

カックロール(*Momordica dioica* Roxb.) の八倍体作出

長, 泰弘
九州大学大学院生物資源環境科学府

尾崎, 行生
九州大学大学院農学研究院

大久保, 敬
九州大学大学院農学研究院

松田, 鹿徳
九州大学大学院農学研究院

<https://doi.org/10.15017/4383>

出版情報 : 九州大学大学院農学研究院学芸雑誌. 61 (1), pp.55-61, 2006-02-01. 九州大学大学院農学研究院

バージョン :

権利関係 :

カックロール (*Momordica dioica* Roxb.) の八倍体作出

長 泰 弘^{1*}・尾 崎 行 生²
大久保 敬 ・松 田 鹿 徳

九州大学大学院農学研究院植物資源科学部門農業植物科学講座園芸学研究室
(2005年10月28日受付, 2005年11月16日受理)

Induction of Octoploids in Kakrol (*Momordica dioica* Roxb.)

Yasuhiro CHO¹, Yukio OZAKI², Hiroshi OKUBO
and Shikanori MATSUDA

Laboratory of Horticultural Science, Division of Agricultural Botany,
Department of Plant Resources, Faculty of Agriculture,
Kyushu University, Fukuoka 812-8581, Japan

緒 言

カックロール (*Momordica dioica* Roxb.) の果実に多く含まれる種子は開花約2週間後には硬化し始め、食味が低下することから無核品種の育成が望まれる。

前報で考察したように (長ら, 2006), 四倍体×二倍体による三倍体の果実形質は四倍体よりも劣ることが考えられる。すなわち, 三倍体作出による無核カックロールの育成は効率的でなく, 高次倍数体による無核かつ大果系統の作出が必要となる。バングラデシュで栽培されている四倍体系統の中には単為結果系統, 節成り系統 (Manik ら, 2001), 多果系統, 大果系統 (Rasul ら, 2004) などのさまざまな優良形質を有する系統の存在が報告されている。カックロールでは雌株に硝酸銀処理を行なうことにより両性花を誘起することから (Ali ら, 1991), 倍数体と優良な四倍体系統との交配により, 優良な無核系統を作出できると考えられる。

以上のことから倍数体を利用してカックロールの無核品種を育成するには, まず四倍体に倍加処理を行なって八倍体を作成し, これをもとに様々な倍数体系統を育成

していくことがより合理的かつ現実的であると考えられる。

ウリ科作物では, コルヒチンを利用した倍加処理が広く行なわれており, ニガウリ (斉藤, 1957) およびヘチマ (斉藤, 1953) では生長点への滴下処理によって, マクワウリ (古里・田中, 1952) では種子浸漬処理によって, またスイカ (木原・西山, 1947; Lower and Johnson, 1969) およびカボチャ (内川, 1947) では滴下および種子浸漬両処理による染色体倍加が成功している。コルヒチン以外にも半数体メロンの倍加処理にはアミプロホスメチルが (加藤・萩森, 1994), またユリおよびネリネの倍加個体作出にはオリザリンが有効であることが報告されている (Van Tuyl ら, 1992)。

カックロールにおいても, これらの処理により八倍体の作出が可能であると考えられる。そこで本研究ではコルヒチン, アミプロホスメチルおよびオリザリンによる倍加処理を行い, 得られた処理個体の倍数性および諸特性を調査した。

材 料 と 方 法

1. 種子浸漬処理

バングラデシュより導入した雌株系統 No. 1 および

¹九州大学大学院生物資源環境科学府植物資源科学専攻農業植物科学講座園芸学研究室

²九州大学大学院農学研究院植物資源科学部門農業生産生態学講座農業生産生態学研究室

¹Laboratory of Horticultural Science, Division of Agricultural Botany, Department of Plant Resources, Graduate School of Bioresource and Bioenvironmental Sciences, Kyushu University

