

鹿児島県において普及が期待される果樹、

アボカドのミクロ繁殖法の開発

山本雅史・香西直子

鹿児島大学農学部

〒890-0065 鹿児島市郡元一丁目 21 番 24 号

TEL: 099-285-8553

要 旨

アボカドはアメリカ大陸原産の亜熱帯果樹であり、輸入量が毎年増加している。そのため、国産果実の生産が求められているが、苗木の安定供給が達成できていない。その解決のため、本研究ではアボカドにおけるミクロ繁殖法の開発を行った。低温耐性が比較的強く、我が国の栽培において有望な‘フェルテ’を材料とした。頂芽と腋芽では頂芽の方がシュート成長が優れる傾向にあった。植物ホルモンではオーキシンの効果は判然としなかったが、サイトカイニンはシュート成長に必須であった。アミノ酸であるアルギニンの効果も認められなかった。サイトカイニンは 10ppm よりも 1ppm が適しており、BA、カイネチン、2iP の中では 2iP が最も有効であった。

1 緒 言

鹿児島県は暖地である本土地域、亜熱帯である南西諸島から構成されており、高温に適した温帯果樹および亜熱帯・熱帯果樹が生産されている。しかしながら、近年の気候変動・地球温暖化によって温帯果樹の高品質安定生産が困難になりつつある。一方、日本の南部に位置する鹿児島県では、他地域に先駆けて温暖化を利用することによる新規亜熱帯果樹生産の適地となることが期待されている。

アボカドは年間約 7 万トンが輸入される亜熱帯果樹で、そのほとんどがメキシコ産の単一品種である。ある程度の低温耐性があり、品種の多様性が極めて高いことから、日本の気候に適した品種の選抜による輸入品種よりも高品質な果実の国内生産の期待は高い。国内生産の増産のためには、まず安定した苗木供給体制の確立が重要である。しかしながら、我が国におけるアボカド生産ではここに大きな問題がある。果樹においては種子（実生）繁殖では原品種と同一のものが得られないため栄養繁殖（クローン増殖）が一般的であり、アボカドも例外ではない。栄養繁殖では接木や挿し木が知られるが、通常、アボカドは接ぎ木繁殖される。これはアボカドでは挿し木繁殖が極めて困難なためである。一方、接ぎ木繁殖技術は確立されているものの、これにも問題が存在する。我が国では安定した台木供給体制が確立されておらず、苗木供給量が制限され、苗木が高価格となっている。

これらの点の解決のため、本研究では組織培養系を利用したマイクロ繁殖技術を確立し、苗木供給の増産・安定化の達成を目指す。マイクロ繁殖技術とは無菌的に試験管内で芽や葉から遺伝的に同一の植物体を増殖する技術であり、果樹においてもバナナおよびパパイヤなどで実用化されている¹⁾。

アボカドでは挿し木繁殖が困難なことから、マイクロ繁殖技術の研究には50年以上の歴史がある。これらの結果、アボカドの繁殖法としてはマイクロ繁殖が挿し木よりも有効であること、品種によってマイクロ繁殖に適した条件が異なることが解明された²⁾。ただし、煩雑な過程を要する方法もあり、簡便な技術開発も重要な課題である。本研究においては、冬季の耐寒性や果実品質から鹿児島県で普及が期待される‘フェルテ’を供試してマイクロ繁殖技術の確立を目指した。

2 実験

アボカド品種‘フェルテ’を供試した。鹿児島大学農学部の無加温ガラス室で鉢栽培している樹の新梢の腋芽を材料とし、約1-2cmに切り出して滅菌後、無菌状態で腋芽または頂芽を培地に置床した。すべて $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 、14時間日長で、3%の糖類および0.8%寒天を添加したWPM培地を基本とした。

本研究ではアボカドシュートの伸長・増殖に適した植物ホルモンなどの培養条件を解明することを主眼として、サイトカイニン（ベンジルアデニン（BA）、カイネチン、2-イソペンテニルアデニン（2iP））、オーキシシン（ナフタレン酢酸（NAA））およびアミノ酸（アルギニン）がシュート成長に及ぼす影響について検討した。実験においてはこれらを単独で、または組み合わせて用いた。試験区の詳細はTable 1に示した。継代の間隔は4週とし、実験ごとに4回継代した。シュートが5mm以上に伸長したものをシュート成長個体とした。

3 結果と考察

BA・カイネチンの効果（試験1）：BAおよびカイネチンともに10ppmではシュート伸長がほとんど認められなかった。1ppm区で比較すると、BAよりもカイネチンのシュート伸長が優れた（Table 2）。例としてカイネチン1ppm区の8週後の生育状態を示した（Fig. 1）。

