

γ 射線照射及葉片培養對彩葉芋變異之影響¹

Effects of γ -rays Irradiation and Leaf Blade Culture on Mutations in Caladiums¹

朱 玉² 胡 燦³ 蔡瑜卿⁴ 陳駿季⁴

by

Yu Chu², Tsan Hu³, Yu-ching Tsai⁴, and Junne-Jih Chen⁴

關鍵詞：彩葉芋、 γ 射線、葉片培養、變異、葉形、葉色

Key word: caladium, γ -rays, leaf blade culture, mutation, leaf shape, leaf color

摘要：放射線照射與組織培養技術結合的突然變異誘導方法、可提高變異個體的出現機率並有效的獲得變異個體，該種方法近年在園藝作物的育種上得到了快速進展。本研究首先調查 γ 射線的塊莖照射對彩葉芋塊莖出芽及植株變異之影響，同時探討 γ 射線照射及葉片培養結合的誘導變異方法對彩葉芋變異之影響。28個品種的塊莖以 γ 射線 15Gy 照射後、其塊莖的萌芽比對照組明顯延後，而且最初展開的數枚葉片出現了不規則的葉形、但是後續生長的葉片又恢復正常。‘Frieda Hemple’經 γ 射線照射之塊莖所長出的葉片中，出現了葉色由紅色變成白色的改變，該種改變只是發生在中途展開的一至二枚葉片上，後續長出的葉片又恢復正常葉色。另外，‘Frieda Hemple’經 γ 射線照射之塊莖所長出的葉片作為培植體，由葉片培養的再生個體中同樣出現了白色葉色的改變，然而改變發生在整體植株上，且變異率因培植體類型而不同。其中、一半為白色葉色變異葉片由來之再生個體的變異率為 34.2%；而展開之第一、二、三、四枚葉片由來的再生個體變異率依次為 54.5%、19.4%、4.3%、1.7%；未經 γ 射線照射之塊莖所長出的葉片作為培植體時再生個體中未觀察到白色葉色變異。

前 言

放射線照射及生物技術結合的育種方法，可有效擴大變異的範圍並提高變異的發生機率^(4,7)，該方法在園藝作物特別是觀賞植物的育種上被廣泛利用，並已成功誘導菊花、洋桔梗等的優良變異個體^(3,6,7)。彩葉芋(*Caladium* $\times$ *hortulanum* Birdsey)為夏季重要的觀葉植物，在利用葉片培養繁殖時，再生個體中有變異的出現，然而主要的變異是葉脈由白色或紅色等顏色變為綠色，該種變異較無觀賞

1. 本研究承行政院農業委員會經費補助(88-科技-1.1-糧-07)，謹此致謝。This research was supported by Council of Agriculture, Executive Yuan, under the project of 87st-1.1-F-07.

2. 國立宜蘭技術學院園藝科副教授。Associate Professor, Department of Horticulture, National I-Lan Institute of Technology, I-Lan, Taiwan, ROC.

3. 行政院原子能委員會核能研究所副研究員。Associate Scientist, Institute of Nuclear Energy Rresearch, Council of Atomic Energy, Executive Yuan, Taiwan, R.O.C.

4. 種苗改良繁殖場助理研究員及副研究員。Assistant Scientist and Associate Scientist, Taiwan Seed Improvement and Propagation Station, Taichung, Taiwan, R.O.C.

5. 本文於民國 89 年 5 月 26 日。Date received for publication: May 26, 2000.

價值⁽¹⁾。另一方面，若利用放射線處理配合葉片培養的方法可否誘導彩葉芋出現更多的變異類型，以作為培育新品種的利用是令人感興趣的研究課題，然而相關方面的研究目前尚無報導。

因此，本研究以 γ 射線照射彩葉芋 28 個品種的塊莖，首先調查 γ 射線的照射對各品種塊莖萌芽及植株葉色及葉形改變的影響。同時，利用‘Frieda Hemple’經 γ 射線照射後的塊莖所生長出的葉片作為培植體，由葉片培養再生個體，探討再生個體的變異發生以及誘導變異的可能性。