²Laboratory of Agricultural Ecology, Division of Agricultural Ecology, Department of Plant Resources, Faculty of Agriculture, Kyushu University

*Corresponding author (E-mail: choyasu@agr.kyushu-u.ac.jp)

No. 5 (いずれも四倍体) と雄株系統 No. 3 もしくは No. 7 (いずれも四倍体) との交配によって得られた種子を供試した。種皮を除去した種子を DMSO 1% を添加したコルヒチン (0.2, 0.4%) またはアミプロホスメチル (0.003, 0.006%) 溶液に 32°C, 暗黒条件下で 48 時間浸漬した。対照として 1% DMSO 溶液のみに浸漬処理する区を設けた。処理後、水道水で洗浄した種子をパーミキュライトに播き、30°C ファイトトン内で生育させた。

2. 多芽体浸漬処理

ガラス温室で栽培した雌株系統 No. 1 の茎頂部を供試した。採取した茎頂部を 70% エタノールに 10 秒間浸漬した後、Tween20 を 1 滴 100ml⁻¹ 添加した次亜塩素酸ナトリウム溶液 (有効塩素濃度 0.5%) に 15 分間浸漬して表面殺菌を行い、滅菌水で 3 回洗浄した。その後、無菌的に摘出した茎頂部の先端 (1~2 mm) を BA 2mg l⁻¹, ショ糖 3%, 寒天 0.7% を添加した Murashige・Skoog (MS) 培地 (Murashige and Skoog, 1962) (pH5.7) に置床して 25°C 連続照明下で培養し、多芽体を誘導した。

得られた多芽体をコルヒチン (0.01, 0.05, 0.1%) もしくはオリザリン (0.001, 0.005, 0.01%) と DMSO 1% および BA 2mg l⁻¹ を加えた MS 液体培地に浸漬し、25°C で 12, 24, 36 時間振盪培養 (120 回・分⁻¹) を行なった。1 処理区あたり 20 個の多芽体を供試した。処理後、多芽体を滅菌水で 3 回洗浄し、BA 0.2mg l⁻¹, GA₃ 0.5mg l⁻¹, ショ糖 3% および寒天 0.7% を添加した MS 培地に置床し、25°C 連続照明下で培養した。処理 1 ヶ月後、20mm 以上に伸長したシュートを採取し、NAA 0.1mg l⁻¹, ショ糖 3% および寒天 0.7% を添加した 1/2 MS 培地に植え付け、発根させた。ただし、1 処理区あたりのシュート数が 20 本以上であった時は、20 本のシュートを植え付けた。シュートを採取した残りの多芽体を倍加処理時と同程

度の大きさに切り分け、さらに 1 ヶ月後 (処理 2 ヶ月後) までに 20mm 以上に伸長したシュートを採取し、同様に培地に植え付けた。発根後、シュートをパーミキュライトに植え付けて 25°C 連続照明下で順化させた。その後、砂とピートモス (4:3=v:v) の混合培土を含むポリポット (直径 7.5cm) にシュートを植え付け、25°C もしくは 30°C ファイトトン内で生育させた。

3. 倍数性の調査

前報 (長ら, 2006) に準じ、フローサイトメーターにより倍数性を調査した。処理した個体から本葉を採取し、抽出用バッファー (High Resolution DNA Kit, Partec) 中で細断して核を単離させ、得られた懸濁液を 50 μm のナイロンメッシュでろ過した。その後、4'-6-diamidino-2-phenylindole (DAPI) を含む染色用バッファー (High Resolution DNA Kit, Partec) で染色し、フローサイトメーターで蛍光強度別核数を調査した。

4. 倍加個体の特性調査

多芽体浸漬処理により得られた倍加個体 2 系統 (F-12-2-14, F-24-2-16) および対照として雌株系統 No. 1 を供試した。砂とピートモス (4:3=v:v) の混合培土をつめた直径 27cm のポリポットに 1 個体ずつ植え付け、無加温ビニルハウス内で栽培した。施肥は OK-F-1 (N:P₂O₅:K₂O=15:8:17 大塚化学株式会社) の 1000 倍液を適宜与えることにより行った。