BA・カイネチン・NAAの効果（試験2）：BAまたはカイネチンにNAAを添加した場合、NAA濃度は0.1ppmが1ppmよりもシュート成長が優れた（Table 3）。しかし、NAA無添加の試験1の結果と大差がなく、NAA添加がシュート成長に及ぼす効果は判然としなかった。

BA・NAA・アルギニンの効果（試験3）：アルギニンの効果は認められなかったが、NAA0.5ppmでシュート成長が優れる傾向にあった（Table 4）。

カイネチン・NAA・アルギニンの効果（試験4）：試験3と同様にアルギニンの効果は無かった。NAA添加の効果も判然としなかった（Table 5）。

2iP・NAA・アルギニンの効果（試験5）：本試験ではNAA無添加区のシュート成長

Table 1 Combination and concentration of the phytohormone used in the present study

		BA	Kinetin	NAA	Arginine	2iP
Experiment 1	①	1				
	②	10				
	③		1			
	④		10			
Experiment 2	①	1		0.1		
	②	1		1		
	③		1	0.1		
	④		1	1		
Experiment 3	①	1				
	②	1			10	
	③	1		0.5		
	④	1		0.5	10	
Experiment 4	①		1			
	②		1		10	
	③		1	0.5		
	④		1	0.5	10	
Experiment 5	①					1
	②			0.1		1
	③			1		1
	④				10	1
	⑤			0.5		1
	⑥			0.5	10	1
Experiment 6	①		1			0.5
	②		1			1
	③		1	0.1		0.5
	④		1	1		0.5
	⑤		1	0.1		1
	⑥		1	1		1

(ppm)

が悪かった。2iP のみの区と比較すると、アルギニン添加の効果は認められなかった (Table 5)。

カイネチン・2iP・NAA の効果 (試験 5) : 本試験でも NAA の効果は認められなかった。カイネチンと 2iP を混用した区のシュート成長が優れた (Table 6)。

Table 2 Effect of composition and concentration of phytohormone on shoot growth in cultures of the avocado ‘Fuerte’ (Experiment 1)

Phytohormone	No. of explants	Proliferation rate			
		4 weeks	8 weeks	12 weeks	16 weeks
BA 1ppm	8 (2)	0.75 (1.00)	0.83 (1.00)	0.80 (1.00)	0.00 (0.50)
BA 10ppm	8 (2)	0.13 (1.00)	0.00 (0.00)	0.00 (0.00)	0.00 (0.00)
Kinetin 1ppm	8 (2)	0.88 (1.00)	1.00 (0.50)	0.71 (1.00)	0.60 (0.00)
Kinetin 10ppm	8 (2)	0.00 (0.50)	0.00 (1.00)	0.00 (1.00)	0.00 (0.00)

WPM, sucrose 3%, agar 0.8%

Data in parenthesis indicate apical meristem

Table 3 Effect of composition and concentration of phytohormone on shoot growth in cultures of the avocado ‘Fuerte’ (Experiment 2)

Phytohormone	No. of explants	Proliferation rate			
		4 weeks	8 weeks	12 weeks	16 weeks
BA 1ppm + NAA 0.1ppm	8 (2)	0.75 (1.00)	0.67 (0.50)	0.25 (0.00)	0.00 (0.00)
BA 1ppm + NAA 1ppm	8 (2)	0.13 (1.00)	0.00 (1.00)	0.00 (1.00)	0.00 (0.00)
Kinetin 1ppm + NAA0.1ppm	8 (2)	0.88 (1.00)	0.71 (0.50)	0.40 (1.00)	0.00 (0.00)
Kinetin 1ppm + NAA1ppm	8 (2)	0.00 (0.50)	0.00 (1.00)	0.00 (1.00)	0.00 (1.00)

WPM, sucrose 3%, agar 0.8%

Data in parenthesis indicate apical meristem

Table 4 Effect of composition and concentration of phytohormone and amino acid on shoot growth in cultures of the avocado ‘Fuerte’ (Experiment 3)

Phytohormone	No. of explants	Proliferation rate			
		4 weeks	8 weeks	12 weeks	16 weeks
BA1 ppm + NAA 0ppm+Arginine 0ppm	8 (2)	0.50 (1.00)	0.50 (0.50)	1.00 (0.50)	0.50 (0.00)
BA1 ppm + NAA 0ppm+Arginine 10ppm	8 (2)	0.50 (1.00)	0.50 (0.00)	1.00 (0.00)	1.00 (0.00)
BA1 ppm + NAA0.5 ppm+Arginine 0ppm	8 (2)	0.75 (1.00)	0.83 (0.50)	0.80 (1.00)	1.00 (1.00)
BA1 ppm + NAA0.5 ppm+Arginine 10ppm	8 (2)	0.38 (1.00)	0.67 (0.50)	1.00 (0.00)	0.50 (0.00)

