



|                  |  |
|------------------|--|
| Title            | 馬鈴薯の組織培養に関する生理学的研究 : 第2報 発根過程における $\alpha$ -naphthaleneacetic acid および kinetin の意義について |
| Author(s)        | 桂, 直樹; KATSURA, Naoki; 岡沢, 養三 他  |
| Citation         | 北海道大学農学部邦文紀要, 7(3), 416-422  |
| Issue Date       | 1970-03-31   |
| Doc URL          | <a href="https://hdl.handle.net/2115/11803">https://hdl.handle.net/2115/11803</a>      |
| Type             | departmental bulletin paper  |
| File Information | 7(3)_p416-422.pdf  |



# 馬鈴薯の組織培養に関する生理学的研究

第2報 発根過程における  $\alpha$ -naphthaleneacetic acid  
および kinetin の意義について

桂 直樹・岡沢養三・田川 隆

(北海道大学農学部植物学教室)

Physiological studies on potato tissue cultured *in vitro*

Part II. Significance of  $\alpha$ -naphthaleneacetic acid and  
kinetin in rooting process

By

Naoki KATSURA, Yozo OKAZAWA and Takashi TAGAWA

(Department of Botany, Faculty of Agriculture,  
Hokkaido University, Sapporo, Japan)

Received November 18, 1969

不定根形成の機構に関する研究は1930年代以来主として cutting を用いて auxin 作用、および発根物質の検索について行なわれてきた<sup>15)</sup>。その後、高等植物の無菌培養法の確立により、種々の組織切片からの器官誘起<sup>2), 16)</sup>、また callus 細胞からの分化および形態形成における一現象として、根の形成が研究されてきた<sup>12), 13)</sup>。これらの結果から不安根形成において auxin が重要な役割を演じていることは明らかであるが、auxin がいかなる作用によって、いかなる変化を誘起するのかという点に関しては未解決の問題が多く残されている。また auxin 自身が“発根決定要因”としての機能を持つか否かについてはなお不明であるが、これに関しては種々の仮説が提出されている。

たとえば auxin 自身は発根に直接関与せず、組織の切断ともなる発根物質の再分配およびその活性化を通じて作用するともいわれている<sup>14)</sup>。またキクイモの組織培養の発根機構の解析より、その発根には auxin とともに発根物質の存在も重要であるとされている<sup>4)</sup>。最近 Fadl ら<sup>3)</sup> は外部より与えた auxin とある種の phenol 性化合物の結合体を発根物質として単離した。

他方タバコの組織培養における callus の形成や器官形成が培地中の auxin と cytokinin の量により決定されることから、Skoog ら<sup>13)</sup> は auxin と cytokinin の量的関係がこの器官形成の調節機構に関与すると考え、

器官形成に際しての個々の器官に対応する“特異的形成果質”の概念を否定した。

しかし auxin と cytokinin による組織培養からの器官形成に関しては、auxin および cytokinin の量と、形成される器官の種類およびその数との対応関係が明らかにされたのみであって、その機作についてはさらに動的な解析が必要である。

本研究は馬鈴薯の組織培養をもちいて、このような立場から発根誘起機構における auxin と cytokinin の役割についてさらに検討を加えたものである。

馬鈴薯の組織培養においては、培養基中に低濃度 (0.05 mg/l) の  $\alpha$ -naphthaleneacetic acid (NAA) と高濃度 (1 mg/l) の kinetin (KIN) が共存すると多数の根が形成される<sup>11)</sup>。その際の NAA と KIN の作用を検討するためには従来の方法では不充分である。すなわち前報<sup>9)</sup>にも示したように根の発現には極めて長期間の lag-time がみられ、さらに発根は同時的におこらず、また培地中の auxin や KIN の濃度変化の過程を追求することが困難なためである。したがって発根に対する培地中の auxin や KIN の実際の効果を検討するためつぎに示すような方法を案出してこの間の関係を追求して興味ある結果が得られたのでここに報告する。本研究の遂行にあたり種々御教示を賜った北海道大学農学部喜久田嘉郎博士に深甚な謝意を表す。