材料與方法

本試驗使用美國佛羅里達州生產之彩葉芋 2 號種球，其中如表 1 所示廣葉品種 24 個品種及狹葉品種 4 個品種，共計 28 個品種，每品種各 30 球於 88 年 3 月以 γ 射線 15Gy 的劑量照射。在 86 年及 87 年的預備實驗中得知，10 Gy 以下的劑量對塊莖的傷害程度不夠，而 20Gy 的劑量又過強。經 γ 射線照射過的塊莖於 4 月初起每盆 1 球種植於 7.6cm 塑膠盆中，當頂芽冒出盆面時，每盆添加超級奧妙肥 5g。供試的各品種塊莖種植後調查萌芽情形，塊莖的萌芽是以頂芽露出盆土表面計算，再以該品種該處理的萌芽塊莖數除以種植塊莖數計算萌芽率及萌芽勢。萌芽勢以萌芽率分別達 50%、75%、100%時所需的天數表示。當葉片展開後，該品種處理組的葉色及葉形與對照組相比較調查各品種葉色及葉形之改變。以上彩葉芋之栽培在宜蘭技術學院之簡易溫室內進行。

在葉片培養方面，以‘Frieda Hemple’於 86 年經由 γ 射線 15Gy 照射後的塊莖所長出的葉片作為培植體，由葉片培養再生植物體。培植體有兩種類型，一種為如圖 4-a 所示的一半為白色的葉色變異葉片，另一種為如圖 5-a 所示的同一植株上展開之第一至四枚葉形變異及斑紋紊亂的葉片，其葉形變異及斑紋紊亂的程度以越先展開的葉片越嚴重。同時、未經 γ 射線照射的塊莖所長出的第一枚葉片作為對照組，另外再以如圖 5-b 所示的由葉片培養得到之白色葉色變異個體作為培植體，同樣利用葉片培養再生植物體。以上培養使用之葉片都是取含主脈的葉片中心部位。葉片由中性洗劑清洗後流水沖泡 10 分鐘，利用有效鹽類濃度 0.5%的次氯酸鈉溶液消毒 15 分鐘後，滅菌水沖洗 3 遍。滅菌消毒後的葉片以主脈為中心，切割成約 1cm²大小，置床於添加 BA1.0mg/l、NAA1.0mg/l 之 MS 培養基上，誘導多芽體的形成。約 2 個月後形成之多芽體切割成約 1cm³大小，置床於 MS 培養基上，誘導形成幼植物體。約 2-3 個月後將形成之幼植物體由培養容器中取出，種植於填滿 3 號蛭石之 72 孔穴盤中，放入噴霧室內馴化，於栽培期間每週施用一次 1000 倍的花寶 1 號溶液。當幼植物體生長約 2 個月，其根部開始出現盤根現象時，將幼植物體移植至 7.6cm 塑膠盆中，於簡易溫室內栽培。

‘Frieda Hemple’各類葉片培養之再生個體當葉片展開 6—7 枚、葉色安定後，將再生個體與未經 γ 射線照射之塊莖所生長出的個體進行比較，調查再生植物體之葉色變異。變異的判斷是以再生個體的葉色與對照組相比較得之，同時以變異的個體數除以種植的個體數計算變異率。

結 果

一、 γ 射線照射對彩葉芋不同品種塊莖的萌芽及植株變異之影響

經 γ 射線照射組以及對照組之各品種塊莖萌芽快慢的結果如表 1 所示。供試 28 個品種的萌芽勢品種之間差異顯著，而同一品種中 γ 射線處理組比對照組慢許多，對照組在種植後第 12 天即有‘White Christmas’、‘Blaze’、‘Pink Beauty’3 個品種的萌芽，而種植後第 27 天只剩 4 個品種尚未萌芽；種植後第 71 天，供試的 28 個品種萌芽均達到 100%。然而， γ 射線照射組在種植後第 27 天只有‘Pink Beauty’1 個品種的萌芽，所有品種的萌芽達 100%的時間是在種植後第 97 天。整體而言，各品種的萌芽勢順序對照組與 γ 射線照射組是一致的，但是對照組中萌芽最快的‘White Christmas’在 γ 射線照射組中萌