各系統の展開した本葉の葉長および葉幅を調査するとともに、レプリカ法により孔辺細胞の長径および短径を光学顕微鏡下で計測した。

結 果

1. 種子浸漬処理

コルヒチン処理およびアミプロホスメチル 0.006% 区では発芽率が低かった (第 1 表)。

Table 1. Effect of colchicine and amiprofos-methyl treatments to seeds on chromosome doubling.

| Treatment | Concentration (%) | No. of seeds treated | No. of seeds germinated (%) | No. of seedlings investigated | No. of 4x seedlings (%) | No. of 8x seedlings (%) |
|------------------|-------------------|----------------------|-----------------------------|-------------------------------|-------------------------|-------------------------|
| Control | — | 9 | 9 (100) | 9 | 9 (100) | 0 (0) |
| Colchicine | 0.2 | 22 | 5 (22.7) | 5 | 3 (60.0) | 2 (40.0) |
| | 0.4 | 20 | 10 (50.0) | 9 | 6 (66.7) | 3 (33.3) |
| Amiprofos-methyl | 0.003 | 26 | 25 (96.2) | 25 | 23 (92.0) | 2 (8.0) |
| | 0.006 | 26 | 15 (57.7) | 14 | 14 (100) | 0 (0) |

対照個体では、蛍光強度100付近にピークがみられた (第1図). 処理個体では対照個体と同様なピークを示す個体群と蛍光強度200付近にピークを持つ個体群に分かれたことから、前者を四倍体、後者を八倍体と判断した.

コルヒチン0.2%, 0.4%区およびアミプロホスメチル0.003%区でそれぞれ2, 3, 2個体, 合計7個体の八倍体が得られた (第1表).

2. 多芽体浸漬処理

処理1ヶ月後のオリザリン処理区では、処理濃度が

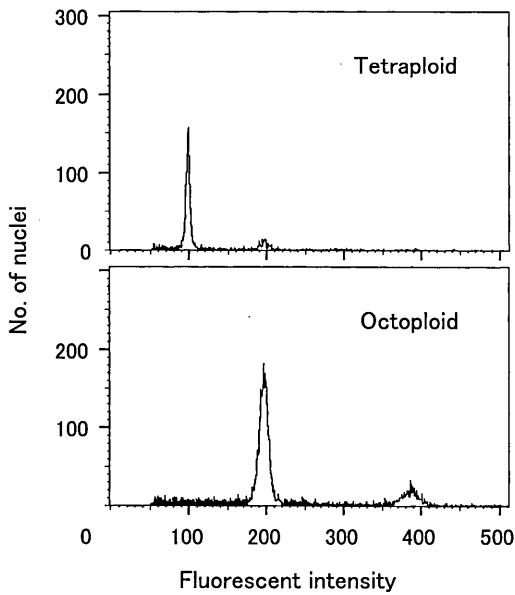


Fig. 1. Flow cytometric histogram patterns of a tetraploid (No.1) and a colchicine-induced octoploid plants.

高くなるにつれて外植体の生存率は低下したが、コルヒチン処理区では処理濃度による生存率の差は見られなかった (第2表). 1外植体あたりの平均シュート数は、対照区では0.6~1.1本であり、コルヒチン処理区でも同程度であった. 一方、オリザリン処理区では、0.001%処理区で多くのシュートが形成された (1.2~2.3本) のに対し、0.005, 0.01%処理区では形成されたシュート数が少なく、特にオリザリン0.01%・12時間処理区では20mm以上伸長したシュートはみられなかった.

処理2ヶ月後では、いずれの処理区においても枯死した外植体はほとんどみられなかった. シュートの生育は処理1ヶ月後に比べて旺盛で、全ての処理区で20mm以上に伸長した.