### 実験材料および実験方法

培養組織は前報<sup>9)</sup>と同様に、馬鈴薯塊茎(品種男爵薯)の髓部柔組織よりとった厚さ1 mmの円盤状の組織(生量やく50 mg)を用いた。培養方法および培地組成も前報<sup>9)</sup>とほぼ同様であるが、培地は前報<sup>9)</sup>のものを一部修正して用いた(sucrose 1%, casein hydrolysate 0.4%)。また発根試験に関しては NAA および KIN の最適濃度はそれぞれ 0.05 mg/l および 1 mg/l であることが確認されている<sup>9)</sup>ので、この濃度の NAA および KIN を含む培地を<発根培地>と称して用いた。また NAA または KIN を本濃度でそれぞれ単独で添加した培地を<N-培地>および<K-培地>とした。したがって本文にて特に記載のない場合、NAA は 0.05 mg/l、KIN は 1 mg/l で培地に添加したことを示す。

移植実験に際しては、培養組織をフラスコよりとりだし、滅菌ろ紙で表面の余分な水分を除いたのち、次の培地に移植した。

根の形成は、外部より判別しうる根の数をもって調べたが、その表示は発根指数(Index of rooting)を用いた。これは各処理区(1区あたり16個の組織を用いた)の平均発根数と発根率の積により求めた。

### 実験結果

従来<sup>9,11)</sup>の研究から馬鈴薯塊茎の柔組織切片の培養において、NAA (0.05 mg/l) と KIN (1 mg/l) の存在が不定根形成に不可欠な要因であることは明らかであり、その発根実験には厚さ1 mmの円盤状組織を用いているので、このような比較的多数の細胞層よりなる組織片に与えた生長物質の作用を検討する場合、それらが直接根の形成を誘起する条件を与えるのか、あるいは組織内での濃度勾配や組織中に含まれる調節要因の関与について考慮しなければならない。これらは馬鈴薯塊茎の組織培養では、器官形成に必要な auxin の濃度は、用いた組織の大きさにより異なる<sup>11)</sup>ことから明らかである。この点をさらに確認するために、厚さ0.3 mmの薄い切片を用いて前報<sup>9)</sup>と同様に、種々の濃度の NAA と KIN を含む培地に培養して発根をしらべた(Fig. 1)。この場合にも NAA 濃度は 0.05 mg/l が発根に最適であり、また KIN 濃度も 1.0 mg/l が最適濃度であった。この組織はおよそ3~4層の細胞層よりなるが、この場合にも発根には厚さ1 mmの組織と同じ濃度の NAA と KIN を必要とした。したがって本濃度の NAA と KIN が培地中に存在することは塊茎の柔組織からの不定根形成に不可

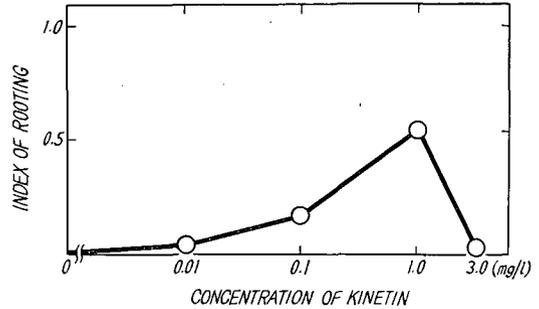


Fig. 1. Effect of various concentrations of KIN on root formation of cultured potato tissues.