芽卻明顯延後，萌芽次快的‘Blaze’在 γ 射線照射組中也有延後萌芽的情形。另外，γ 射線照射組與對照組在相同天數達 100% 萌芽的品種有‘Kathleen’、‘Irene Dank’、‘John Peed’、‘Pink Beauty’。

供試的 28 個品種中，γ 射線的塊莖照射所導致的葉形改變有 28 個品種，葉色改變有 11 個品種。葉形的改變主要是葉片形狀變為不規則，該種改變出現在植株最初展開的數枚葉片上、較後展開的葉片又回歸正常葉形。另外有 11 個品種伴隨著葉形的改變出現了葉色斑紋的紊亂、上述葉形及葉色改變的部分品種如圖 1 所示。

另外，γ 射線的塊莖照射也出現了一些特殊的葉形及葉色，特殊的葉形有‘Pink Symphony’及‘White Wing’的同一葉柄上著生 2 枚葉片；‘Pink Symphony’、‘F. M. Joyner’及‘Red Flash’的一枚葉片上有雙葉尖；‘F.M.Joyner’的數枚小葉在同一葉柄上(圖 2)。以上特殊葉形改變都是在單一個體的中途展開之一枚葉片上觀察到，而在其變異葉片之後展開的葉片又恢復正常的葉形。

表 1. 彩葉芋 γ 射線照射組以及對照組各品種塊莖萌芽勢之比較

Table 1. Comparing tuber emergence rates of γ-ray irradiation with control in different caladium varieties.

葉型 Type of leaf shapes	品種 Cultivars	萌芽率 Emergence rate					
		50%		75%		100%	
		照射組 γ-ray irradiation	對照組 Control	照射組 γ-ray irradiation	對照組 Control	照射組 γ-ray irradiation	對照組 Control
廣葉品種	‘White Christmas	1	50	18	60	20	71
Fancy-leaved	‘Blaze’	17	33	18	39	20	41
Cultiv	‘Pink Beauty’	15	25	17	30	35	35
	‘Fannie Munson’	16	28	17	34	35	41
	‘John Peed’	16	30	22	33	35	35
	‘Irene Dank’	17	30	26	32	35	35
	‘Pink Cloud’	19	29	30	34	35	41
	‘Kathleen’	20	29	29	32	35	36
	‘Lord Derby’	25	37	31	40	35	47
	‘Potman Joyner’	20	36	35	39	41	41
	‘Scarlet Beauty’	19	39	34	41	41	47
	‘Frieda Hemple’	22	30	26	34	41	41
	‘Candidum Jr.’	27	35	33	41	41	41
	‘Carolyn Whorton’	29	31	33	50	41	54
	‘F.M. Joyner’	26	29	31	35	41	41
	‘White Queen’	29	49	33	77	41	97
	‘Festivar’	16	41	22	43	47	47
	‘Poecile’	39	37	44	41	47	47
	‘Aaron’	25	35	42	41	47	47
	‘Ms. Muffer’	27	43	37	46	47	47
	‘June Bride’	30	39	45	45	54	54
	‘Tom Tom’	49	60	56	66	71	71
	‘Fire Chief’	51	63	61	68	71	71
	‘Red Flash’	52	80	60	89	71	91
狹葉品種	‘Rosalie’	41	27	54	30	71	41
Lance-leaved	‘Caloosahatchee’	50	33	61	50	71	71
Cultivars ars	‘White Wing’	41	33	54	43	71	71
	‘Pink Symphony’	78	43	85	45	97	54

表 2. 'Frieda Hemple' 不同種類葉片培養再生個體之白色葉色變異

Table 2. The white leaf color mutation of plantlets of 'Frieda Hemple' regenerated from leaf blade cultures in different kind of explants.