いずれの処理区においても処理1ヶ月後のシュートから八倍体はまったく得られなかったが、コルヒチン0.05%・12時間、24時間処理区および0.1%・24時間処理区で2ヶ月後に得られたシュートの中にそれぞれ1個体ずつ、計3個体の八倍体が含まれていた (第3表).

3. 八倍体の特性調査

八倍体は四倍体に比べて、葉の鋸歯や表面の凹凸が明瞭であり (第2図)、葉長、葉幅が大きく、葉形指数は小さかった (第4表).

八倍体の孔辺細胞の長径および短径はそれぞれ四倍体の孔辺細胞の1.4~1.5倍および1.3~1.4倍であった (第5表).

考 察

種子浸漬による倍加処理では、コルヒチン、アミプ

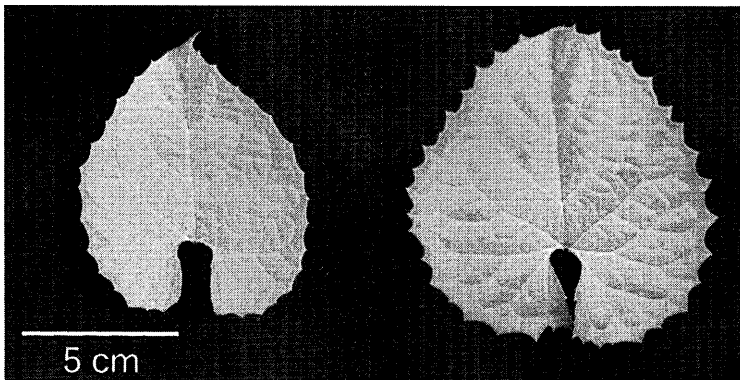


Fig. 2. Leaves of tetraploid (No.1, left) and octoploid (F-12-2-14, right).

Table 2. Effect of *in vitro* oryzalin and colchicine treatments to multiple shoot on survival rate of explants and shoot proliferation.