Slices (0.3 mm in thickness) were cultured on the medium supplemented with NAA at 0.05 mg/l and various concentrations of KIN. Index of rooting was determined at the end of 6th week.

$$\text{Index of rooting} = \frac{\text{number of roots}}{\text{number of slices}} \times \frac{\text{number of rooting slices}}{\text{number of slices}}$$

欠な条件であることが再確認された。このように根の形成の不可欠な要因としての NAA と KIN の作用を通して、不定根形成の過程について検討を加えた。

前報<sup>9)</sup>に示したように、本実験系において根の形成に先立ち比較的長い lag-time が存在し、この時期に、生重・乾重の増加も認められた。しかもこれらの発根、および生重と乾重の増加はともに KIN の存在に依存した。しかし完成された根は lag-time (約3週間) のち徐々に外部より認められるようになり、さらに発根数は日を追って増加した。したがってこの現象は根の形成の開始の時期の差違に由来するのか、あるいは根が認めうるまでに生長する時間の差違によるのかという問題を提出する

Fig. 2 は発根培地にて1週間培養したのち種々の培地に移植して培養した組織からの発根を示す。図より明らかのように、NAA と KIN が全期間存在する場合 (I) は3週間目より徐々に根の発現が認められたが、KIN を1週間目以後除いた場合 (II) には lag-time が短縮され、3週間目での発根状況は (I) よりはるかによかった。しかしそのごの発根数の増加はわずかであった。1週間目の培養条件は同一であり、しかも KIN は発根に不可欠である<sup>11)</sup>ことを考慮するならば、(II) における根の形成は1週間目において誘起されていることを示すものである。このことは1週間発根培地で培養したのち基本培地に移植した組織 (IV) にも根が形成されたことから明らかである。他方1週間目に NAA と KIN で誘起さ

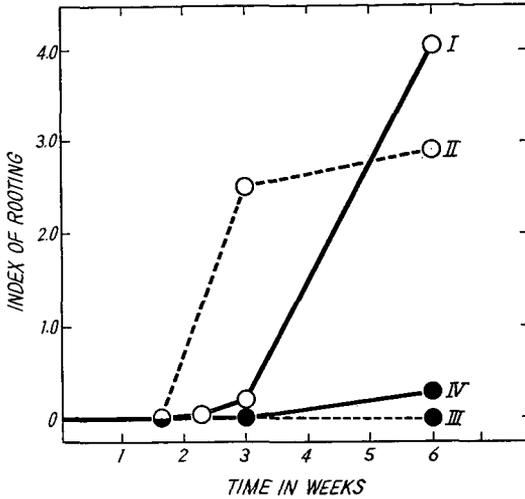


Fig. 2. Time course experiment of root formation on cultured tissues transferring to different media.

Slices were cultured on the Rooting medium for a week, then transferred to the following media, respectively.

- I Rooting medium (NAA+KIN+Basal medium)
- II N-medium (NAA+Basal medium)
- III K-medium (KIN+Basal medium)
- IV Basal medium

NAA: 0.05 mg/ℓ KIN: 1.0 mg/ℓ

れた変化が根の発現として認められるのが、(II)では2週間目であるが(I)では3週間以上もかかることを考慮するならば、KINは根の形成の誘起そのものには不可欠であるが、その生育過程に対してはむしろ抑制的であると考えられる。また上記の事実、全期間KINが存在する場合(II)には1週間以後も根の形成が続いていることを示唆する。同時に行なった実験にてN<sup>-</sup>、あるいはK<sup>-</sup>培地から移植した際には発根は認められなかった。

このように発根培地上で培養した際、根原基の形成が長期にわたって起っているとすれば、組織は培養初期には種々の段階の発根過程を含むことになり、発根培地は含まれるNAAやKINの作用機作を追うことは困難となる。

したがって根の形成を可能とする条件の検討のためには、発根の絶対数の減少はまぬがれないとしても、より同調系に近い発根系の確立が必要となった。このためには培養組織が根の形成に方向づけられるために必要なauxinとKINの最短の存在期間について検討することが重要であると考えられる。

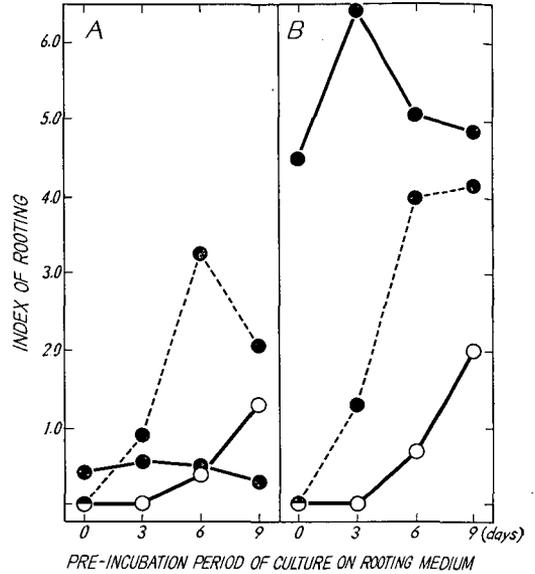


Fig. 3. Changes in rooting ability as a function of duration of culture on the rooting medium.

