

樹木さし穂のホルモン処理(総説)

近藤, 民雄
九州大学名誉教授

大賀, 祥治
九州大学大学院農学研究院

<https://doi.org/10.15017/14841>

出版情報 : 九州大学農学部演習林報告. 83, pp.97-113, 2002-03-27. 九州大学農学部附属演習林
バージョン :
権利関係 :

樹木さし穂のホルモン処理*

近藤 民雄**・大賀 祥治***

抄 録

優良形質木の大量増殖に最もかなった増殖方法として、通常さし木あるいは取り木が取り上げられる。クローン増殖がうまくいくかどうかは、多くの場合さし木あるいは取り木での発根の善し悪しで決められてしまう。このときにみられる不定根形成の原動力は、もともと無傷の個体で作動している内生オーキシンの固有の発根制御作用と考えられる。従ってさし穂のホルモン処理は、極性移動する内生オーキシンが持つ本来の器官形成能に対する強化助長の処理とみなすことができる。オーキシン処理およびオーキシン以外のホルモンによる処理について概説すると共に、オーキシン処理の際発根部位にあたる、さし穂の基部でどのような生理的応答が進み、あるいは増幅されているか、主として発生上の対応と生化学的応答とに分けて紹介した。さし穂のオーキシン処理は従来含浸とか、塗沫といった一段の処理として取り扱われているが、むしろ誘導処理と始動処理とからなる二段の処理として取り扱うのが適当と判断された。つまり根の原基発生への誘導処理と、それに続く原基発達への始動処理とからなる二段処理として取り扱うのが、処理の実践面からも、また発根の仕組みを理解する上からも妥当と考えられた。また内生オーキシンには発根について、促進と制御という2つの相反する作用の内生が予想され、誘導期には前者が、始動期には後者の軽減除去がそれぞれ優先することで発根促進がもたらされると理解される。

キーワード：不定根形成、植物ホルモン、オーキシン、サイトカイニン、ジベレリン、アブジジン酸、エチレン、直接発根、カルス経由発根、ペルオキシダーゼ、土壤細菌接種、形質転換体

1. はじめに

さし木増殖の際発根しやすいものと、しにくいものがある。さし穂の発根のしやすさから木本植物が3グループに分けられることがある (Blakesley *et al.*, 1991a)。第一のグル

* KONDO, T. and OHGA, S.: Hormone Treatment on Cuttings (Review)

** 九州大学名誉教授

Emeritus Professor, Kyushu University, East Tsukiguma, Fukuoka 816-0054

*** 九州大学大学院農学研究院森林資源科学部門森林生態圏管理学講座

Division of Forest Ecosystem Sciences and Management, Department of Forest and Forest Products Science, Faculty of Agriculture, Kyushu University, Sasaguri, Fukuoka 811-2415

ープはヤナギ、ポプラのように一年生のシュートにすでに根の原基ができていて発根の容易なもの、第二のグループはシナノキ、ハンノキのように根の原基は持たないが、不定根の原基を生じやすいもの、第三のグループはマツ、モミのように根の原基を持たず、しかも不定根の原基がでにくいものがそれである。第三のグループの場合には発根処理が必要となる。木本植物のさし木についての生理的基礎知見は、現在のところ充分とはいえず、さし木増殖が難しいケースが少なくない。従って基礎知見の集積が不充分であることの大きな原因として、木本植物のさし木増殖試験の難しさがあげられる。この難しさは主として形質の揃ったさし穂試料の入手が困難であり、そのために再現性の良い結果が得にくいことによる。このような欠点を避けようとして均質な種子からの発芽直後の芽生えや、胚軸さし穂が供試され（例えばAtzman *et al.* 1996）、あるいは組織培養で得られるマイクロシュートからのさし穂が使用されたりしている（例えばHarbage and Stimart, 1996a）。

木本植物の組織培養によるマイクロ増殖では通常先ず多数のマイクロシュートが誘導され、ついで誘導マイクロシュートについて発根処理が行われ、得られた発根シュートは馴化処理を経て鉢あげされている。この場合最も注意を必要とする過程は発根処理であることがサイプシス（Capuana *et al.*, 1997）、スギ（谷口・近藤, 1997）およびクリ（Goncalves *et al.*, 1998）のマイクロ増殖で、それぞれ報告されている。マイクロ増殖に限らない、前述の第三グループのさし木増殖では通常発根処理が行われる。発根処理としてはさし穂が採取される親木について行うものと（例えば近藤, 1998）、さし穂そのものについて行うものがある。後者の場合にもさし穂の発根部位に割裂などの物理的処理をするものと、化学薬剤で処理するものがある。これらのうち最も広く利用されているのはオーキシソ類を中心とするホルモン処理である。

2. オーキシソ処理一般

植物についてみられる内生オーキシソの生理作用の一つとして、発根促進作用があげられる。さし穂のオーキシソ処理はこのような内生オーキシソのレベルアップを計り、本来の発根促進作用を強化補完しようとする処理とみなすことができる。従って内生オーキシソのレベルが高いか、あるいは組織感度が充分である場合にはオーキシソ処理の必要はない。これが前述の第一あるいは第二のグループの場合である。また内生オーキシソ固有とみなされる発根促進作用については次ぎの観察から、その実体の一端をうかがうことができる。無傷の個体で茎頂を切断除去するか、あるいはオーキシソ移動阻害剤で処理すると発生する根の数が激減し、ときには完全にみられなくなる。しかし切断除去された茎頂の代わりにオーキシソを投与すると、発根の回復がほぼ完全にみられるようになる（Marks, 1996）。このことからオーキシソ固有の発根作用の実体がうかがえる。

無傷の個体の主根でみられる側根形成は、内生オーキシソにより誘導される。一方さし穂の不定根形成はオーキシソ処理により促進されるので、側根形成と不定根形成とはオーキシソが誘導する同じ生理作用に基づくものと考えられる。

オーキシソ処理剤として使用されるものは、IAA（インドール酢酸）、IBA（インドール酪酸）、4-Cl-IAA（4-クロロインドール酢酸）、PAA（フェニル酢酸）（以上4者は天然オーキシソ）、NAA（ナフトレン酢酸）、エチクロゼート（5-クロロインダゾール酢

酸エチル) およびNAM (ナフチルアセトアミド) (以上3者は合成オーキシン) などである。これらのうちIBA, エチクロゼートおよびNAMは植物生長調節剤として登録されており, 発根促進に最も広く使用されているのはIBAである。これは一般にIBAが比較的安定であるために, 発根にはやや不安定なIAAよりも, むしろ好都合とされるからである (Epstein and Ludwig-Müller, 1993)。リンゴのマイクロさし穂の発根促進で投与されるIBAは, 組織に取り込まれた後その一部がIAAに変換し, 生じたIAAはIBAと共に発根に有効に働くとされている (van der Krieken *et al.*, 1992)。一方トウモロコシの芽生えについて, IAAがIBAに変換することが示されているので (van der Krieken *et al.*, 1993), 植物組織中でIBA=IAAの相互変換が進み, その際の反応機構は脂肪酸生合成の場合と同じだとされている (Normanly *et al.*, 1995)。IBAがIAAより安定とされているが, 実際に測定してみると代謝速度にはそれほどの差はみられず, むしろそれぞれ複合型からもとの遊離型への加水分解の容易さの違い (Wiesman *et al.*, 1988), あるいは複合型そのものの酸化され易さの違いのためとされている (Epstein and Ludwig-Müller, 1993)。最近IAAの塩素置換体の天然状態での存在が知られ, むしろ置換体の方が強い発根促進作用を示すとされている (Pan and Tian, 1999)。