| Treatment | Concentration (%) | Duration (hours) | 1 month | | | | 2 months | | | |
|------------|-------------------|------------------|------------------------------|------------------------------|---|-------------------------|---|------------------------------|------------------------------------|-------------------------|
| | | | No. of explants investigated | No. of explants survived (%) | No. of explants forming shoots ^z (% ^y) | No. of shoots /explants | No. of explants ^x investigated | No. of explants survived (%) | No. of explants forming shoots (%) | No. of shoots /explants |
| Control | - | 12 | 20 | 20 (100) | 9 (45.0) | 0.6 ^{abcw} | 20 | 20 (100) | 18 (90.0) | 3.1 ^e |
| | - | 24 | 20 | 17 (85.0) | 7 (41.2) | 0.7 ^{abc} | 20 | 20 (100) | 17 (85.0) | 2.3 ^{cde} |
| | - | 36 | 20 | 20 (100) | 10 (50.0) | 1.1 ^{abc} | 20 | 20 (100) | 16 (80.0) | 2.6 ^{de} |
| Oryzalin | 0.001 | 12 | 20 | 20 (100) | 13 (65.0) | 1.2 ^{abcd} | 20 | 20 (100) | 15 (75.0) | 1.5 ^{abcd} |
| | | 24 | 20 | 19 (95.0) | 16 (84.2) | 2.4 ^d | 20 | 20 (100) | 14 (70.0) | 1.6 ^{abcde} |
| | | 36 | 20 | 20 (100) | 16 (80.0) | 1.8 ^{cd} | 20 | 20 (100) | 11 (55.0) | 1.4 ^{abcd} |
| | 0.005 | 12 | 20 | 18 (90.0) | 5 (27.8) | 0.3 ^{ab} | 20 | 20 (100) | 10 (50.0) | 0.9 ^{abc} |
| | | 24 | 20 | 18 (90.0) | 4 (22.2) | 0.2 ^a | 20 | 20 (100) | 10 (50.0) | 0.8 ^{abc} |
| | | 36 | 20 | 16 (80.0) | 3 (18.8) | 0.4 ^{ab} | 20 | 20 (100) | 12 (60.0) | 1.1 ^{abcd} |
| | 0.01 | 12 | 20 | 13 (65.0) | 0 (0) | 0 ^a | 15 | 12 (80.0) | 6 (50.0) | 0.8 ^{abcd} |
| | | 24 | 20 | 8 (40.0) | 2 (25.0) | 0.3 ^{abc} | 15 | 15 (100) | 8 (53.3) | 1.1 ^{abcd} |
| | | 36 | 20 | 18 (90.0) | 3 (16.7) | 0.2 ^a | 20 | 20 (100) | 12 (60.0) | 1.4 ^{abcd} |
| Colchicine | 0.01 | 12 | 20 | 20 (100) | 8 (40.0) | 0.7 ^{abc} | 20 | 20 (100) | 18 (90.0) | 2.0 ^{bode} |
| | | 24 | 20 | 18 (90.0) | 13 (72.2) | 1.6 ^{bcd} | 20 | 20 (100) | 12 (60.0) | 1.6 ^{abcde} |
| | | 36 | 20 | 18 (90.0) | 7 (38.9) | 0.7 ^{abc} | 20 | 20 (100) | 10 (50.0) | 0.9 ^{abc} |
| | 0.05 | 12 | 20 | 20 (100) | 10 (50.0) | 0.9 ^{abc} | 20 | 20 (100) | 12 (60.0) | 1.0 ^{abc} |
| | | 24 | 20 | 20 (100) | 8 (40.0) | 0.5 ^{ab} | 20 | 20 (100) | 11 (55.0) | 1.2 ^{abcd} |
| | | 36 | 20 | 20 (100) | 8 (40.0) | 0.4 ^{ab} | 20 | 20 (100) | 6 (30.0) | 0.5 ^{ab} |
| | 0.1 | 12 | 20 | 20 (100) | 14 (70.0) | 1.4 ^{abcd} | 20 | 20 (100) | 9 (45.0) | 0.8 ^{abc} |
| | | 24 | 20 | 20 (100) | 13 (65.0) | 1.0 ^{abc} | 20 | 20 (100) | 9 (45.0) | 0.5 ^{ab} |
| | | 36 | 20 | 20 (100) | 11 (55.0) | 0.8 ^{abc} | 20 | 20 (100) | 4 (20.0) | 0.2 ^a |

^z Shoots of > 20mm were counted.

^y (No. of explants forming shoots/No. of explants survived) × 100.

^x Explants of 2 months were obtained by dividing the explants of 1 month after collecting shoots.

^w Different letters in the same columns indicate significant differences ($P < 0.05$) by Tukey's HSD test.

ロホスメチルともに有効であった。特にコルヒチン 0.4%処理では、発芽率は低かった (50%) が、八倍体の出現率は最も高かった。一方、アミプロホスメチル 0.003%区では発芽率が高かったにもかかわらず八倍体が得られた。アミプロホスメチルによる種子浸漬処理については、これまで報告がないが、トウモロコシのカルスへの処理 (Wan ら, 1991) やビートの胚珠への処理 (Hansen ら, 1998) ではオリザリンと比較して生育阻害の作用がほとんどみられない。このため、アミプロホスメチル処理については処理濃度、処

理時間をさらに検討することで、コルヒチン処理よりも効率良く八倍体を作成できる可能性が考えられる。

ツツジ (酒井, 2000) および *Alocasia* (Thao ら, 2003) では、*in vitro*でのオリザリンによる倍加処理効果が報告されているが、本実験では、オリザリン処理により多芽体から八倍体は得られなかった。

