

# Vai trò của các chất điều hòa tăng trưởng thực vật trong sự tạo cơ quan hoa *in vitro* ở cây Hồng Nhung (*Rosa hybrida* L.)

Trần Minh Hồng Linh, Trịnh Cẩm Tú, Bùi Trang Việt, Trần Thanh Hương\*

**Tóm tắt**—Trong bài này, các biến đổi hình thái và sinh lý trong quá trình phát triển hoa của cây Hồng Nhung trồng trong vườn được phân tích. Vai trò của chất điều hòa tăng trưởng thực vật trong sự ra tạo cơ quan hoa *in vitro* từ khúc cắt chồi ở giai đoạn mô phân sinh hoa được khảo sát. Sự phát triển hoa ở cây Hồng Nhung trải qua các giai đoạn lần lượt: mô phân sinh dinh dưỡng, mô phân sinh hoa duy nhất và nụ hoa hoàn chỉnh với cơ quan hoa. Quá trình phát triển từ giai đoạn dinh dưỡng sang tượng hoa đi cùng với sự tăng hoạt tính cytokinin và auxin nội sinh. Mô phân sinh hoa đã có lá đài và lớp cánh hoa đầu tiên tiếp tục tạo đủ các lớp cánh hoa sau 4 tuần và phát triển thành nụ hoa hoàn chỉnh sau 8 tuần nuôi cấy trên môi trường MS có bổ sung GA<sub>3</sub> 0,5 mg/L; NAA 0,1 mg/L và BA 0,3 mg/L với tỷ lệ cao.

**Từ khóa**—chất điều hòa tăng trưởng thực vật, tạo cơ quan hoa, ra hoa *in vitro*, *Rosa hybrida* L.

## 1 MỞ ĐẦU

Hoa hồng là một trong những loài hoa được ưa chuộng trên thế giới vì có màu sắc đẹp, kiểu dáng đa dạng, hương thơm nồng nàn và được sử dụng phổ biến hiện nay dưới dạng hoa cắt cành, hoa trồng chậu [1]. Sự ra hoa *in vitro* cũng đã được nghiên cứu ở một số giống Hoa Hồng. Theo Nguyễn Hồng Vũ và cộng sự (2006), chồi dinh dưỡng ở Hoa Hồng (hybrid tea) cv. “First Prize” cho tỷ lệ chồi hoa cao nhất (45%) sau 12 tuần nuôi cấy trên môi trường MS có bổ sung BA 3,0 mg/L, NAA 0,1 mg/L và đường 30 g/L [2]. Đối với *Rosa hybrida* L., sự bổ sung BA ở nồng độ 2,0 mg/L sau 9 tuần nuôi cấy cho tỷ lệ hình

thành nụ hoa cao (50%) (Kantamaht và cộng sự) [3].

Hoa Hồng Nhung là hoa lưỡng tính gồm bốn vòng cơ quan: đài, cánh hoa, nhị và nhụy. Trong đó, vòng đài hoa gồm 1 lớp với 5 lá đài, vòng cánh hoa gồm nhiều lớp với khoảng 33 cánh hoa, vòng nhị cũng gồm nhiều lớp với 91 nhị và nhụy là bầu noãn với 58 nhụy [4]. Các phân tích về mặt di truyền cho thấy sự hình thành các vòng cơ quan hoa ở cây hoa hồng chịu sự tương tác của các gen tương đồng với các gene thuộc mô hình ABC ở cây *Arabidopsis thaliana* [5, 6]. Cytokinin và auxin là hai tín hiệu hóa học giúp sự biểu hiện gen trong quá trình tượng cơ quan hoa. Trong bài này, quá trình phát triển và hình thành cơ quan hoa *in vitro* ở cây Hồng Nhung được phân tích ở khía cạnh hình thái học và sinh lý học dưới ảnh hưởng của chất điều hòa tăng trưởng thực vật.

## 2 VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

### Vật liệu thí nghiệm

Cây Hồng Nhung 3,5 năm tuổi có chiều cao 1,5 – 2,0 m và cành Hồng Nhung mang hoa được trồng trong vườn tại thành phố Đà Lạt.