発根促進のためのオーキシン処理は単用ばかりではなく, 他の薬剤と共用され, 種々の処理と併用されることも少なくない。生長抑制剤とオーキシンとの併用がしばしばみられる。オリーブさし穂の発根促進に生長抑制剤パクロブツラゾールが併用され, また単用では効果のない尿素-リン酸塩も併用されると効果を発揮し, とりわけ発根後の生き残りに有効とされている (Wiesman and Lavee, 1995)。パクロブツラゾールとの併用の際にみられる発根の共役効果の原因は, 内生オーキシンのレベルアップにあるようだとされている (Pan and Tian, 1999)。不定根形成促進処理として, 最近ある種の土壤細菌の接種が注目されている。ここでは, 固有のDutch elmの病害に抵抗性を持ち, しかも発根性の良いニレのクローンを得ようとして, 空中取り木による増殖を試みた例を紹介する (Rinallo *et al.*, 1999)。オーキシンを含む植物ホルモン混合液による処理, および土壤細菌接種処理が試みられている。空中取り木でみられる発根は各単独処理では不充分であったが, 両者の併用で好成績が得られたとして, 併用処理の有効性が強調されている。その他オーキシン処理の際, 包接化合物を形成することで知られているシクロデキストリンを添加すると発根率が急増するとされている (Brutti *et al.*, 2000)。カラマツのマイクロシュートの発根には, L-フェニールアラニンとの共用が好結果をもたらした (Ogita *et al.*, 1997)。バラのマイクロシュートの発根処理では品種にもよるが, オーキシン濃度と共に塩類濃度を調整することが望ましいとされている (Arnold *et al.*, 1995)。またヒマラヤイチイのさし木増殖では, フロログルシノールや合成殺虫剤バピスチンとの共用が効果を示すとされ (Nandi, 1996), 興味あることにオーキシン類相互の混合使用もまた有効であるとされている。実例として, マングローブの5種類のさし穂についてIAAとNAAあるいはIAAとIBA, それぞれの混合使用が好成績を与え, 各オーキシンの相乗作用の結果とされている (Bask, 1995)。

発根処理の手続きとしては, 先ずさし穂の基部に不定根の原基を誘導する誘導処理に始まり, 次いで誘導された原基を根の発達に向けて始動させる始動処理が続き, 最後に根の形態形成を促進させる処理で終わる順序で進められる。さし穂のホルモン処理は最初の誘

導処理に相当し、その中心は前述のようにオーキシン処理である。後続する始動処理は原基の発達を促す処理であり、通常オーキシンがない条件下で進められる。いずれにしてもオーキシン処理を中心とするホルモン処理は、後続する始動処理があつて発根促進をもたらすことになる。同じような経過がオウトウの組織培養での、不定胚形成とオーキシン処理との場合にもみられる。オウトウの根から誘導されるカルス培養では、不定胚形成に高濃度オーキシンを必要とするが、形成された不定胚の生長のためにはオーキシンがない状態が必要であるとされている (Michalezuk and Druart, 1999)。

3. オーキシン以外のホルモンによる処理

ホルモン処理一般を通してみると、低濃度で処理した場合には発根促進が、高濃度で処理した場合には発根抑制がみられると考えてよいようである。しかし不定根形成はホルモン濃度のほか投与方法、親木の発生段階、内生ホルモンのレベル、組織の感度などにも左右されるので、低濃度処理したからといって必ず発根促進がみられるとは限らない。むしろ他要因の影響の方が強く現われ、これに被覆されてしまうことも少なくないので、充分注意する必要がある。

ピニアパインの芽生えをサイトカイニンで処理すると、側根の発生が抑制される (例えばAtzman *et al.*, 1996)。さし穂の発根についてもサイトカイニン処理で抑制がみられることが多い。2年生の*Citrus*属の幹にラノリンペーストとしてサイトカイニンを塗布すると、側根の数が減るばかりでなく、それからのさし穂の発根率も低下するとされている (Sagee *et al.*, 1990)。また*Citrus*属の組織培養の際、マイクロシュートの再生に使用されるベンジルアデニンの濃度について、高濃度で誘導されるシュートほど発根成績が劣るとされている (Moreina-Dias *et al.*, 2000)。

ジベレリンは根の原基形成を抑制するばかりでなく、低濃度投与の場合を除くほとんどの場合、原基の発達および根の伸びを抑制する (高橋・増田, 1994a)。ただし*Citrus*属についてGA₃処理による若返りを施した親木からの、さし穂の発根率は向上するとされ (Sagee *et al.*, 1990)、一方親木の根の肥大生長はジベレリンにより抑制される (Tadeo *et al.*, 1997)。前述のようにオリーブのさし穂について、ジベレリン生合成阻害剤とオーキシンとの併用は発根促進に有効とされ (Wiesman and Lavee, 1995)、同じような結果がモモの緑枝さし穂について (Wiesman *et al.*, 1989)、また3年生のロブロリパインについて (Barnes and Kelley, 1992)、それぞれ報告されている。

エチレン処理ではしばしばエホテン (商品名エステル) が使用され、ときにACC (アミノシクロプロパン・カルボン酸) も使用される。エチレンは根の伸びを抑制するとされているが (例えばBertell and Eliasson, 1992)、ノルウェートウヒの芽生えさし穂の発根では促進が認められ (Bollmark and Eliasson, 1990)、ハイビスカスのさし穂についてエチレン作用抑制剤を使用した結果からは、発根阻害は認められなかったとされている (Seresk *et al.*, 1998)。このようにエチレン処理の結果は一定していない。これは発根におよぼすエチレンの作用がさほど大きくないためと考えることもできるが、一方不定根の誘導および生長には、ある厳密なレベルの内生エチレンを必要としており、それより多くても少なくとも抑制的に働くと説明するものもみられる (Mensuali-Sodi *et al.*, 1995)。

内生ABA（アブシジン酸）のレベルが低いときABA処理すると、不定根形成が促進されることが、ポプラおよびハコヤナギの萌芽枝からのさし穂について報告されている（Blake and Atkinson, 1986）。ABA処理すると硝酸塩還元酵素活性およびインベルターゼ活性が増大することがチコリーの根で観察されており、このような結果を裏付けているように思われる（Goupil *et al.*, 1998）。一方通常の伸びを示す根ではABA処理すると抑制がみられるとされ（Pilet and Sangy, 1987）、実際にもヤナギのさし穂で抑制が報告されている（Fromm, 1997）。従って、低濃度領域ではABAは根の原基の発生を促進するが、通常の生理的濃度では根の原基の発達、あるいは根の伸びを抑制すると考えてよいようである。

ヤナギのさし穂でスベルミジン（ポリアミン類）は発根を促進するとされ（Fromm, 1997）、発根しにくい果樹のさし穂についてプトレシン（ポリアミン類）で処理すると、発根のよくなるもの（リンゴ、オリーブ）、無効のもの（クリ、アーモンド）および発根率が落ちるもの（クルミ）がそれぞれみられる。一般に内生ポリアミンレベルとの関係は逆相関とされ、レベルの低いものほど発根率の向上が著しいとされている（Rugini, 1993）。リンゴなどのさし穂の発根は、グルタチオンやジチオスレートルのようなチオール化合物によって強く促進され、しかもチオール化合物にはオーキシシン類で時としてみられる、植物毒性が全くないとされている（Anderset, 1996）。

以上から現在のところ、単用でオーキシシンに替わり得る実用的な発根促進剤は見つけにくく、わずかにバクروبツラゾールなどジベレリン生合成阻害剤との併用が注目されるに過ぎないようである。