WPM, sucrose 3%, agar 0.8%

Data in parenthesis indicate apical meristem

Table 5 Effect of composition and concentration of phytohormone and amino acid on shoot growth in cultures of the avocado ‘Fuerte’ (Experiment 4)

Phytohormone	No. of explants	Proliferation rate			
		4 weeks	8 weeks	12 weeks	16 weeks
Kinetin 1ppm + NAA 0ppm+Arginine 0ppm	8 (2)	0.50 (0.50)	0.75 (1.00)	0.33 (1.00)	0.00 (1.00)
Kinetin 1ppm + NAA 0ppm+Arginine 10ppm	8 (2)	0.13 (0.00)	1.00 (0.00)	1.00 (0.00)	1.00 (0.00)
Kinetin 1ppm + NAA 0.5ppm+Arginine 0ppm	8 (2)	0.38 (1.00)	1.00 (0.50)	1.00 (1.00)	1.00 (0.00)
Kinetin 1ppm + NAA 0.5ppm+Arginine 10ppm	8 (2)	0.38 (0.50)	0.33 (1.00)	0.00 (1.00)	0.00 (1.00)

WPM, sucrose 3%, agar 0.8%

Data in parenthesis indicate apical meristem

Table 6 Effect of composition and concentration of phytohormone and amino acid on shoot growth in cultures of the avocado ‘Fuerte’ (Experiment 5)

Phytohormone	No. of explants	Proliferation rate			
		4 weeks	8 weeks	12 weeks	16 weeks
2iP 1ppm	8 (2)	0.75 (0.00)	1.00 (0.50)	0.83 (1.00)	0.80 (0.00)
2iP 1ppm + NAA 0.1ppm	8 (2)	0.25 (0.50)	1.00 (1.00)	1.00 (1.00)	0.50 (0.00)
2iP 1ppm + NAA 1ppm	8 (2)	0.13 (1.00)	1.00 (0.50)	1.00 (0.00)	0.00 (0.00)
2iP 1ppm + NAA 0ppm+Arginine 10ppm	8 (2)	0.75 (0.50)	0.83 (0.00)	1.00 (1.00)	1.00 (0.00)
2iP 1ppm + NAA 0.5ppm+Arginine 0ppm	8 (2)	0.25 (0.50)	0.50 (1.00)	1.00 (1.00)	0.00 (0.00)
2iP 1ppm + NAA 0.5ppm+Arginine 10ppm	8 (2)	0.25 (0.00)	1.00 (0.00)	1.00 (0.00)	0.00 (0.00)

WPM, sucrose 3%, agar 0.8%

Data in parenthesis indicate apical meristem

Table 7 Effect of composition and concentration of phytohormone on shoot growth in cultures of the avocado ‘Fuerte’ (Experiment 6)

Phytohormone	No. of explants	Proliferation rate			
		4 weeks	8 weeks	12 weeks	16 weeks
Kinetin 1ppm + 2iP 0.5ppm	8 (2)	0.38 (0.00)	0.33 (0.00)	1.00 (0.00)	0.00 (0.00)
Kinetin 1ppm + 2iP 1ppm	8 (2)	0.63 (1.00)	0.80 (0.50)	1.00 (1.00)	1.00 (1.00)
Kinetin 1ppm + 2iP 0.5ppm + NAA 0.1ppm	8 (2)	0.13 (0.00)	0.00 (0.00)	0.00 (0.00)	0.00 (0.00)
Kinetin 1ppm + 2iP 0.5ppm + NAA 1ppm	8 (2)	0.13 (0.50)	1.00 (0.00)	1.00 (0.00)	0.00 (0.00)
Kinetin 1ppm + 2iP 1ppm + NAA 0.1ppm	8 (2)	0.13 (0.00)	0.00 (1.00)	0.00 (1.00)	0.00 (1.00)
Kinetin 1ppm + 2iP 1ppm + NAA 1ppm	8 (2)	0.00 (1.00)	0.00 (0.00)	0.00 (0.00)	0.00 (0.00)