### Phương pháp nghiên cứu

#### Quan sát các biến đổi hình thái

Các biến đổi hình thái trong quá trình phát triển hoa từ chồi dinh dưỡng được quan sát trực tiếp bằng mắt thường. Các biến đổi cấu trúc của mô phân sinh ngọn chồi trong quá trình ra hoa được quan sát dưới kính hiển vi soi nổi và kính hiển vi quang học (CKX41, Olympus, Japan) sau sự cắt dọc qua mô phân sinh ngọn chồi và nhuộm với phẩm nhuộm 2 màu (đỏ carmin và xanh iod).

Ngày nhận bản thảo 16-10-2017; Ngày chấp nhận đăng - 21-12-2017; Ngày đăng: 31-12-2018

Trần Minh Hồng Linh, Trịnh Cẩm Tú, Bùi Trang Việt, Trần Thanh Hương\* – Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, ĐHQG-HCM

\*Email: trthuong@hcmus.edu.vn

### *Đo hoạt tính chất điều hòa tăng trưởng thực vật*

Các chất điều hòa tăng trưởng thực vật: auxin (IAA), cytokinin (zeatin), gibberellin ( $GA_3$ ) và abscisic acid (ABA) có trong lá thứ 6 (lá có diện tích lớn nhất và số lá chết nhiều nhất tính từ dưới lên) (theo tài liệu chưa được công bố) được ly trích bằng cách dùng các dung môi thích hợp, phân đoạn bằng phương pháp sắc ký trên bản mỏng silica gel 60 F254 (mã số 1.05554, Merck), ở nhiệt độ 29°C. Vị trí của các chất điều hòa tăng trưởng thực vật được phát hiện nhờ quan sát dưới tia UV có bước sóng 254 nm. Hoạt tính chất điều hòa tăng trưởng thực vật được đo bằng sinh trắc nghiệm: diệp tiêu lúa (*Oryza sativa* L.) cho auxin và abscisic acid, từ diệp dưa leo (*Cucumis sativus* L.) cho cytokinin và trụ hạ diệp cây mằm xà lách (*Lactuca sativa* L.) cho gibberellin [7, 8].

### *Khảo sát ảnh hưởng của các chất điều hòa tăng trưởng thực vật trong sự tạo cơ quan hoa in vitro từ khúc cắt mang mô phân sinh hoa*

Khúc cắt thân mang mô phân sinh hoa ở giai đoạn bắt đầu tượng hoa, khi đã có có tạo đài và lớp cánh hoa đầu tiên, được rửa dưới vòi nước và lặt xà phòng loãng trong 3 phút. Sau đó mẫu tiếp tục được khử trùng bằng dung dịch  $HgCl_2$  0,05 % trong 3 phút, rửa lại bằng nước cất vô trùng 3 lần. Sau sự khử trùng, các mẫu được cắt lại thành những đoạn mang chồi hoa có chiều dài 1,5 cm, và được đặt trên môi trường MS [9] có bổ sung NAA, BA, và  $GA_3$  ở các nồng độ thay đổi. Sự phát triển cơ quan hoa từ mô phân sinh hoa được ghi nhận thông qua tỷ lệ tạo nụ hoa hoàn chỉnh, kích thước nụ hoa và chiều dài cuống hoa, sau 6 tuần nuôi cấy.

Tất cả mẫu cây được đặt nuôi ở điều kiện ánh sáng  $2000 \pm 200$  lux, 12 giờ/ngày, nhiệt độ  $22^\circ C \pm 2^\circ C$  và độ ẩm không khí  $60 \pm 5\%$ . Mỗi nghiệm thức lập lại 3 lần, mỗi lần 10 mẫu cây.

### *Xử lý số liệu và so sánh thống kê*

Các số liệu được xử lý và so sánh thống kê bằng chương trình SPSS phiên bản 20.0 cho Windows. Các số liệu trung bình trong cột của bảng với các mẫu tự khác nhau đính kèm thì khác biệt có ý nghĩa ở mức  $p \leq 0,05$ .