4. オーキシシン処理時の生理的対応

前述のように、オーキシシン処理は内生オーキシシン固有の性質を一段と強化、助長する処理とみなされる。内生オーキシシン固有の生理作用というのは、オーキシシンの極性移動に伴って起こる一連の生理作用のことであり、その一般的なパターンは次のとおりである。根に向けて茎頂を出発するオーキシシンは、まずシュート部を求基移動する。その際頂芽優勢を推進して側芽や側枝の伸びを抑え、次いで茎幹部に入り形成層の活性化を誘導して肥大生長を進め、ついに根に至り発根作用を発揮して、主根の伸びと共に側根の発生を誘導するプロセスのことである。求基移動の最終段階での発根促進作用が、オーキシシン処理に期待される固有の生理作用とみなされる。内生オーキシシンの移動経路としては、師部（師液）、木部（蒸散流）および形成層領域の3経路が知られている（Cambridge and Morris, 1996）。そのなかで固有の生理作用、なかでも発根促進にかかわるものは形成層領域移動の内生オーキシシンである。

前述のように、さし穂の発根が最も容易な第一グループの樹木は、さし穂を取る前にすでに根の原基を持つので誘導処理の必要はない。オーキシシン処理が期待され、あるいは必要とされるのは主として第三グループであり、この場合には発根に向けて、先ず根の原基がさし穂の基部に誘導されなければならない。この原基誘導に与かるのがオーキシシン処理であり、オーキシシン固有の発根作用が有効となってくる。この場合オーキシシンは根の原基の発生を誘導するが、誘導された原基の発達やその後の根の伸びには無関係か、もしくは抑制的に働くと考えられている（Wightman *et al.*, 1980; Ross *et al.*, 1983）。従ってオーキシシン

には根の原基発生誘導作用と共に、原基発達抑制作用もみられることになる。

オーキシン処理の際、さし穂の基部の組織では外生オーキシンを受けてどのような対応がみられ、どんな生理反応が増幅され、あるいは新生しているのであろうか。原基形成にかかわる発生上の対応、および酵素活性などにかかわる生化学的対応など、いくつかの項目に分けて取り上げてみる。

根の原基発生促進

イースタンホワイトパインの胚軸さし穂について、NAA処理した際の根の原基発生とオーキシン濃度との関係が図1に示されている (Goldfarb *et al.*, 1998)。濃度と共に原基数が増し最適濃度らしいものがみられる。また原基発生の時期が早められ、さらに原基数の増加と共に原基発生部位の拡大がみられるとされている。アボガドのマイクロさし穂のIBA処理時での発根率は未処理のものと同程度変わらないが、根の総数はオーキシン濃度と共に増すとされている (Garcia-Gomez *et al.*, 1994)。またリンゴのマイクロシュートの不定根形成におよぼす培地pHの影響について、外生オーキシンの取り込み量を通してpHは発根数に関係し (Harbage *et al.*, 1998)、しかも根の原基数を決めるものは、オーキシンのレベルに限らないとされている。例えばトウモロコシの主根の先端を切断除去すると未処理のものと同程度、側根原基数は増すが内生オーキシンは未処理のものと同じレベルであったとされ (Golz and Pilet, 1987)、オーキシン以外の要因の関与が示唆されている。

根の原基発育抑制

前述のようにオーキシンは側根原基の発生を誘導するが、誘導された原基の発達はむしろ抑制する。このようなオーキシンの抑制作用は、さし穂のオーキシン処理の際処理時間を延長すると、根の数がかえって減少するとされる (Eliasson, 1981)。またオーキシン投与量が多いと発根は劇的に減少し、もろいカルスができるにすぎないことから知ることができる (Rout *et al.*, 2000)。つまりせっかく誘導された根の原基の発達が、処理後残存するオーキシンによって抑え込まれるということである。さし穂のオーキシン処理の際、しばしばパルス処理と呼ばれる短時間浸漬が試みられたり (例えばDiaz-Sala *et al.*, 1996)、あるいはオーキシン処理後速やかにオーキシンを含まない培地に移されたりするのも (例えばHarbage and Stimart, 1996)、このようなオーキシンによる抑制作用からの回避を狙った処理ということができる。クルミの種子の構成組織別に発根能と内生オーキシンとの関係が検討され、その結果内生オーキシンが少なく、サイトカイニンの多い子葉結合部の発

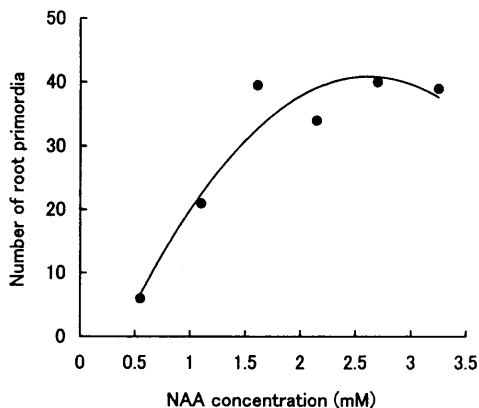


Fig. 1 Effect of NAA concentration on treatment of roots or root primordia formed on eastern white pine hypocotl cuttings.

図1 オーキシン濃度と根の原基数 (イースタンホワイトパイン胚軸さし穂) (Goldfarb *et al.*, 1998)

根能が高いことが示されている。これは明らかにオーキシンによる抑制力が小さく、しかもサイトカイニンの多い若い組織のせいと解釈されている (Feito *et al.*, 1996)。この他バラのマイクロシュートの発根処理に際して、培地にオーキシンが添加されると根の長さが短くなるとされている (Arnold *et al.*, 1995)。このように根の原基形成以降の段階に進んで、なお残存オーキシンがみられることは発根促進にとって好ましくないことになる。ピニアパインの芽生えの先端にサイトカイニンを与えると、茎頂に与えた放射性IAAの求基的移動量が増え、側根発生部位でのオーキシン集積量が増大し、側根発生数がかえって減少したとされている (Atzman *et al.*, 1996)。この場合、明らかに内生オーキシンの増大が側根発生の抑制をもたらしたと考えられる。

直接発根とカルス経由発根

発生上の対応として、さらに直接発根とカルス経由発根との関係を取り上げてみよう。さし穂の不定根形成では通常基部の維管束からの直接発根と、基部の切断面に先ずカルスを生じ、ついでカルス中に木化が進み不定根を生ずるカルス経由発根とがみられる。一般に発根の難しいさし穂で無処理の場合には、カルス経由発根が多くみられ直接発根は少ない、しかしオーキシン処理すると直接発根が多くなり、カルス経由発根が減るとされている (Goldfarb *et al.*, 1998; 右田, 1997)。カルス経由発根では、維管束結合が不十分な場合が多く好ましくないとされている (Nandi *et al.*, 1996)。スコッチパインの胚軸さし穂について、無処理の場合にはカルス経由発根しかみられないが、IBA処理すると初期では直接発根のみがみられ、時間が経つとカルス経由発根が共存するようになり、最後にはカルス経由発根がほとんどになるとされている (Grömoos and von Arnold, 1988)。しかしオーキシン処理してもカルス経由発根しかみられない場合もある (Haissig, 1990; Nandi *et al.*, 1996; Schwarz *et al.*, 1999)。これは発根の極めて難しい樹種や品種あるいは個体の場合であり、発根所要期間が長いのが通常とされている (宮島, 1989)。いずれにしてもオーキシン処理は、カルス経由発根といった対応よりも直接発根といった対応を優先し、それはオーキシン処理による脱分化がカルス経由といった形で継続されるか、あるいは分裂中心形成に切り換えられるかによると考えられる。老齢木からのさし穂の発根は、幼齢木からのものに比べ難しいとされている。組織培養で得られるマイクロシュートについても、親木の老幼による発根性の違いがそのまま引き継がれることがあり、クリのマイクロシュートの場合がそうである。この場合組織解剖の所見からすると、老幼ともオーキシン処理により細胞分裂は活性化されるが、幼齢のものでは分裂中心形成に向けて進み、一方老齢のものでは形成層細胞の並層分裂促進にとどまるとされている (Ballester *et al.*, 1999)。オーキシン処理は若い組織では脱分化さらに新分裂中心形成をもたらす、古い組織では脱分化をもたらすことができず、既存の形成層始原細胞の活性化にとどまるものと考えられる。