Slices were cultured on the Rooting medium for various duration indicated on the abscissa, then transferred to the "Rooting medium" (●—●), "N-medium" (●—●—●) or "Basal medium" (○—○). Index of rooting was determined at the end of 3rd week (A) and 6th week (B).

これらの諸点から、Fig. 3に示したように培養の初期におけるNAAとKINの作用をみるために、NAAとKIN両者を含む培地上で種々の期間培養したのち、組織の異なる培地に移植した場合の発根を調べた。

この結果、Fig. 2の結果から与えられた推察と同様に根の形成はKINにより誘起されるが、その発現はKINにより強く抑制されることが再び確認された。また根の形成はKINが長期間入っていればいほど多くおこること、またNAAとKINが3日間与えられればその後はNAAのみでもよいこと、およびNAAとKINが6日以上与えられれば、その後は基本培地上で培養した場合にも発根することが認められた。これらの事実は根の形成にはその初期にNAAとKINの両者を必要とする時期と、NAAのみでもよい時期が存在し、一度形成された根の生長にとっては、これらの生長物質は上記の濃度で存在する必要がないばかりでなく、むしろ抑制的であることを示している。

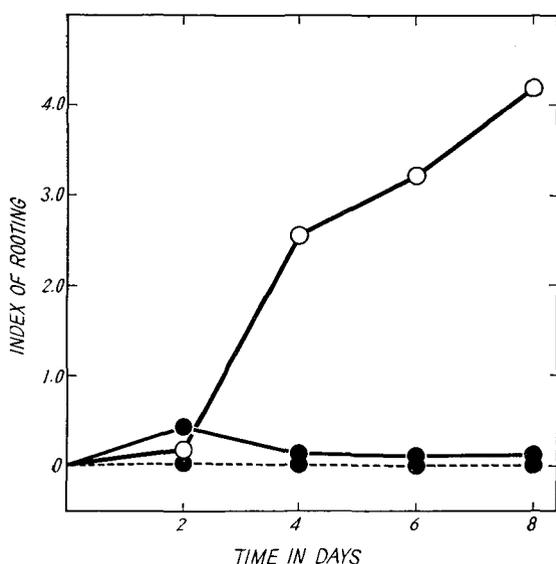
この発根初期にのみ関与すると考えられる培地中のNAAとKINの役割を考慮する際、NAAとKINの相

**Table 1.** Effect of NAA applied during the first week of culture on root formation.

Slices were cultured on the preculture-medium for a week, then transferred to "N-medium" to continue further two week culture

| Preculture medium            | Index of rooting <sub>*</sub> |
|------------------------------|-------------------------------|
| NAA (0.05 mg/ℓ)+KIN (1 mg/ℓ) | 3.7                           |
| NAA (0.01 mg/ℓ)              | 0.02                          |
| NAA (0.005 mg/ℓ)             | 0.04                          |

\* Index of rooting was taken as shown in Fig. 1.

**Fig. 4.** Effect of KIN applied at initial period of culture on root formation.

Slices were cultured on the medium containing NAA at 0.05 mg/ℓ plus KIN at 1 mg/ℓ (○—○), KIN alone at 1.0 mg/ℓ (●—●) or KIN alone at 0.1 mg/ℓ (●—●) for various duration indicated on the abscissa, then transferred to the medium with NAA at 0.05 mg/ℓ. Cultures were continued for 6 week after inoculation.