### 3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

#### **Kết quả các biến đổi hình thái và cấu trúc trong quá trình ra hoa cây Hồng Nhung trồng trong vườn**

Sau khi cắt cành, chồi nách ngay bên dưới vị trí cắt sẽ phát triển và tạo thành cành mang hoa. Sự phát triển chồi ngay dưới vị trí cắt được quan sát theo thời gian. Một chu kỳ phát triển hoa từ khi cắt cành đến khi thu hoạch kéo dài từ 2 đến 3 tháng. Sự phát triển hoa từ cành Hồng Nhung được chia thành 4 giai đoạn (Bảng 1 và Hình 1).

(1) Giai đoạn chồi dinh dưỡng: kéo dài khoảng 14 ngày kể từ ngày cắt cành. Ở ngày thứ 14, tất cả các lá có màu đỏ tía và chồi ngọn không được nhìn thấy rõ vì các lá bao phủ xung quanh (Hình 1A). Dưới kính hiển vi quang học, mô phân sinh ngọn chồi có đỉnh nhọn và các phác thể lá xếp chồng lên nhau (Hình 1B).

(2) Giai đoạn bắt đầu tượng hoa: kéo dài từ ngày 14 đến ngày thứ 21 kể từ ngày cắt cành. Ở ngày thứ 21, các lá ở phía ngọn có màu đỏ tía và các lá phía dưới bắt đầu chuyển dần sang màu xanh nhạt. Lúc này chồi ngọn vẫn bị các lá bao phủ xung quanh. Ở giai đoạn này, không thể phân biệt được chồi dinh dưỡng và chồi hoa bằng mắt thường (Hình 1C).

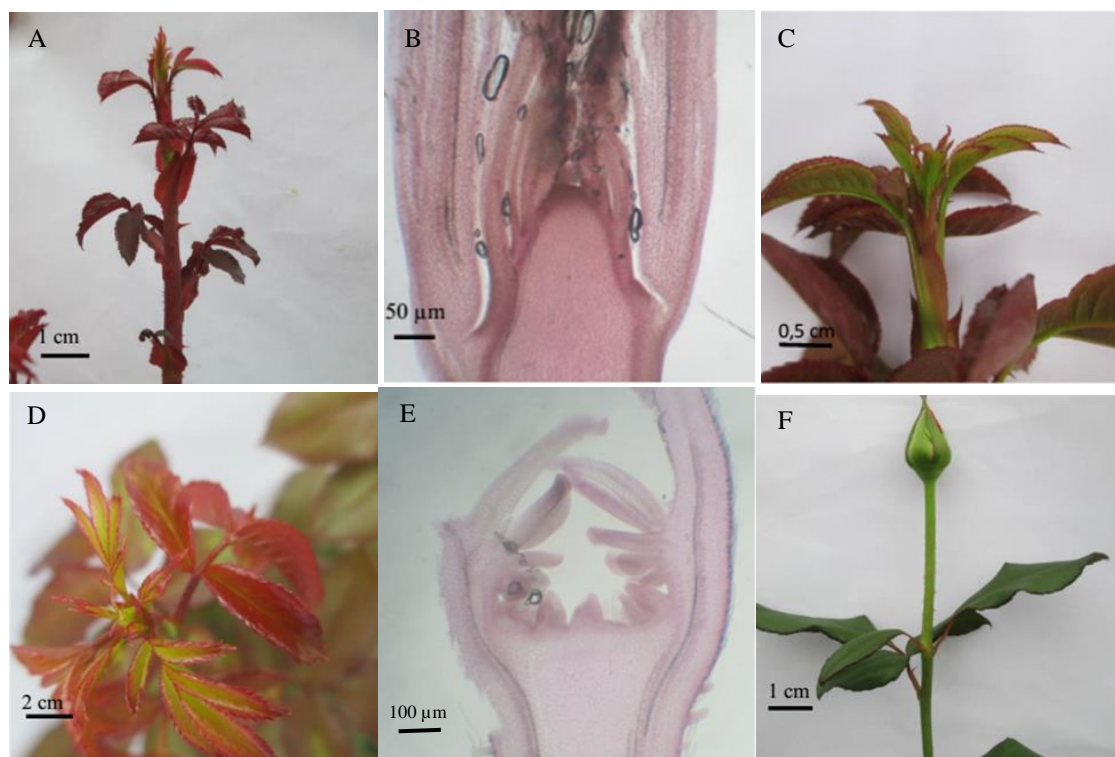
(3) Giai đoạn nụ hoa hoàn chỉnh: kéo dài từ ngày thứ 21 đến 31 kể từ khi cắt cành. Ở ngày thứ 31, cành mang hoa tiếp tục kéo dài. Lúc này, nụ hoa non có thể thấy được bằng mắt thường và được bao bọc bởi lá đài có màu xanh nhạt (Hình 1D). Khi tạo đến bộ nhị đực và nhụy cái, cấu trúc của mô phân sinh không còn nữa, nụ hoa hình thành hoàn chỉnh với đầy đủ các cơ quan hoa (Hình 1E).