内生オーキシンのレベルアップ

生化学的対応のうち著しいものとして、内生オーキシンのレベルアップをみてみよう。オーキシン処理ではさし穂の基部における内生オーキシンのレベルアップをもたらす、この上昇は一時的であり、ほどなく低下してしまう。オーキシンとして広く使用されるIAA (Nordström *et al.*, 1991)、IBA (Garcia-Gomez *et al.*, 1994) の場合のほか、NAA

(Hausman, 1993) および生長抑制との併用 (Pan and Gui, 1997) の場合を含め、共通して内生IAAのレベルアップが報告されている。従ってここでみられる内生IAAのレベルアップは、各オーキシンの取り込みによる直接の増加というよりも、むしろマングローブさし穂の場合と同様に (Basak *et al.*, 1995), オーキシン相互間の相乗作用 (synergism) による増加と考えられる。レベルアップの大きさについては2倍とも (Garcia-Gomez, 1994), 3.5倍とも (Noitan *et al.*, 1992) されており、後続するダウンについては漸減の場合 (Garcia-Gomez, 1994; Noitan *et al.*, 1992) と、急減の場合 (Hausman, 1993) とが知られている。セコイヤの老・幼クローンからのマイクロシュートについて、オーキシン処理時のレベルアップは幼若相からのものが著しい。しかも幼若相からのものでは主としてIAAについて、成熟相からのものではIBAについて、それぞれアップが著しいとされ、生長相移行の立場からも注目される (Blazkova *et al.*, 1997)。前述のようにオーキシン処理により内生オーキシンレベルは上昇し、次いで下降するが、この下降と並行するようにインドール・アセチルアスパラギン酸 (IAA_{asp}) のレベルアップが進む場合が多い。つまり内生IAAとIAA_{asp}は一方が減れば他方が増えるといった、相互補完の関係におかれることが多い (Rugini *et al.*, 1993; Nordström *et al.*, 1991; Hansman, 1993)。IAA_{asp}というのは、オーキシンとアスパラギン酸との複合型のことであり、オーキシン複合型としてはこの他、グルコースとのエステルなども知られている (Blazkova *et al.*, 1997)。多くの植物では、遊離オーキシンよりむしろ複合型の方がより多く見出されるが、木本植物では複合型の含有量が少ないのが一般的だとされている (Sundberg and Uggla, 1998)。IAA_{asp}の生理的役割については、加水分解を受けて容易にIAAを解放するので内生オーキシンの貯蔵型と考えられたり、あるいは供給源として役立つとされたり (Garcia-Gomez *et al.*, 1994; Blazkova *et al.*, 1997)、ときには系内の過剰オーキシンを消去し、内生オーキシンレベルの恒常値への回復に役立つとされている (Hausman, 1993; Nordström and Eliasson, 1991)。

ペルオキシダーゼ活性

植物に広く見出され、過酸化水素を水素受容体として種々の物質の酸化を触媒する酵素を、広くペルオキシダーゼと呼んでいる。このうちさし穂の発根の立場から注目されるのは、オーキシンおよびオーキシン関連化合物を酸化分解するペルオキシダーゼである。ペルオキシダーゼ活性が増大すれば、オーキシンの酸化分解が進むので内生オーキシンレベルが下がり、逆にペルオキシダーゼ活性が低下すれば酸化分解が抑えられるので、内生オーキシンの集積が進むと予想される。そうであればペルオキシダーゼ活性の大小がさし穂の発根にかかわることが予想され、このような立場からペルオキシダーゼ活性を取り上げた報告がいくつかみられる。

発根部位にあたるさし穂の基部について測定されるペルオキシダーゼ活性は、親木からさし穂を切断採取した直後急減し、次いで活性の回復増大が後続するとされている (Blakesley *et al.*, 1991b)。また採穂時にみられるこのようなペルオキシダーゼ活性の小さな変動が、オーキシン処理により大きく増幅され、急激な変動として発現することがいくつか報告されており (Mato *et al.*, 1988; Ranzit *et al.*, 1988; Hansman, 1993; Hansman *et al.*, 1995; Rout *et al.*, 2000)。ポブラシュートについての測定結果を図2にみてみよう (Hausman *et al.*, 1995)。7時間のオーキシン処理後、オーキシンを含まない培地に移し

ている。オーキシン処理なしでは発根はみられない。オーキシン処理で発根が進み、ペルオキシダーゼ活性は急増し次いで急減し、オーキシン不在培地に移すとほぼ横ばいになっている。インドの雨の少ない地域で早生樹とされている *Simarouba glauca* のマイクロシュートについて、オーキシン処理後発根に向けて進む発生段階とペルオキシダーゼ活性は良く符号しているの、ペルオキシダーゼ活性は発根の良いマーカーのようだとされている (Rout *et al.*, 1999)。しかし、さし穂のオーキシン処理によるペルオキシダーゼ活性の変動の増幅が、そのまま発根促進につながるかどうかについては、まだ最終的な結論が得られていない (Goncalves *et al.*, 1998)。

同化産物の動員

インゲンの有葉胚軸さし穂の発根についての以前の報告をみると、葉に投与された放射活性炭酸ガスに由来する同化産物が、オーキシン処理したさし穂の基部に無処理のものより多く動員されて集積しているとされている (Altman and Wareing, 1975)。この場合基部に投与されたオーキシンが、葉の同化産物を基部に向けて移動させ、そこに集積させたと解釈されている。このような同化産物の植物ホルモンによる移動集積はしばしば HDT (hormone directed transport) と呼ばれる。オーキシンがシンク強度を増大させ、そのために同化産物の移動集積が増大したとするよりも、むしろ同化産物の師部輸送を促進し、そのための移動集積の増大だとされている (Patrik and Steains, 1987)。この場合明らかに同化産物の集積増大は、発根促進の一要因とみなしてよいようである。

特定遺伝子の発現

ロブロリパインの発芽後20~30日齢の若い胚軸さし穂は、ホルモン処理すると発根するが、50日齢以降のものは処理しても発根しない。オーキシン処理後1~2日の若いものからのmRNAが調べられ、これに対応する遺伝子は、以前広葉樹の活発な成長部位について報告されている遺伝子群の α -expansins であることが示され、これが不定根形成に向けて開始される細胞分裂に関係するらしいとされている (Hutchinson *et al.*, 1999)。また前述のように、ニレの抵抗性クローンの空中取り木による増殖の際の発根率は、ホルモン混合液処理と土壌細菌接種との併用により大きく向上する。このとき土壌細菌から親植物に組み込まれたT-DNA中の *rol B* 遺伝子の発現が、オーキシン処理により強く推し進められるための発根率の向上だとされている。この *rol B* 遺伝子はオーキシン代謝に与かると考えら

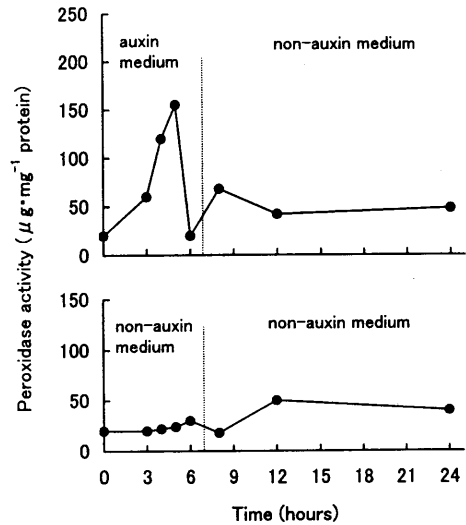


Fig. 2 Peroxidase activity in the basal part of poplar shoots kept for 6 or 7 h on auxin and non-auxin medium, and then transferred to non-auxin medium.