培植體種類 Kind of explant	變異個體數/調查個體數 Variation plantlets/regenerated plantlets	變異率(%) Percentage of variation
γ 射線處理組之一半葉色為白色變異葉片 Half-white color of one leaf of γ -ray irradiation	25/73	34.2
γ 射線處理組之第一枚展開葉片 First expanding leaf of γ -ray irradiation	36/66	54.5
γ 射線處理組之第二枚展開葉片 Second expanding leaf of γ -ray irradiation	12/62	19.4
γ 射線處理組之第三枚展開葉片 Third expanding leaf of γ -ray irradiation	4/93	4.3
γ 射線處理組之第四枚展開葉片 Fourth expanding leaf of γ -ray irradiation	2/117	1.7
對照組之第一枚展開葉片 First expanding leaf of control	0/65	0
白色葉色再生變異個體之葉片 Leaf of whole-white color variant	0/76	0

特殊的葉色如圖 3 所示。'Pink Beauty' 同一葉片以主脈為中心左右兩側葉色不同，一側保留原品種的葉色、另一側為原葉色的粉紅色斑紋消失，該種改變在 4 株個體上出現、每一個體只有中途展開的一枚葉片被觀察到，而其後展開的葉片又恢復正常的葉色(圖 3-a)；'Blaze' 出現了與 'Pink Beauty' 正好相反的葉色改變，為粉紅色斑紋的出現，該種改變在一株個體的一枚葉片上觀察到，而其後展開的葉片又恢復正常的葉色(圖 3-b)。另外、如圖 4 所示，'Frieda Hemple' 有三種葉色改變個體，一種為一半葉片葉色由紅色變成白色、其改變是中途展開的一枚葉片，而其後展開的葉片又恢復正常葉色(圖 4-a)。另一種為中途展開的一枚葉片一半為白色、下一枚葉片完全為白色，但是其後的葉片又回歸正常葉色(圖 4-b)，最後一種為在翌年種植的個體中出現了由同一個側芽所長出的數枚完全白色葉片(圖 4-c)。

二、 γ 射線的塊莖照射對 'Frieda Hemple' 葉片培養再生個體變異之影響

實驗結果如表 2 所示，對照組的葉片培養再生個體中未觀察到葉色的變異；而 γ 射線照射組中不論是葉色或葉形變異葉片以及斑紋紊亂葉片作為培植體，其再生個體中皆出現了葉色由紅色變為白色的變異(圖 5-b)，變異率因培植體的不同差異很大。一半為白色的葉色變異葉片由來的再生個體中白色葉色變異個體有 25 株，變異率為 34.2%。在同一植株上展開之第一至四枚葉形變異及斑紋紊亂葉片由來的再生個體變異方面，第一枚葉片由來的再生個體中有 36 株變異個體、變異率為 54.5%；第二枚葉片由來的再生個體中有 12 株的變異個體、變異率降為 19.4%；由第三、四枚葉片由來的再生個體中變異個體數分別為 4 株及 2 株，變異率為 4.3%、1.7%。另外，雖然培植體為如圖 5-a 所示的不規則葉形及斑紋紊亂的葉片，而再生個體葉形及斑紋皆恢復正常。另外，以 γ 射線處理組之葉片培養得到的白色葉色變異個體作為培植體再生之 76 株個體，其葉色完全為白色，未出現原品種的葉色。

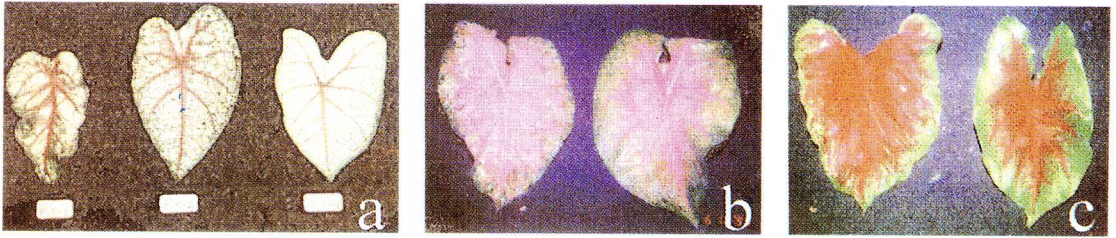


圖 1. 彩葉芋塊莖經 15gray γ 射線照射後葉片之變異

- a: 'White Queen' 左側及中央為 γ 射線照射組之葉片，右側為對照組之葉片
b: 'Kathleen' 左側為 γ 射線照射組之葉片，右側為對照組之葉片
c: 'Frieda Hemple' 左側為 γ 射線照射組之葉片，右側為對照組之葉片

Fig. 1. The mutation of caladium leaves reduced by γ ray 15gray tuber irradiation.