互の拮抗作用について検討する必要がある。この点については Table 1, および Fig. 4 に示した結果から、これらが拮抗的に作用するよりむしろ相乗作用として、または相互依存的な関係において発根に関与することが明らかになった。すなわち発根の初期過程を誘起する際に NAA と KIN の両者が同時に必要であることを示すものと考えられた。

このような発根の初期過程における NAA と KIN の

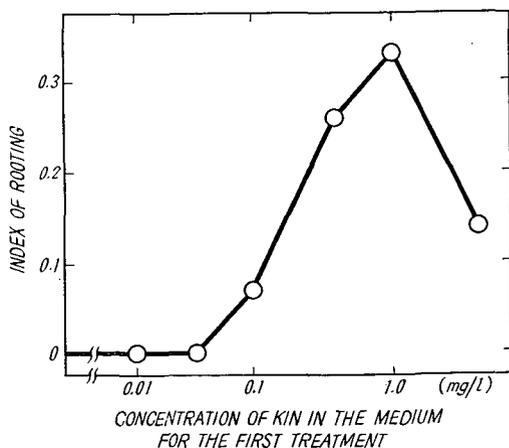
作用が、前報<sup>9)</sup>に示したような全期間発根培地上にて培養した際のこれらの作用を正確に再現していること確認する目的で、発根の各段階を比較的単純化して表現しうる実験系を用いて NAA と KIN の濃度と発根の関係を検討した。

まず根の形成のもっとも初期の過程 (NAA と KIN の両者を必要とする時期) の誘起に及ぼす KIN 濃度の影響をみた (Fig. 5)。これは培養開始直後の 3 日間 NAA (0.05 mg/ℓ) とともに種々の濃度の KIN を含む培地で培養し、その後 N-培地にて 3 日間培養した。ついで基本培地に移植し、培養を続けた際の発根を示す。発根数は少なかったが、この場合にも KIN の最適濃度は 1 mg/ℓ であった。このように最低限の条件下でも発根に及ぼす KIN の最適濃度が他の場合と同様であることは、KIN と発根誘起の関係が密であることを示唆している。

また 3 日間発根培地上にて培養し、発根を誘起した組織に対しても 1 mg/ℓ の KIN は発根数をさらに増加させた (Fig. 6)。

これらの実験結果はいずれも Fig. 2 および Fig. 3 に示した結果が前報<sup>9)</sup>に示した発根と auxin および cytokinin 濃度との関係を表現するものであることを支持する。

このように発根誘起に際しての KIN の役割が、その過程の極めて初期にのみ限定されること、しかもその際

**Fig. 5.** Effect of KIN concentrations applied for the first treatment on root formation.

Experimental sequence is as follows:

NAA (at 0.05 mg/ℓ) → N-medium → Basal-medium  
KIN (shown on abscissa) (3 days) (3 days) (15 days)

Index of rooting was determined at the end of third week after inoculation.

0.05 mg/l の NAA が共存する必要があることが明らかであるが、NAA の作用はこの初期段階のみならず KIN よりも長く存在する必要があることが認められた (Fig. 2

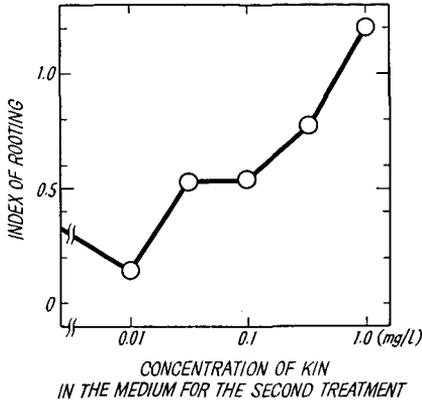


Fig. 6. Effect of KIN concentrations applied for the second treatment on root formation.

Experimental sequence is as follows:

Rooting medium → NAA (0.05 mg/l) → Basal medium  
(3 days) → KIN (shown on abscissa) (3 days) → (15 days)

Index of rooting was determined at the end of culture.