図2 発根処理時のポプラマイクロシュート基部ペルオキシターゼ活性の推移 (Hausman *et al.*, 1995)

れている (Rinallo *et al.*, 1999).

このようなオーキシン処理についての、初期対応遺伝子の発現機構については、次のように説明されている (Abel and Pheologis, 1996). オーキシンは先ずレセプターに受けとめられ細胞内に取り込まれる。取り込まれたオーキシン・レセプター複合体は、トランス作用因子として対応遺伝子のプロモーター部のシス因子と結合し、結合することで初期対応遺伝子の転写反応が一段と促進されるという説明である。なおこのとき対応遺伝子産物としてのタンパク質は、この転写反応促進をむしろ阻害するとされている (Guilfoyle *et al.*, 1998). しかし現在同定されている初期対応遺伝子の多くについて、それらの遺伝子産物である酵素タンパク質の生理的機能については、類推にとどまるものが多く大部分不明のままである (Abel and Theologis, 1996).

5. オーキシンによる発根促進の仕組み

不定根形成のプロセスを根の原基形成以前と、それ以後の原基発達に分けた場合、前述のようにオーキシン処理はもっぱら前者の原基形成以前のプロセスを促進するとどまり、後者の原基形成以後のプロセスはむしろ阻害するか、もしくは無関係のままとされている (Wightman *et al.*, 1980; Ross *et al.*, 1983). このように不定根形成を原基形成の前・後に2分するもののほか、発生上の指標を追って次のように4分割するものもみられる (Blakesley *et al.*, 1991). 1) 脱分化, 始原細胞新生, 2) 放射方向対称構造構成, 3) 原基形成, 4) 原基発達, 発根. この場合オーキシン処理が促進するとされる, 原基形成以前のプロセスとはどの段階を指すであろうか. 発根に向けてオーキシンが働きかける期間, いわゆる誘導期は始原細胞新生前までの期間とされたり (Hausman, 1993; , 1997), あるいは少し進んで, 初期の細胞分裂を含む放射方向対称構造の構成前までの期間とされたりしている (Diaz-Sala *et al.*, 1996; Lund *et al.*, 1996). いずれにしても始原細胞における細胞分裂開始前後までの期間を, 誘導期とみなしてよいようである. オーキシン処理は不定根形成を促進し, このとき内生オーキシンの急増がみられ, 次いで減少が進むとされている. それでは原基形成から原基発達を経て進む発根プロセスと内生オーキシンの増加と, それに続く減少とはどのような対応関係にあるのだろうか. 内生オーキシンの急増期が原基形成の誘導期にあたり, 後続する内生オーキシンの減少期が, 原基形成開始から発達におよぶ始動期にあたるというのが一般的である (Noiton *et al.*, 1992; Hansman, 1993; Rout *et al.*, 1996). つまり原基形成の誘導期がオーキシンレベルの上昇の時期に相当し, 誘導期の終点が内生オーキシンのピーク時期であり, 同時に原基形成の開始点にあたるという理解である (Hausman, 1993).

内生オーキシンレベルの規制要因

さし穂の不定根形成は, 基部の内生オーキシンレベルの上昇や下降に強く左右されると考えられる. そこで基部の内生オーキシンレベルを規制する要因について考えてみよう. 不定根形成が進むさし穂の基部では, 茎頂から移動してくる内生オーキシンの集積が予想される. さし穂の基部の切断面では採穂のあと, 癒傷組織としてのカルスを生じ, あるいは保護物質の合成や沈着が進むので (今関, 1991), 茎頂から極性移動してくるオーキシンの流れはせき止められて貯留することになり, オーキシンレベルは押し上げられると

予想される。このようなさし穂の基部でのオーキシンの貯留集積は、オーキシン処理の有無とは関係なく進み、さし穂の不定根形成にとって大切な前提条件の一つになっている。オーキシン処理はこのような前提条件を一段と強化し、集積量の増大をもたらすものと考えられる。

共存し投与される別の植物ホルモンの存在が、内生オーキシンレベルをしばしば規制することが知られている（高橋・増田，1994c）。図3から明らかなようにジベレリンあるいはサイトカイニンが共存し、あるいは投与されると内生オーキシンレベルは上昇し、対照的にエチレンあるいはアブジジン酸では、レベルは下降すると予想される。別の植物ホルモンに限らず、オーキシン処理そのものが、内生オーキシンのレベルアップを相互間の相乗作用によりもたらすことは前述のとおりである。

すでに述べたように、複合型オーキシンは比較的容易に遊離型オーキシンに移行し、この移行は可逆的とされるので、遊離オーキシンレベルの変動に複合型オーキシンの存在が、深く関わっていると考えられる。ポプラのマイクロシュートについて、オーキシンレベルとIAA_{sp}の動きとの関係を示した図4をみてみよう（Hausman, 1993）。IAA_{sp}レベルの上昇がIAAレベルの下降に、IAA_{sp}の下降がIAAの上昇に対応しており、両者は経時的によく連動している。また投与されたオーキシンは、生体内酸化反応を受け代謝分解されていくが、この反応は不可逆的とされ一方的に進行する。オーキシンの酸化反応には脱炭酸ガスを伴い、ペルオキシダーゼが関与するものと、脱炭酸がないまま始まるペルオキシダーゼとは別の酸化酵素が関与するものがあるとされている（高橋・増田，1994b）。このような酸化反応が活発であればあるほど、オーキシンレベルの下降が激しくなることは言うまでもない。以上、いくつかの要因がからみ合って内生オーキシンレベルが決められ、オーキシン処理もまたその要因の一つとして関与するものと考えられる。

内生オーキシンレベルの変動と発根

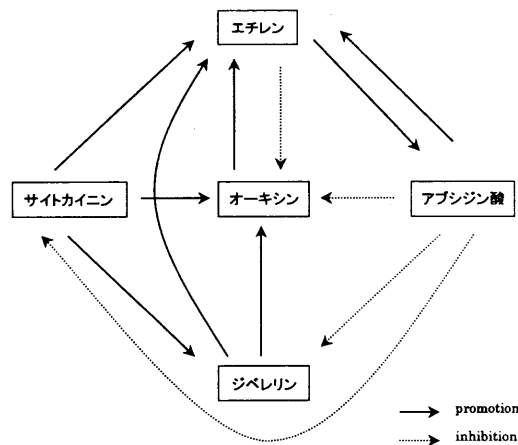


Fig. 3 Effect of plant hormon interactions on endogenous levels of individual hormones

図3 植物ホルモン相互の内生レベルへの影響（高橋・増田，1994c）

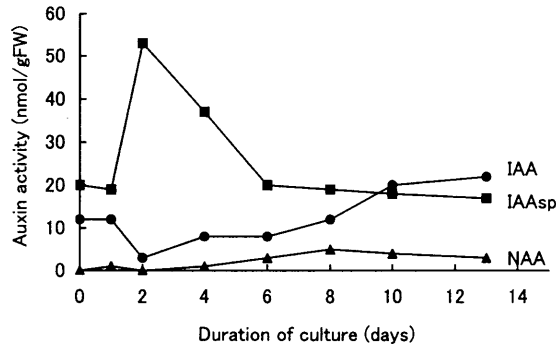


Fig. 4 Changes in the auxin content of poplar shoots grown on a rooting medium during the first 13 days.