- a: The leaves on the left and middle are γ ray treatment and on the right is control of 'White Queen'.
b: The leaves on the left is γ ray treatment and on the right is control of 'Kathleen'.
c: The leaves on the left is γ ray treatment and on the right is control of 'Frieda Hemple'.

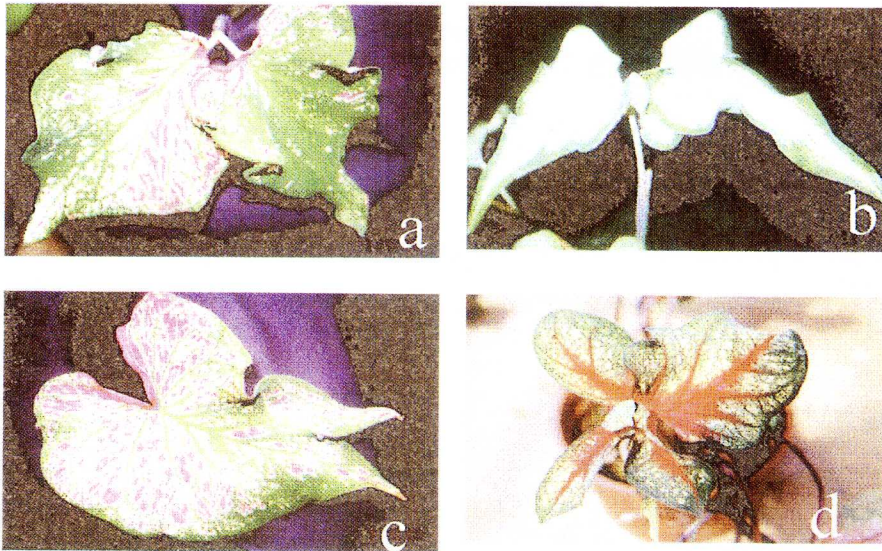


圖 2. 彩葉芋塊莖經 15gray γ 射線照射後生長植株之特殊葉形變異

- a: 'Pink Symphony' 同一葉柄上的雙葉片 b: 'White Wing' 同一葉柄上的雙葉片
c: 'Pink Symphony' 同一葉片上的雙葉尖 d: 'F. M. Joyner' 一枚葉片由數枚小葉組成

Fig. 2. The special leaf shape mutations of caladium induced by 15gray γ ray tuber irradiation.

- a: The double-leaf on one petiole of 'Pink Symphony'.
b: The double-leaf on one petiole of 'White Wing'.
c: The double-tip on one leaf of 'Pink Symphony'.
d: The multiple-leaf on one petiole of 'F. M. Joyner'.



圖 3. 彩葉芋塊莖經 15gray γ 射線照射後生長植株之特殊葉色變異

- a: 'Pink Beauty' 左側葉片粉紅色斑紋消失
b: 'Blaze' 左側葉片粉紅色斑紋出現

Fig. 3. The special leaf color mutation of caladium induced by 15gray γ ray tuber irradiation.

- a: The large pink blotches disappeared on the left side of 'Pink Beauty'.
b: The large pink blotches appeared on the right side of 'Blaze'.



圖 4. 'Frieda Hemple' 塊莖經 15gray γ 射線照射後產生的白色葉色變異

- a: 單一葉片上一半葉色變為白色
b: 一片葉為一半葉色變為白色，下一片葉為整體變為白色
c: 由一側芽展開之數枚白色變異葉片

Fig. 4. The mutation of white leaf color of γ ray irradiated tubers in 'Frieda Hemple'.

- a: The half-white color of one leaf.
b: The whole-white color leaf followed by the half-white color of one leaf.
c: The mutation of several white color leaves grew from one axially bud.