(4) Giai đoạn nụ hoa đang tăng trưởng: được tính từ lúc nụ hoa non được nhìn thấy bằng mắt thường (ngày thứ 31) cho đến khi chiều cao của nụ hoa đạt kích thước tối đa và số lá của cành cao nhất (ngày thứ 47) (Hình 1F).

**Bảng 1.** Các giai đoạn phát triển của cành mang hoa cây Hồng Nhung được trồng trong vườn

Giai đoạn phát triển của chồi ngọn	Thời gian phát triển của cành (ngày)	Chiều cao cành hoa (cm)	Số lá của cành hoa
Dinh dưỡng	14,42 ± 0,14 <sup>d</sup>	15,47 ± 0,12 <sup>d</sup>	12
Bắt đầu tượng hoa	21,08 ± 0,11 <sup>c</sup>	27,31 ± 0,09 <sup>c</sup>	14
Nụ hoa hoàn chỉnh	31,07 ± 0,20 <sup>b</sup>	38,21 ± 0,15 <sup>b</sup>	17
Nụ hoa đang tăng trưởng	47,31 ± 0,15 <sup>a</sup>	61,34 ± 0,12 <sup>a</sup>	17

Chú thích: Các số trung bình trong cột với các mẫu tự khác nhau khác biệt có ý nghĩa ở mức  $p \leq 0,05$



**Hình 1.** Các biến đổi hình thái và cấu trúc của mô phân sinh ngọn chồi trong quá trình tạo cơ quan hoa của cây Hồng Nhung được trồng trong vườn. Chú thích: (A). Chồi dinh dưỡng ở ngày thứ 14; (B). Lát cắt dọc qua mô phân sinh ngọn chồi dinh dưỡng ngày thứ 14; (C). Chồi hoa ở ngày thứ 21; (D). Nụ hoa ở ngày thứ 31; (E). Lát cắt dọc qua nụ hoa hoàn chỉnh với đầy đủ các sơ khởi cơ quan hoa ngày thứ 31; (F). Nụ tăng trưởng ở ngày thứ 47

### Hoạt tính chất điều hòa tăng trưởng thực vật của lá theo các giai đoạn phát triển hoa từ cây Hồng Nhung được trồng trong vườn

Hoạt tính cytokinin và auxin tăng liên tục qua các giai đoạn phát triển hoa, từ dinh dưỡng đến tăng trưởng hoa. Hoạt tính GA<sub>3</sub> cao ở giai đoạn

chồi dinh dưỡng và sau đó giảm sút trong quá trình phát triển hoa (Bảng 2). Hoạt tính ABA khá thấp ở giai đoạn dinh dưỡng, tăng rất mạnh ở giai đoạn tượng hoa, giảm mạnh ở giai đoạn tăng trưởng hoa.

**Bảng 2.** Sự thay đổi hoạt tính chất điều hòa tăng trưởng thực vật trong lá thứ 6 của cành Hồng Nhung ở các giai đoạn phát triển khác nhau của chồi

Giai đoạn phát triển của chồi	Hoạt tính chất điều hòa tăng trưởng thực vật (mg/L)			
	Cytokinin	Auxin	Acid abscisic	Gibberellin
Chồi dinh dưỡng	1,03 ± 0,04 <sup>c</sup>	3,05 ± 0,06 <sup>c</sup>	0,21 ± 0,07 <sup>c</sup>	3,34 ± 0,04 <sup>a</sup>
Nụ hoa hoàn chỉnh	1,25 ± 0,02 <sup>b</sup>	3,67 ± 0,03 <sup>b</sup>	0,62 ± 0,11 <sup>a</sup>	2,52 ± 0,05 <sup>b</sup>
Nụ hoa đang tăng trưởng	1,31 ± 0,11 <sup>a</sup>	4,58 ± 0,06 <sup>a</sup>	0,44 ± 0,08 <sup>b</sup>	1,62 ± 0,03 <sup>c</sup>