図4 IAAとIAAspの発根処理時の動き (Hausman, 1993)

不定根形成の誘導期がオーキシンレベルの上昇の時期に、原基形成開始から原基発達におよぶ期間(始動期)がレベルの降下の時期にそれぞれあたると考えられる。一方オーキシンは原基形成を促進し、しかも原基発達を抑制すると考えられるので、誘導期には原基発生促進が、始動期には原基発達抑制の軽減消去が、それぞれ進むとしてオーキシン処理による発根促進の仕組みが説明されることになる。以下この説明を支持する事項をいくつか示す。

先ず後続する内生オーキシンレベルの低下が、そのまま原基形成開始の契機となるとする報告がいくつかみられる。ポプラのマイクロシュートについて、発根とATPaseとの関係がいくつかみられる。ベルオキシダーゼ活性の増大が内生オーキシンを低下させるとされ (Bellamine and Gaspar, 1998), またアボガド (Garcia-Gomez *et al.*, 1994) およびポプラ (Hausman, 1993), それぞれのマイクロシュートについて、発根時の内生オーキシンが検討された際、主としてIAAspの増大が内生オーキシンレベルを低下させるとされている。いずれの場合も内生オーキシンの低下が原基形成と並行して進むと考えられている (Feito *et al.*, 1996)。またさし穂の発根帯でオーキシン処理後ある時間において始めてベルオキシダーゼ活性がみられるようになり、その大きさと発根とは正比例の関係にあるとされ (Pan and Tian, 1999), この場合にも内生オーキシンレベルの低下と、発根の契機との関係が示唆されているようである。

発根促進のためのホルモン処理は一段処理と考えるよりも、むしろ二段処理つまり原基発生をもたらす誘導処理と、それに続く原基発達を促す始動処理とするのが適当なように思える。誘導処理の中心はオーキシン処理であり、内生オーキシンのレベルアップを内容とし、始動処理はパルス処理とか (Diaz-Sala *et al.*, 1996), オーキシン処理後のオーキシンフリー処理とかが (Harbage and Stimart, 1996b) それであり、内生オーキシンのレベルダウンを内容とする。クリのマイクロシュートについてオーキシンによる誘導処理よりも、むしろ培地条件を含め始動処理の方が重要であるとされ (Goncalves *et al.*, 1998), 始動期の低オーキシンレベルの重要性が指摘されている。

内生オーキシンは誘導期には原基発生を促進し、始動期には原基発達を抑制するとされている。あるときは促進し次は抑制するといった、生理作用についてみられる一見矛盾す

るような対応の違いは、どのように説明されるのであろうか。オーキシンに対する組織の感度が発生段階によって異なるためと報告されている。つまりオーキシンに対する組織感度が誘導期にはプラスに、始動期にはマイナスに働くとして説明されている。モンテリバインの胚軸さし穂について、ジベレリンが原基形成以前には原基発生を抑制し、原基形成中にはその進行を促進し、原基形成以後は再びその発達を抑制するとされている (Ross *et al.*, 1983)。また最近やはり不定根形成の際、オーキシンに対する感度の変化が3段階に分けて進むとして引用されたものを見ることが出来る (Taylor and van Staden, 1997)。このような組織感度の推移は当然対応する生理作用の変化をもたらす、発生促進から発生抑制への移行を無理なく説明しているようである。

6. む す び

樹木さし穂のホルモン処理はさし木苗育成の際、かなり以前から広く実施されているが、発根の仕組みについては現在でも不明な点が多いままである。今後一段と解明が進むと共に、それがさし木技術の実際面に反映されることが望ましい。実際面では発根の誘導処理もさることながら、むしろ始動処理について一段の工夫と考察とが加えられることを期待したい。土壌細菌接種による発根改善、あるいは発根容易な形質転換の作出が、それぞれリンゴ (Lambert *et al.*, 1998)、およびセコイヤ (Mihaljevic *et al.*, 1999) のマイクロさし穂について報告されている。ホルモン処理と相まって、発根の難しい第三のグループに区分けされる樹種や品種の数を減らす方向の研究展開もまた必要のように思われる。

引用文献

- Abel, S. and Theologis, A. (1996):** Early genes and auxin action. *Plant Physiol.* **111**: 7-9
- Altman, A. and Wareing, P. (1975):** The effect of IAA on sugar accumulation and basipetal transport of ¹⁴C-labelled assimilates in relation to root formation in *Phaseolus vulgaris* cuttings. *Physiol. Plant* **33**: 32-38
- Anderset, G., Moncousin, C., O'Rourke, J. and Morre, D. (1996):** Stimulation of root formation by thiol compounds. *HortSci.* **31**: 240-242
- Arnold, N., Binnus, H., Cloutier, D., Barthakur, N. and Pellerin, R. (1995):** Auxins, salts concentrations and their interactions during *in vitro* rooting of winter-hardy and hybrid tea roses. *HortSci.* **30**: 1436-1440
- Atzman, N., Wiesman, Z. and van Staden, J. (1996):** The effect of zeatin and isopentenyl adenine on IAA transport from the shoot to the root of *Pinus pinea* seedlings. *Plant Growth Reg.* **19**: 13-18
- Ballester, A., San-Josse, M., Vidal, M., Ferrandez-Lorenzo, J. and Vieitez, A. (1999):** Anatomical and biochemical events during *in vitro* rooting of microcuttings from juvenile and mature phases of chestnut. *Ann. Bot.* **83**: 619-629
- Barnes, A. and Kelley, W. (1992):** Effects of a triazole, uniconazole, on shoot elongation and root growth in loblolly pine. *Can J. For. Res.* **22**: 1-4
- Basak, U., Das, A. and Das, P. (1995):** Metabolic changes during rooting in stem cuttings of five mangrove species. *Plant Growth Reg.* **17**: 141-148
- Bellamine, J. and Gasper, T. (1998):** The relationship between rooting of poplar shoots and ATPase activity of their crude microsomal vesicles. *Plant Growth Reg.* **24**: 43-48