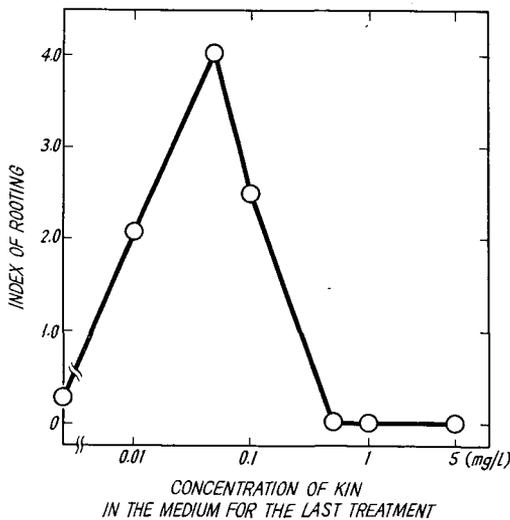


Fig. 7. Effect of NAA on root development.

Experimental sequence is as follows:

Rooting medium → N-medium → NAA (shown on abscissa)  
(3 days) (3 days) (15 days)

Index of rooting was determined at the end of culture.

および Fig. 3)。この後者の段階での auxin の作用を検討するために、発根培地上にて培養した組織に対する NAA 濃度の影響をみた (Fig. 7)。この場合、0.05 mg/l の NAA が発根にもっとも良好であった。また 0.5 mg/l 以上の濃度では NAA は callus の形成を誘起し、1 mg/l の場合には根の発現は完全に阻止された。また 0.05 mg/l より低濃度の場合にも 0.05 mg/l の濃度よりは不良であった。この際 NAA を含まない培地上では根は顕著な伸長を示したが、NAA が 0.05 mg/l のような低濃度では伸長が抑制され、高濃度では完全に伸長を阻止したことから、根の伸長に対しては、NAA は発根誘起の最適濃度にも抑制作用を示すことが認められた。

したがって上記の NAA (0.05 mg/l) の発根作用は伸長促進によって根の発現数を増加させると考えるよりも、むしろ NAA と KIN により誘起された変化をさらに展開する過程において重要な役割をするものと解された。

#### 考 察

本実験結果より、馬鈴薯の培養組織の発根にはホルモンに対する感受性として3つの段階の存在が認められた。最初に根の形成に先立ち KIN と NAA の両者を必要とする段階があり、ついで NAA のみを必要とする段階がこれに続いた。さらに形成された根の伸長にはこれらの両者を必要とせず、これらはむしろ根の伸長生長に対し抑制作用を示した。これらの生長物質に対する組織の感受性の差が根の発生過程のどこに対応するのかは不明である。しかしながらこのような器官の形成過程における生長物質に対する反応の相違については多くの報告がある。すなわち、WENT<sup>14)</sup> は根の形成に際して、auxin の作用する時期を2つの期間に分割することができるのと、1つは phenylacetic acid や  $\gamma$ -phenylbutyric acid などにより auxin の代行作用が可能である時期であり、ついで真の auxin (indoleacetic acid) の必要な時期があることを認めている。しかしこれら時期はそれぞれ rhizocaline 蓄積の時期、および蓄積された rhizocaline の活性化の時期であるとして auxin の発根作用を説明している。また Brian<sup>1)</sup> はそらまめの cutting の不定根形成に及ぼす gibberellin の阻害効果の解析から、gibberellin は根原基形成に先行する細胞分裂を阻害することにより発根を抑制すると報告している。このような gibberellin による発根の初期過程における阻害作用はトマト<sup>8)</sup> やベゴニア<sup>6)</sup> にも認められている。また Humphries<sup>7)</sup> によると KIN は矮性そらまめでの不