処理後 2 ヶ月目に採取したシュートからのみ八倍体を得られたのは、多芽体から発生した八倍体のシュートは生育が遅く、処理後 1 ヶ月目までに 20mm にまで生長していなかったためと推測される。

Table 3. Effect of *in vitro* oryzalin and colchicine treatments to multiple shoot on chromosome doubling.

| Treatment | Concentration (%) | Duration (hours) | 1 month | | | 2 months | | |
|------------|-------------------|------------------|----------------------------|----------------------|----------------------|----------------------------|----------------------|----------------------|
| | | | No. of shoots investigated | No. of 4x shoots (%) | No. of 8x Shoots (%) | No. of shoots investigated | No. of 4x shoots (%) | No. of 8x shoots (%) |
| Control | - | 12 | 9 | 9 (100) | 0 (0) | 11 | 11 (100) | 0 (0) |
| | - | 24 | 8 | 8 (100) | 0 (0) | 10 | 10 (100) | 0 (0) |
| | - | 36 | 7 | 7 (100) | 0 (0) | 9 | 9 (100) | 0 (0) |
| Oryzalin | 0.001 | 12 | 12 | 12 (100) | 0 (0) | 13 | 13 (100) | 0 (0) |
| | | 24 | 13 | 13 (100) | 0 (0) | 10 | 10 (100) | 0 (0) |
| | | 36 | 11 | 11 (100) | 0 (0) | 10 | 10 (100) | 0 (0) |
| | 0.005 | 12 | 3 | 3 (100) | 0 (0) | 2 | 2 (100) | 0 (0) |
| | | 24 | 2 | 2 (100) | 0 (0) | 2 | 2 (100) | 0 (0) |
| | | 36 | 3 | 3 (100) | 0 (0) | 1 | 1 (100) | 0 (0) |
| | 0.01 | 12 | 0 | 0 (-) | 0 (-) | 7 | 7 (100) | 0 (0) |
| | | 24 | 0 | 0 (-) | 0 (-) | 5 | 5 (100) | 0 (0) |
| | | 36 | 4 | 4 (100) | 0 (0) | 11 | 11 (100) | 0 (0) |
| Colchicine | 0.01 | 12 | 8 | 8 (100) | 0 (0) | 16 | 16 (100) | 0 (0) |
| | | 24 | 16 | 16 (100) | 0 (0) | 10 | 10 (100) | 0 (0) |
| | | 36 | 6 | 6 (100) | 0 (0) | 10 | 10 (100) | 0 (0) |
| | 0.05 | 12 | 6 | 6 (100) | 0 (0) | 17 | 16 (94.1) | 1 (5.9) |
| | | 24 | 4 | 4 (100) | 0 (0) | 10 | 9 (90.0) | 1 (10.0) |
| | | 36 | 4 | 4 (100) | 0 (0) | 4 | 4 (100) | 0 (0) |
| | 0.1 | 12 | 8 | 8 (100) | 0 (0) | 8 | 8 (100) | 0 (0) |
| | | 24 | 12 | 12 (100) | 0 (0) | 5 | 4 (80.0) | 1 (20.0) |
| | | 36 | 3 | 3 (100) | 0 (0) | 3 | 3 (100) | 0 (0) |

Table 4. Leaf characteristics of tetraploid and octoploid plants.

| Strain | Ploidy level | Leaf length (mm) | Leaf width (mm) | Leaf shape index ^z |
|-----------|--------------|----------------------|-------------------|-------------------------------|
| No.1 | 4x | 103.9 ^{a y} | 82.9 ^a | 1.25 ^b |
| F-12-2-14 | 8x | 116.3 ^b | 95.4 ^b | 1.22 ^a |
| F-24-2-16 | 8x | 114.9 ^b | 94.7 ^b | 1.21 ^a |

N=20

^z Leaf shape index=leaf length/leaf width.