- Bertell, G. and Eliasson, L. (1992):** Cytokinin effect on root growth and possible interactions with ethylene and indole-3-acetic acid. *Physiol. Plant* **84**: 255–261
- Blake, T. and Atkinson, S. (1986):** Physiological role of abscisic acid on the rooting of poplar and aspen stump sprouts. *Physiol. Plant* **67**: 638–643
- Blakesley, D., Weston, G. and Elliott, M. (1991a):** Endogenous levels of IAA and ABA during the rooting of *Cotinus coggygria* cuttings taken at different times of the year. *Plant Growth Reg.* **10**: 1–2
- Blakesley, D., Weston, G. and Hall, J. (1991b):** The role of endogenous auxin in root initiation. Part I: Evidence from studies on auxin application and analysis of endogenous levels. *Plant Growth Reg.* **10**: 341–353
- Blazkova, A., Sotta, B., Tranvan, M., Maldiney, R., Bornat, M., Einkorn, J., Kerhoas, L. and Miginae, E. (1997):** Auxin metabolism and rooting in young and mature clones of *Sequisia sempervivens*. *Physiol. Plant* **99**: 73–80
- Bollmark, M. and Eliasson, L. (1990):** Ethylene accelerates the breakdown of cytokinins and thereby stimulates rooting in Norway spruce hypocotyls cuttings. *Physiol. Plant* **80**: 534–540
- Brutti, C., Apostolo, N., Penerotti, S., Loreute, B. and Kryurkiewicz, N. (2000):** Micropropagation of *Cynara scolymus* L. employing cyclodextrins to promote rhizogenesis. *Scient. Hort.* **83**: 1–10
- Cambridge, A. and Morris, D. (1996):** Transfer of exogenous auxin from the phloem to the polar auxin transport pathway in pea (*Pisum sativum* L.). *Planta* **199**: 583–588
- Capuana, M. and Giannini, R. (1997):** Micropropagation of young and adult plants of cypress (*Cupressus sempervirens* L.). *J. Hort. Sci.* **72**: 453–460
- Diaz-Sala, L., Hutchison, K., Goldfarb, B. and Greenwood, M. (1996):** Maturation-related loss in rooting competence by loblolly pine stem cuttings: the role of auxin transport, metabolism and tissue sensitivity. *Physiol. Plant* **97**: 481–490
- Eliasson, L. (1981):** Factors affecting the inhibitory effect of IAA on root formation in pea cuttings. *Physiol. Plant* **51**: 23–26
- Epstein, E. and Ludwig-Müller, J. (1993):** Indole-3-butyric acid in plants: occurrence, synthesis, metabolism and transport. *Physiol. Plant* **88**: 382–389
- Feito, I., Gea, M., Fernandez, B. and Robriquez, R. (1996):** Endogenous plant growth regulators and rooting capacity of different walnut tissues. *Plant Growth Reg.* **19**: 101–108
- Fromm, J. (1997):** Hormonal physiology of wood growth in willow: effects of spermine and ABA. *Wood Sci. Technol.* **31**: 119–130
- Garcia-Gomez, M., Sanchez-Romero, C., Barcelo-Munoz, A., Heredia, A. and Pliego-Alfax, F. (1994):** Levels of endogenous IAA and IAAsp during adventitious rooting in avocado microcuttings. *J. Exp. Bot.* **45**: 865–870
- Golaz, F. and Pilet, P. (1987):** Root primordia and endogenous auxin in maize roots cultured *in vitro*. *Physiol. Plant* **70**: 389–393
- Goldfarb, B., Hackett, W., Furnicer, G., Mohm, C. and Plietzsch, A. (1998):** Adventitious root initiation in hypocotyls and epicotyl cuttings of eastern white pine (*Pinus strobes*) seedlings. *Physiol. Plant* **102**: 513–522
- Goncalves, J., Diogo, G. and Amancio, S. (1998):** *In vitro* propagation of chestnut (*Castanea sativa* × *C. crenata*): effects of rooting treatments on plant survival, peroxidase activity and anatomical changes during adventitious root formation. *Scient. Hort.* **72**: 265–275
- Goupid, P., Loncle, D., Drnant, N., Belletre, A. and Rombour, S. (1998):** Influence of ABA on nitrate reductase activity and carbohydrate metabolism in chicory roots (*Cicholium inctybus* L.). *J. Exp. Bot.* **49**: 1855–1862
- Grömoss, R. and von Arnold, S. (1988):** Initiation of roots on hypocotyls cuttings of *Pinus sylvestris*

- with emphasis on direct rooting, root elongation and auxin uptake. *Can. J. For. Res.* **18**: 1457–1462
- Haissig, B. (1990)**: ATP concentrations in *Pinus banksiana* cuttings during adventitious rooting. *J. Plant Physiol.* **136**: 499–502
- Harbage, J. and Stimart, D. (1996a)**: Ethylene does not promote adventitious root initiation on apple microcuttings. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* **121**: 880–885
- Harbage, J. and Stimart, D. (1996b)**: Effect of pH and IBA on rooting of apple microcuttings. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* **121**: 1049–1053
- Harbage, J., Stimart, D. and auer, C. (1998)**: PH affects 1 H-indole-3-butyrlic acid uptake but not metabolism during the initiation phase of adventitious root induction in apple microcuttings. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* **123**: 6–10
- Hausman, J. (1993)**: Changes in peroxidase activity, auxin level and ethylene production during root formation by poplar shoots raised *in vitro*. *Plant growth Reg.* **13**: 263–268
- Hausman, J., Kevers, C. and Gaspar, T. (1995)**: Putrescine control of peroxidase activity in the inductive phase of rooting in poplar shoots *in vitro* and the adversary effect of spermidine. *J. Plant Physiol.* **146**: 681–685
- Hutchison, K., Singer, P., McInnis, S., Diaz-Sala, C. and Greenwood, M. (1999)**: Expansins are conserved in conifers and expressed in hypocotyls in response to exogenous auxin. *Plant Physiol.* **120**: 827–831
- 今関英雄 (1991) : 傷害, 新免輝雄編, 環境応答, 現代植物生理学4, 朝倉書店, 東京, p. 158
- 近藤民雄 (1998) : 親木の若返りさし穂の発根(1) & (2). *農業および園芸* **73**: 355–360 & 475–478
- Lambert, C., Blanco, J., Garella, G., Le Page-Degivny, M. (1998)**: Alteration of hormonal levels and hormone sensitivity by Ri T-DNA transformation of apple cuttings. *J. Plant Physiol.* **153**: 677–683
- Lund, S., Smith, A. and Hackett, W. (1996)**: Cuttings of a tobacco mutant, *rac*, undergo cell division but do not initiate adventitious roots in response to exogenous auxin. *Physiol. Plant* **97**: 372–380
- Marks, T. (1996)**: The role of the shoot apex in controlling rhizogenesis *in vitro*. *Plant Growth Reg.* **20**: 57–60
- Mata, M., Rao, M. and Ferro, E. (1988)**: Changes in level of peroxidases and phenolics during root formation in *Vitis* cultured *in vitro*. *Physiol. Plant* **72**: 84–88
- Mensuali-Dodi, A., Panizza, M. and Tognoni, F. (1995)**: Endogenous ethylene requirement for adventitious root induction and growth in tomato cotyledons and lavandin microcuttings *in vitro*. *Plant Growth Reg.* **17**: 205–212
- Michalezuk, L. and Duart, P. (1999)**: IAA metabolism in hormone-autotrophic embryogenic callus of initial cherry rootstock (*Prunus incisa* × *serrula* 'GM 9') and in hormone-dependent, nonembryogenic calli of *Prunus incisa* × *serrula* and *P. domestica*. *Physiol. Plant* **107**: 426–432
- 右田一雄 (1997) : スギさし穂の切口にみられるカルス. *林木の育種* **185**: 67–69
- Mihaljevic, S., Katavic, V. and Jalaska, S. (1999)**: Root formation in micropropagated shoots of *Sequoia sempervirens* using *Agrobacterium*. *Plant Sci.* **141**: 73–80
- 宮島 寛 (1989) : 九州のスギとヒノキ. 九大出版会, 福岡, p. 220
- Moreira-Dias, J., Molina, R., Borden, Y., Guardiola, J. and Garcin-Luis, A. (2000)**: Direct and indirect shoot organogenic pathways in apicotyl cuttings of troyer cuttings differ in hormone requirements and in their responses to light. *Ann. Bot.* **85**: 103–110
- 中谷 誠 (1997) : 植物の根に関する諸問題 (49), サツマイモの発育と生産性 (1). *農業および園芸* **72**: 921–927
- Nandi, S., Palni, L. and Rikhari, H. (1996)**: Chemical induction of adventitious root formation in *Taxus baccata* cuttings *Plant Growth Reg.* **19**: 117–122
- Noiton, D., Vins, J. and Mullins, M. (1992)**: Endogenous IAA and ABA in apple microcuttings in relation to adventitious root formation. *Plant Growth Reg.* **11**: 63–67
- Nordström, A. and Eliasson, L. (1991)**: Levels of endogenous IAA and IAAsp during adventitious root