定根形成を抑制するが、これは細胞分裂を抑制することによるのではなく、新生した細胞の種類に影響を与えることによるものであるという。

以上のような事実を考慮すると、馬鈴薯塊茎の柔組織からの発根と生長物質の作用の関係は次のように考えられる。

まず KIN と NAA が馬鈴薯の発根に対して、一定の濃度関係において密接に関与することは前報<sup>9),11)</sup>にて明らかにされたが、本報ではこの両者は発根過程の初期においてのみ必要とされることが明らかになった。しかも NAA と共存下で、KIN は培養開始後比較的長期にわたって発根を誘起することから、KIN は単に分裂再開を誘起するためにのみ必要であるばかりでなく、根の分化の開始に直接関与していると推察される。これは 0.3 mg/ℓ の濃度の NAA が、体内の cytokinin とともに callus 形成を誘起すること<sup>9),10)</sup>により支持される。さらに生重または乾重の増加に対し、KIN は 0.3 mg/ℓ 以上の NAA とは拮抗作用を示したが、発根濃度である 0.05 mg/ℓ の NAA に対しては相乗作用を示した。このように callus 形成濃度と発根濃度では NAA と KIN の相互作用が異なっている。したがって発根誘起に必要な細胞分裂は callus 形成の場合と異なり、またその結果生じた細胞も callus の細胞とは質的に異なることが考えられる。しかもこの発根に対する KIN の作用は NAA と共存する場合にかぎりみられ、それが単に両者の拮抗作用によるのではないことも認められた。したがって Humphries<sup>7)</sup>とは相反する現象ではあるが、本実験の場合 KIN は新生される細胞の種類に影響することにより発根に対し作用するという同様の解釈が成り立つものと考えられる。

このように、培地に与えた KIN は根の形成の誘起に際してのみ必要であり、その後の過程ではむしろ阻害的である。また NAA も発根濃度では正常な根の伸長生長を阻害した。これらのことは種々の植物にてすでに認められている<sup>5)</sup>。

したがって一度形成された根の原基は少なくとも培地中の auxin と cytokinin とは無関係に生長しようと解され、これらの生長物質は引き金として器官形成の開始に関与するものと考えられる。

### 摘 要

本研究は組織培養した馬鈴薯(品種男爵薯)の塊茎髄部柔組織からの不定根形成に関与する auxin と cytokinin の意義について検討を加えたものである。

培養期間中の種々の時期に与えた NAA ( $\alpha$ -naphthaleneacetic acid) および KIN (kinetin) に対する組織の感受性の差異を認めたので、その点を時期別に追求して根の形成の過程には auxin と cytokinin に対する要求性の異なる3つの段階が存在することを明らかにした。

すなわち不定根の形成には最初に NAA と KIN の両者を必要とする時期があり、ついで KIN を必要としない時期を経て、根から形成されるが、一度形成された根はこれらの生長物質に対しては反応しないか、むしろ抑制効果を受ける。またこの初期の KIN の作用は auxin との拮抗作用によるのではなく、むしろ両者の相乗効果による発根であり、これは両者の同時添加を必要とすることから、KIN の存在が根の形成の条件づけの段階にて重要であると考えられる。

これらのことから、KIN は NAA と共存することにより、単に細胞分裂を誘起するのみならず、発根誘起にも引き金として直接関与することが推論される。

### 引用文献

- 1) BRIAN, P. W., H. G. HEMMING and D. LOWE (1960): Inhibition of rooting of cuttings by gibberellic acid. *Ann. Bot.*, NS 24, 407-419.
- 2) CHAMPAGNAT, P. (1961): Différenciation. Formation des racines et des bourgeons. In: W. Ruhland (ed). *Encycl. Plant Physiol.*, 14, 839-867. Springer Verlag, Berlin.
- 3) FADL, M. S. and H. T. HARTMANN (1967): Isolation, purification, and characterization of an endogenous root-promoting factor obtained from basal sections of pear hardwood cutting. *Plant Physiol.*, 42, 541-549.
- 4) GAUTHERET, P. J. (1966): Factors affecting differentiation of plant tissues grown *in vitro*. In: *Cell differentiation and morphogenesis*, North Holland Pub. Co. Amsterdam, 55-95.
- 5) HEIDE, O. M. (1965): Effect of 6-benzylaminopurine and 1-naphthaleneacetic acid on the epiphyllous bud formation in Bryophyllum. *Planta*, 67, 281-296.
- 6) HEIDE, O. M. (1965): Interaction of temperature, auxins and kinins in the regeneration ability of Begonia leaf cutting. *Physiol. Plant.*, 18, 891-920.
- 7) HUMPHRIES, E. C. and W. MACIEJEWSKA-POTAPCZYK (1960): Effects of indoleacetic acid and naphthaleneacetic acid and kinetin on phosphorus fractions in hypocotyls of dwarf bean