^y Different letters in the same columns indicate significant differences. ($P < 0.05$) by Tukey's HSD test.

Table 5. Comparison of guard cell size between tetraploid and octoploid plants.

| Strain | Ploidy level | Guard cell | |
|-----------|--------------|---------------------|-------------------|
| | | Length (μ m) | Width (μ m) |
| No.1 | 4x | 25.0 ^{a z} | 16.8 ^a |
| F-12-2-14 | 8x | 35.5 ^b | 21.0 ^b |
| F-24-2-16 | 8x | 37.5 ^c | 23.0 ^c |

N=30

^z Different letters in the same columns indicate significant differences ($P < 0.05$) by Tukey's HSD test.

ニガウリの二, 三, 四倍体では, 倍数性の上昇に伴い, 葉, 気孔, 萼片および花弁が大きくなり, また小花柄および花柱が長くなった (Trivedi and Roy, 1973). スイカの四倍体は二倍体と比較して, 子房の直径が大きく, 葉形指数 (葉長/葉幅) が小さい (Compton ら, 1996). 五倍体以上の高次倍数性植物については, カキでは十二倍体の気孔の長径が六倍体に比べて大きいことが報告されている (Tamura ら, 1996). イチゴでは八~十倍体までは倍数性の上昇とともに葉長および葉幅は長くなるが, それよりも高次では短くなること, 葉形指数 (葉長/葉幅) は倍数性の上昇に伴って低下したが, 十倍体以上の倍数体間には葉形指数の差がみられないことが報告されている (森下ら, 1996). またイチゴの倍加個体の特徴として葉の鋸歯が明瞭であることなどが認められており, 葉の形態が倍加個体の選抜の指標として利用されている (森下ら, 1996). カックロールにおいても八倍体と四倍体を識別する指標として, 葉の形態および孔辺細胞の大きさを利用することが可能であると考えられる.

謝 辞

今回使用したアミプロホスメチル (商品名 トクノール M 水和剤) は日本バイエルアグロケム株式会社より分譲して頂いた。ここに感謝の意を表する。

要 約

カックロールの八倍体作出を目的とし, 倍加処理方法を検討するとともに, 得られた倍加個体の特性を調べた。コルヒチン0.2%, 0.4%, もしくはアミプロホスメチル0.003%の種子浸漬処理により八倍体が得られた。なかでも最も効果が高かったのはコルヒチン0.4%処理であった。また, アミプロホスメチル0.003%処理区では発芽率がほとんど低下することなく八倍体を得られた。多芽体浸漬処理ではコルヒチン0.05%・12時間, 24時間処理区および0.1%・24時間処理区の処理2ヶ月後のシュートからそれぞれ1個体ずつ, 計3個体の八倍体を得られた。

得られた八倍体は四倍体よりも葉長, 葉幅が長く, 葉形指数が小さかった。また八倍体では鋸歯が明瞭である, 葉の表面の凹凸が顕著であるなどの特徴が観察され, 四倍体よりも孔辺細胞が大きかった。