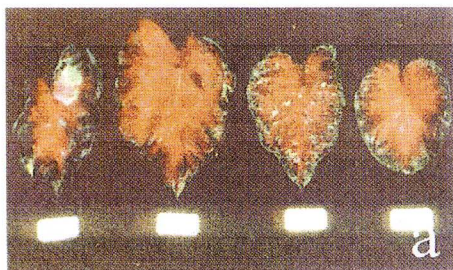


圖 5. 'Frieda Hemple' γ 射線照射組葉片培養再生個體之變異

- a: 同一植株上左側起分別為展開第 1、2、3、4 枚葉片
b: 葉片培養之再生個體，左側為正常葉片，右側為白色變異葉片

Fig. 5. The mutation of leaf blade culture from γ ray irradiated tubers of 'Frieda Hemple'.

- a: The leaves from the left side to the right are the first, second, third, fourth expending leaves of one plant.
b: The plantlets of leaf blade culture. The leaves on the left is control and on the right is variant of white leaf color.

討 論

本實驗由於 γ 射線照射的物理傷害，使彩葉芋各品種塊莖的頂芽萌芽時間明顯延後，也使最初展開的數枚葉片出現嚴重畸形，在 γ 射線的相同劑量照射下從各品種的萌芽快慢及葉形改變的程度來看，塊莖對放射線的感受性有品種間差異。由於放射線通常只會使照射部分的某些細胞發生改變，因此變異不是表現在整體植株上且多為一時性的^(2,5)。同樣，特殊的葉形及葉色改變大多只出現在單一個體的中途展開的單一葉片上，後續展開的葉片皆回歸正常。

放射線會誘導產生何種變異難以預期，其誘導的變異可分為遺傳性變異以及非遺傳性變異^(8,9)。本實驗中塊莖經 γ 射線照射後所生長出的植株中出現了 3 種類型的變異，1. 塊莖的萌芽延後及畸形葉的出現；2. 同一葉柄上著生雙葉片或同一葉片上雙葉尖等分化異常；3. 斑紋出現或消失等葉色的改變。在以上 3 種變異中，從變異的表現以及實驗二中變異個體作為培植體的再生個體中葉色及葉形的表現分析，第 1、2 種類型的變異為物理性的傷害，而第 3 種變異為遺傳性變異的可能性很高。

Nagatomi⁽⁷⁾指出，放射線誘導的變異細胞與正常細胞在同一個體上形成嵌合體，當變異細胞是分裂組織的原始細胞而成為芽體或其一部分時，分化出的葉片、花瓣或芽條等才會表現出變異，但是變異個體的出現有限，而完整變異個體的取得及固定需要通過誘導側芽的生長才能得到；而當變異細胞為體細胞時，則其變異很難表現出來。本實驗中‘Pink Beauty’及‘Blaze’表現的一枚葉片上一半葉色斑紋出現或消失，‘Frieda Hemple’的一枚葉片上一半葉色由紅色變為白色、一枚半白色葉片，以及翌年栽培的個體中出現的完全變異側芽等變異現象，都是放射線照射出現的典型的變異類型。

利用組織培養方法再生個體時，培植體的任何細胞都有再生個體的能力，若再生個體起源於變異細胞時則有得到完全變異個體的可能性，而且培植體中變異細胞越多時，再生個體中變異的出現機率也越高⁽⁷⁾。本實驗中‘Frieda Hemple’塊莖經 γ 射線照射後所生長出的一半為白色葉色的變異葉片以及最初展開之一至四枚葉形變異及斑紋紊亂葉片作為培植體，其葉片培養的再生個體中得到了白色葉色的變異個體，而對照組中卻未出現該種變異。

進一步分析上述白色葉色變異個體的變異率，一半白色葉色變異葉片由來的再生個體變異率為 34.2%，該葉片培養的培植體是由以主脈為中心的一半白色一半正常葉色的葉片，因此白色變異細胞與正常細胞都有分化再生個體的可能性，因此造成了再生個體中有變異個體與非變異個體之出現。而在展開第一至四枚葉形變異及斑紋紊亂葉片由來的再生個體中，變異率是以展開第一枚葉作為培植體時最高、展開次序越後者變異率越低，由此可以推測，在越先展開的葉片中白色葉色變異細胞的存在越多。由以上結果可知，利用經放射線照射塊莖所長出的較先展開之葉片作為培植體時，再生個體中葉色變異出現的機率較高。