- (*Phaseolus vulgaris*). Ann. Bot., NS 24, 311-316.
- 8) JANSEN, H. (1967): Die Wirkung von Gibberellinsäure und Indolyllessigsäure auf die Wurzelbildung von Tomatenstecklingen. *Planta*, 74, 371-378.
- 9) KATSURA, N., Y. OKAZAWA and T. TAGAWA (1970): Physiological studies on the potato tissue cultured *in vitro*.
1. Effect of  $\alpha$ -naphthaleneacetic acid and 2,4-dichlorophenoxyacetic acid on the callus and root formation. 北海道大学農学部邦文紀要 7: 30-306
- 10) OKAZAWA, Y. (1968): Significance of native cytokinin in callus growth of potato tissue cultures. *Proceeding of the Crop. Sci. Soc. Japan*, 37, 522-527.
- 11) OKAZAWA, Y., N. KATSURA and T. TAGAWA (1967): Effects of auxin and kinetin on development and differentiation of potato tissue cultured *in vitro*. *Physiol. Plant.*, 20, 862-869.
- 12) PILET, P. E. (1961): Culture *in vitro* de tissus de carotte et organogenese. *Bull. Soc. Bot. Suisse*, 71, 189-207.
- 13) SKOOG, F. and C. O. MILLER (1957): Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissue cultured *in vitro*. *Symp. Soc. Exp. Biol.*, 11, 118-131.
- 14) WENT, F. W. (1939): The dual effect of auxin on root formation. *Amer. Jour. Bot.*, 26, 24-29.
- 15) WENT, F. W. and K. V. THIMANN (1937): *Phytohormone*. MacMillan Comp., N. Y.
- 16) WIGGANS, S. C. (1954): Growth and organ formation in callus tissues derived from *Daucus carota*. *Amer. Jour. Bot.*, 41, 321-332.

#### Abstract

The present investigation was undertaken to elucidate a physiological process including root induction by auxin and cytokinin. Studies on this line were performed with tissue cultures *in vitro* using pieces of parenchymatous tissues derived from pith

of potato tubers (*Solanum tuberosum* L. cv. Irish Cobbler). Modified White's basal medium used here was supplemented by the following addenda: sucrose (10 g/l), casein hydrolysate (4 g/l), vitamine mixture (stated previously<sup>9)</sup>), NAA (0.05 mg/l) and kinetin (1 mg/l). All procedure of culture has been described in the previous paper<sup>9)</sup>.

When a brief preculture carried out first on the medium together with NAA and kinetin succeeded by transplanting to culture in the presence of NAA alone for a certain period, the considerable and rapid root initiation was observed and further excellent development of root ensued without any growth substance. These results are interpreted to indicate that a requirement of auxin and cytokinin for the root initiation and its further development progressively changed with time.

In general, for originating the adventitious roots on the cultured tissues, NAA and kinetin were indispensable for advancing the first stage of culture and requirement of NAA alone was followed at the second stage, but neither NAA nor kinetin was deemed necessary at the final third stage. However once the roots have been initiated, a longitudinal growth of the formed roots failed to be stimulated, but was rather retarded by these substances at the later stage. Because of the observed partnership between NAA and kinetin on this line of the experiments, it can be deduced that kinetin would not so much behave an auxin antagonist as a synergist. Kinetin, therefore, was incapable of causing the inoculated tissues to shift starting the root initiation, unless NAA was applied concurrently to the medium in combination with kinetin.

In conclusion, when the most appropriate concentrations of auxin and kinetin are applied simultaneously to the basal medium, kinetin seems to be beneficial for not only inciting a fairly high rate of division in cells, but also causing to switch on to the induction of the root initiation.