文 献

- Ali, M., H. Okubo, T. Fujii and K. Fujieda 1991 Techniques for propagation and breeding of kakrol (*Momordica dioica* Roxb.). *Scientia Hort.*, 47: 335-343
- 長 泰弘・尾崎行生・大久保 敬・松田鹿徳 2006 バングラデシュで栽培されているカックロール (*Momordica dioica* Roxb.) の倍数性. 九大農学芸誌, 61: 49-53
- Compton, M. E., D. J. Gray and G. W. Elmstrom 1996 Identification of tetraploid regenerants from cotyledons of diploid watermelon cultured *in vitro*. *Euphytica*, 87: 165-172
- 古里和夫・田中正武 1952 甜瓜の人為倍数体の研究. 生研時報, 5: 100-105
- Hansen, A. L., A. Gertz, M. Joersbo and S. B. Andersen 1998 Antimicrotubule herbicides for *in vitro* chromosome doubling in *Beta vulgaris* L. ovule culture. *Euphytica*, 101: 231-237
- 加藤紀夫・萩森 学 1994 ウリ科植物の染色体倍加方法. 公開特許公報, 特開平6-237657
- 木原 均・西山市三 1947 三倍体を利用する無種子西瓜の研究. 生研時報, 3: 93-103
- Lower, R. L. and K. W. Johnson 1969 Observations on sterility of induced autotetraploid watermelons. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 94: 367-369
- Manik, M. N. I., M. G. Rasul, M. M. Rahman, Y. Ozaki and H. Okubo 2001 Parthenocarpic fruiting behavior in kakrol (*Momordica dioica* Roxb.). *J. Fac. Agr., Kyushu Univ.*, 45: 459-463
- 森下昌三・山川 理・望月龍也 1996 イチゴの種間雑種に関する研究. 野菜茶試研報 A. 11: 69-95
- Murashige, T. and F. Skoog 1962 A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.*, 15: 473-497
- Rasul, M. G., M. Hiramatsu and H. Okubo 2004 Morphological and physiological variation in kakrol (*Momordica dioica* Roxb.). *J. Fac. Agr., Kyushu Univ.*, 49: 1-11
- 斉藤 清 1953 二三ウリ類の倍数体育成と利用に関する研究. 第1報 ヘチマの倍数体について. 育学雑, 2: 147-149
- 斉藤 清 1957 二三ウリ類の倍数体育成と利用に関する研究. 第2報 つるれいしの倍数体について. 育学雑, 6: 217-219
- 酒井かおり 2000 常緑性黄色花ツツジの作出に関する研究—常緑性ツツジ×キレンゲツツジで得られた雑種個体の複二倍体化—. 九州大学農学部園芸学教室平成12年度卒業論文, pp.1-30
- Tamura, M., R. Tao and A. Sugiura 1996 Production of dodecaploid plants of Japanese persimmon (*Diospyros kaki* L.) by colchicine treatment of protoplasts. *Plant Cell Rep.*, 15: 470-473

- Thao, N. T. P., K. Ureshino, I. Miyajima, Y. Ozaki and H. Okubo 2003 Induction of tetraploids in ornamental *Alocasia* through colchicine and oryzalin treatments. *Plant Cell, Tiss. Org. Cult.*, 72: 19-25
- Trivedi, R. N. and R. P. Roy 1973 Cytogenetics of *Momordica charantia* and its polyploids. *Cytologia*, 38: 317-325
- 内川 勇 1947 蔬菜類に於る人為倍数体の研究. 生研時報, 3: 125-144
- Van Tuyl, J. M., B. Meijer and M. P. van Diën 1992 The use of oryzalin as an alternative for colchicine in in-vitro chromosome doubling of *Lilium* and *Nerine*. *Acta Hort.*, 325: 625-630
- Wan, Y., D. R. Duncan, A. L. Rayburn, J. F. Petolino and J. M. Widholm 1991 The use of antimicrotubule herbicides for the production of doubled haploid plants from anther-derived maize callus. *Theor. Appl. Genet.*, 81: 205-211

Summary

Chromosome doubling through seed and multiple shoot treatments was conducted to obtain octoploid kakrol (*Momordica dioica* Roxb.) plants. Seed treatments with 0.2, 0.4% colchicine or 0.003% amiprofos-methyl were effective to chromosome doubling, among which the treatment with 0.4% colchicine was most effective. Amiprofos-methyl treatment also brought octoploid plants with high rate of seed germination.

Multiple shoot treatments with 0.05% colchicine for 12 and 24 hours, and 0.1% colchicine for 24 hours also brought octoploid plants. Leaf and guard cell size were bigger, and leaf shape index (leaf length/leaf width) was lower in the octoploid than in tetraploid plants. Leaves of the octoploid plants were uneven on the surface with clear serrations.