以‘Frieda Hemple’作為試驗材料時， γ 射線照射可誘導葉色產生遺傳性的變異，然而該種變異只是部分葉片的改變，而非整體植株的改變，且變異個體數很少。雖然本實驗中 γ 射線的塊莖照射所誘導的葉色變異與 γ 射線配合葉片培養所產生的葉色變異是相同的，葉片培養的再生個體中並未出現新的變異類型。但是利用 γ 射線塊莖照射配合培養，可得到整體植株改變的個體，且變異個體數顯著增加。未來放射線照射結合組織培養技術在彩葉芋更多品種上的利用，獲得優良變異個體的可能性很高。

參考文獻

1. 朱玉、矢沢進、淺平端. 1993. カラジュームの葉身切片培養で再生した植物体における葉色變異の品種間差異. 園學雜 62:431-435.

2. 黄敏展. 1967. X線照射によるキクの變異、主に花色に関する研究. 143 pp. 京都大學. 京都.
3. Broertjes, C., S. Roest, and G. S. Bokelmann. 1976. Mutant breeding in *Chrysanthemum morifolium* Ram. using in vivo and in vitro adventitious bud techniques. *Euphytica* 25:11-19.
4. Novak, J. 1991. Mutation breeding by using tissue culture techniques. *Gamma Field Symposia* 30:23-32.
5. Matsubara, H., K. H. Shigematsu, and S. Hashimoto. 1971. The isolation of the mutation plants from sectorial chimera induced by irradiation in begonia and chrysanthemum. In: Proc. 10th Japan. Cont. Radioisot. Tokyo. p.374-376.
6. Peng, Z. H. and S. Jiang. 1995. New chrysanthemum varieties developed by radiation breeding and micropropagation. *Acta Hort.* 404:128-130.
7. Nagatomi, S. 1995. Effects of chronic irradiation combined with callus culture on induced variation of regenerated plants in sugarcane. *Proc. Int. Soc. Sugar Cane Technol.* 21:405-467.
8. Nagatomi, S. 1996. Recent progress on crop mutation breeding in Japan. *Proc. Plant Mutation Breeding in Asia*. Beijing. p.29-37.
9. Yamaguchi, T. 1988. Mutation breeding of ornamental plants. *Acta Radiobotanica Genet. Bull. Inst. Radiat. Breed.* 7: 49-67.

Abstract

Mutant breeding method combining radiation irradiation and tissue culture technique is a efficient technology. This technique can induce variation much more quickly and multiply than traditional radiation breeding technique on many plant models. There has been no report of applying this new technology on the induction of variations in caladium plants. We therefore conducted a study to examine the efficiency of this new technique. Twenty-eight varieties of tubers from caladium were used for this study. Thirty tubers were used in each variety. Fifteen gray of γ -ray irradiation were delivered to each tuber before planted. Only one variety 'Frieda Hemple' was used for farther processed by tissue culture with the half leaf changed into white color or the first to forth leaves grew from irradiated tubers. As expected, the time of emergence of the irradiated tubers was later than those of not irradiated tubers. An irregular shapes and disorder blotches of the leaves were appeared in some earliest expending leave, but in the subsequent expending leaves returned to normal shapes and colors in groups of γ ray irradiation. However, the white leaf color mutation on one or two leaves of 'Frieda Hemple' got from γ ray irradiated tubers, and in the subsequent expending leaves returned to normal.. But the mutant of 'Frieda Hemple' got from leaf blade culture can last forever because we have further cultured that mutants for the next generation without seeing difference. The mutation rate in white leaf color of 'Frieda Hemple' was 34.2% from the leaf color mutant and was 54.5% from the first expending leaf, which were 19.4%, 4.3%, 1.7% and 1.3% from that of second to fifth expending leaves respectively. In conclusion, we have proved that this new technique combining γ ray irradiation and leaf blade culture can be successfully increasing the rate of mutation in caladium.