta* cv. Akalomamale, Aracea). Plant cell reports. (9): 229-232.

# Establishment of *in vitro* bud proliferation for mutation induction of taro (*Colocasia esculenta* (L.) Schott)

**Chao-ling Ting\*, Yu-Hsiu Lo**

Miaoli District Agricultural Research and Extension Station, Ministry of Agriculture

## ABSTRACT

In this study, *Colocasia esculenta* (L.) Schott was used as tissue culture material to investigate the effect of plant growth regulators on shoot proliferation and rooting, and the  $\gamma$ -radiation treatment. The results showed that adding 6-benzylaminopurine (BA) or Kinetin to the medium could effectively promote the proliferation of buds, and the proliferation number of buds with 0.5, 1.0 mg/L BA and 1.0 mg/L Kinetin were 2.5, 2.6 and 2.1, respectively, which were significantly higher than that of without cytokinin. In addition, adding different concentrations of BA (0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 3.0 and 5.0 mg/L) could promote the proliferation of buds, and the proliferation number of buds was between 2.3 and 2.9. However, there was no significant difference among these concentrations. In terms of shoot rooting, number of 12.5 with 1.0 mg/L IBA (indole butyric acid) and 14.5 with 0.1 mg/L NAA (1-Naphthaleneacetic acid) were obtained, which were significantly higher than rooting number of 7.8 from the auxin-free control. After irradiating *in vitro* proliferated buds with  $\gamma$ -rays (0, 5, 10, 15, 20, and 25 Gy), the survival rate and variation rate were recorded. It was found that dosage of 15 Gy provides best survival rate of 99.6% and the variation rate of 27.7%. Nevertheless, the survival rate of 20 Gy already reached the half-lethal dose, showing that the suitable irradiation dose of  $\gamma$ -ray may be in the range of 15-20 Gy.

**Keywords:** *Colocasia esculenta* (L.) Schott, tissue culture, mutagenic treatment,  $\gamma$ -rays

\*Corresponding author email: ding@mdares.gov.tw