WPM, sucrose 3%, agar 0.8%

Data in parenthesis indicate apical meristem

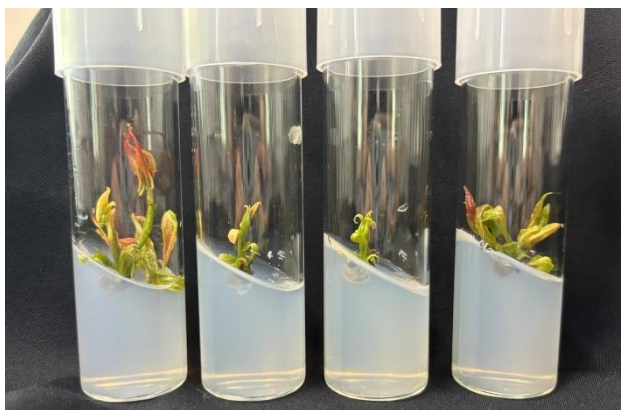


Fig. 1 Shoot growth of avocado ‘Fuerte’ (BA 1ppm)

組織培養の成功のためには、使用する基本培地の選択が重要である。MS が一般的な培地であるが、果樹では窒素濃度が低い WPM が MS よりも良好な生育を示すことがあり³⁾、アボカドにおいても WPM での生育が優れるとの報告があることから²⁾、本研究でもすべての実験で WPM を用いた。さらに、適切な植物ホルモンの種類、組成、濃度の解明も非常に重要である。アボカドの組織培養においてはサイトカイニンが必須であることが報告されているので^{2,4)}、本研究に

においてもサイトカイニンの種類と濃度を主に検討した。試験した BA、カイネチン、2iP のいずれでもシュート成長は確認されたが、その中では 2iP が最も有望である可能性がある。また、‘Duke’ においては高濃度 (10ppm) のサイトカイニンの効果が報告さ

れているが⁵⁾、本研究の‘フェルテ’においては低濃度（1ppm）が適しており、サイトカイニンの最適濃度に関する品種間差異が確認できた。また、NAA とアルギニンの添加がシュート成長を促進する報告もあるが⁶⁾、本研究ではこれらの添加効果は明らかでなかった。

以上、本研究ではアボカド‘フェルテ’のミクロ繁殖技術を完成することはできなかったが、適した培養条件の解明は進展した。アミノ酸であるグルタミン酸がシュート成長を促進することも報告されており⁷⁾、今後は今回得られた成果を基にミクロ繁殖技術を発展させる必要がある。

4 謝 辞

本研究を実施するにあたり、研究助成をいただいたサンケイ科学振興財団に深く感謝いたします。

5 引用文献

1. Hidaka, T., Komori, S., Yamada, M. and Fukamachi, H.: Mass-production of papaya (*Carica papaya* L.) saplings using shoot-tip culture of commercial use. South Pacific Studies 28, 87-95 (2008)
2. Hiti-Bandaralage, J. C. A., Hayward, A. and Mitter, N.: Micropropagation of avocado. (*Persea americana* Mill.). American Journal of Plant Sciences, 8, 2898-2921
3. Wolfe, D. E., Eck, P and Chin, C. K.: Evaluation of seven media for micropropagation of highbush blueberry. HortScience, 18, 703-705 (1983)
4. Barcel'o-Muñoz, A. Encina, C. L., Simon-Perez, E. and Pliego-Alfaro, F.: Micropropagation of adult avocado. Plant Cell Tissue Organ Culture, 58, 11-17 (1999)
5. Harty, P. A.: Propagation of avocados by tissue culture: development of a culture medium for multiplication of shoots. South African Avocado Growers' Association Yearbook, 8, 70-71 (1985)
6. El-Fadl, A., Reda E., Manal E. A. and Mohamed R.A. A. A.: *In vitro* propagation of avocado (*Persea americana* Mill.). Egyptian Journal of Desert Research, 72, 73-87 (2022)
7. Encinaa, C. L., Parisi, P., O'Brienb, C. and Mitterc, N.: Enhancing somatic embryogenesis in avocado (*Persea americana* Mill.) using a two-step culture system and including glutamine in the culture medium. Scientia Horticulturae 165, 44-50 (2014)

Development of a micro propagation method for avocado, Fruit trees expected to spread in Kagoshima Prefecture,

Masashi Yamamoto and Naoko Kozai

Faculty of Agriculture, Kagoshima University

1-21-24, Korimoto, Kagoshima 890-0065, Japan

Avocado is a subtropical fruit tree native to the Americas, and its imports are increasing annually. Consequently, there is a need for domestic fruit production, but a stable supply of nursery stock has not yet been achieved. To address this challenge, we have developed a micro-propagation method for avocado. We used 'Fuerte', a promising cultivar for cultivation in Japan due to its relatively high low temperature

tolerance. Shoot growth of apical shoots has been found to be superior to that of axillary shoots. The role of auxin, a phytohormone, remains unclear, but it was determined that cytokinin, a plant growth regulator, was essential for shoot growth. The effect of arginine, an amino acid, was also not observed. Cytokinin was found to be more effective at 1 ppm than at 10 ppm, and 2iP was most effective among BA, kinetin, and 2iP.