- formation in pea cuttings. *Physiol. Plant* **82**: 599–605
- Nordström, A., Jacobs, F. and Eliasson, L. (1991)**: Effect of exogenous IAA and IBA on internal levels of the respective auxins and their conjugation with aspartic acid during adventitious root formation in pea cuttings. *Plant Physiol.* **96**: 856–861
- Normanly, J., Slovin, J. and Cohen, J. (1995)**: Rethinking auxin biosynthesis and metabolism. *Plant Physiol.* **107**: 323–329
- Ogita, S., Kudo, T. and Fushitani, M. (1997)**: Effect of L-phenylalanine on rooting of shoots from axillary buds of adult *Larix leptolepis*. *J. For. Res.* **2**: 217–220
- Pan, P. and Gui, H. (1997)**: Physiological basis of the synergistic effects of IBA and triadimefon on rooting of mung bean hypocotyls. *Plant Growth Reg.* **22**: 7–11
- Pan, P. and Tian, X. (1999)**: comparative effect of IBA, BSAA and 5, 6 -Cl₂-IAA-Me on the rooting of hypocotyls in mung bean. *Plant Growth Reg.* **27**: 91–98
- Patrik, J. and Steains, K. (1987)**: Auxin-promoted transport of metabolites in stems of *Phaseolus vulgaris* L.: auxin does-response curves and effects of inhibitors of polar auxin transport. *J. Exp. Bot.* **38**: 203–210
- Pilet, P. and Sangy, M. (1987)**: Effect on root growth of endogenous and applied IAA and ABA. *Plant Physiol.* **83**: 33–38
- Ranzit, M., Kester, D. and Polito, V. (1988)**: Micropropagation of cherry rootstocks. III. Correlation between anatomical and physiological parameters and root initiation. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* **113**: 155–159
- Rinallo, C., Mittempergher, L., Frugies, G. and Maniotti, D. (1999)**: Clonal propagation in the genus *Ulmus*: improvement of rooting ability by *Agrobacterium rhizogenes* T-DNA genes. *J. Hort. Sci. Biotechnol.* **74**: 502–506
- Ross, S., Pharis, R. and Binder, W. (1983)**: *Plant Growth Regulating Chemicals* (ed. By L. Nickel) vol. II, CRC Press, Boca Ratan, Finland, pp. 35–78
- Rout, G., Samantaray, S., Rout, M. and Das, P. (1996)**: Metabolic changes during rooting in stem cuttings of *Casuarina equisetifolia* L.: effects of auxin, the sex and the type of cutting on rooting. *Plant Growth reg.* **19**: 35–43
- Rout, G., Samantaray, S. and Das, P. (1999)**: Root induction in microshoots of *Simarouba glauca* L. *in vitro*: peroxidase as a marker for rooting. *Silvae Genetica* **48**: 14
- Rout, G., Samantaray, S. and Das, P. (2000)**: *In vitro* rooting of *Psoralea corylifolia* L.: peroxidase activity as a marker. *Plant Growth Reg.* **30**: 215–217
- Rugini, E., Jacoboni, A. and Luppino, M. (1993)**: Role of basal shoot darkening and exogenous putrescine treatments on *in vitro* rooting and an endogenous polyamine changes in difficult-to root woody species. *Scient. Hort.* **53**: 63–72
- Sagee, O., Shakad, A. and Hasdai, D. (1990)**: Rooting of cuttings from gibberellin-and benzyl adenine-treated citrus trees. *J. Hort. Sci.* **65**: 473–478
- Schwartz, J., Glacke, P. and sedgley, M. (1999)**: Adventitious root formation in *Acacia baileyana* F. Muell. *J. Hort. Sci. Biotechnol.* **74**: 561–565
- Seresk, M., Prabacki, A., Sisler, E. and Andersen, A. (1998)**: Inhibitors of ethylene actions affect final quality and rooting of cuttings before and after storage. *HortSci.* **33**: 153–155
- Sundberg, B. and Uggla, C. (1998)**: Origin and dynamics of indole-acetic acid under polar transport in *Pinus sylvestris*. *Physiol. Plant* **104**: 22–29
- Tadeo, F., Cometz-Codenas, A., Ben-Cheikh, W., Prino-Mike, E. and Talom, M. (1997)**: Gibberellin-ethylene interaction controls radial expansion in citrus roots. *Planta* **202**: 370–378
- 高橋信孝・増田芳雄 (1994) : 植物ホルモハンドブック (上), 培風館, 東京, p. 93–97 (a), p. 342–345 (b), (下) p. 244–252 (c)

- 谷口 享・近藤禎二 (1997) : スギ当年生枝の培養によるクローン増殖. 日林誌 **79**: 246-248
- Taylor, J. and van Staden, J. (1997)**: Variation in the level and type of cytokinin with the stage of root development in *Impatiens wallesana* stem cuttings. *Plant Growth Reg.* **22**: 175-180
- Tsukada, H., Yamada, N., Taniguchi, E. and Kuwano, E. (2000)**: Synthesis and lateral root-inducing activity of novel 2-piperidone with root-inducing activity of novel 2-piperidone with a 1,4-benzodioxan ring. *J. Fac. Agr., Kyushu Univ.* **44**: 317-328
- Van der Krieken, W., Breteler, H. and Vissen, M. (1992)**: The effect of the conversion of IBA into IAA on root formation on microcuttings of *Malus*. *Plant Cell Physiol.* **33**: 709-713
- Wiesman, Z. and Lavee, S. (1995)**: Enhancement of IBA stimulatory effect on rooting of olive cultivar stem cuttings. *Scient. Hort.* **62**: 189-198
- Wiesman, Z., Riov, J. and Epstein, E. (1988)**: Comparison of movement and metabolism of IAA and IBA in mung bean cuttings. *Physiol. Plant* **74**: 556-560
- Wiesman, Z., Riov, J. and Epstein, E. (1989)**: Paclobutrazol and urea-phosphate increase rooting and survival of peach "Marasilha" soft wood cuttings. *HortSci.* **24**: 908-909
- Wightman, F., Schneider, E. and Thiman, K. (1980)**: Hormonal factors controlling the initiation and development of lateral roots. II. Effects of exogenous growth factors on lateral root formation in pea roots. *Physiol. Plant* **49**: 304-314

(2001年11月16日受付；2002年1月25日受理)

Summary

Cuttings and saplings are utilized for the breeding of excellent quality tree. The root formation ratio is the most important factor on the cloning treatment. Adventitious roots formation is promoted by the controlling capacity of auxin. The hormone treatment of the cuttings results in the effective mechanism of auxin.

We reviewed the treatment of auxin and the other hormones, and then discussed to the physiological and biochemical reaction for the rooting formation position on the cuttings. The auxin treatment of cuttings consists of the two phases of introduction and initiation phenomenons. Endogenous auxin role is concluded to act promotion and control for the root formation.

Key words: abscisic acid, adventitious root, auxin, callus, cytokinin, ethylene, gibberellin, hormone, peroxidase, root formation, soil bacteria inoculation, transformant