Chú thích: Các số trung bình trong cột với các mẫu tự khác nhau khác biệt có ý nghĩa ở mức  $p \leq 0,05$

**Ảnh hưởng của các chất điều hòa tăng trưởng thực vật trong sự tạo cơ quan hoa *in vitro***

Khúc cắt thân mang mô phân sinh ở giai đoạn bắt đầu tượng hoa trên môi trường MS có bổ sung GA<sub>3</sub> 0,5; NAA 0,1 và BA 0,3 mg/L có tỷ lệ hình thành nụ hoa, đường kính hoa và chiều dài cuống

hoa cao nhất so với các môi trường còn lại (bảng 3). Tỷ lệ giữa cytokinin và auxin thấp kích thích sự tạo vòng nhị và nhụy xảy ra sớm hơn (tuần thứ 6) so với các tỷ lệ giữa cytokinin và auxin cao (tuần thứ 8) (Bảng 4) (Hình 2, 3).

**Bảng 3.** Tỷ lệ, đường kính nụ hoa và chiều dài cuống hoa sau 6 tuần nuôi cấy trên môi trường MS có bổ sung GA<sub>3</sub> 0,5 mg/L, BA và NAA ở các nồng độ thay đổi

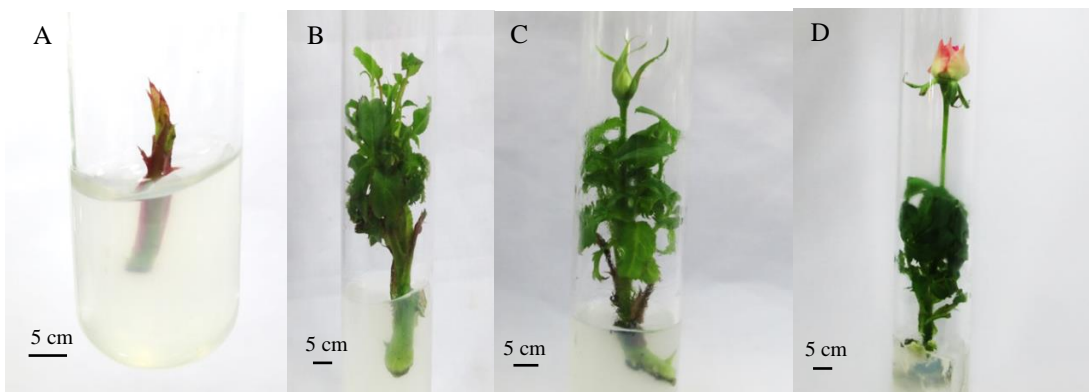
Xử lý		Tỷ lệ tương đối BA/NAA	Tỷ lệ nụ hoa (%)	Đường kính nụ hoa (cm)	Chiều dài cuống hoa (cm)
BA (mg/L)	NAA (mg/L)				
1,5	0,1	15	22,47 ± 0,60 <sup>c</sup>	0,28 ± 0,03 <sup>bc</sup>	1,84 ± 0,08 <sup>b</sup>
1,5	0,25	6	21,50 ± 0,47 <sup>c</sup>	0,20 ± 0,04 <sup>c</sup>	1,85 ± 0,13 <sup>b</sup>
1,5	0,5	3	33,33 ± 0,44 <sup>b</sup>	0,31 ± 0,01 <sup>b</sup>	1,90 ± 0,06 <sup>b</sup>
0,3	0,1	3	41,70 ± 0,46 <sup>a</sup>	0,41 ± 0,01 <sup>a</sup>	2,50 ± 0,07 <sup>a</sup>

Chú thích: Các số trung bình trong cột với các mẫu tự khác nhau khác biệt có ý nghĩa ở mức  $p \leq 0,05$

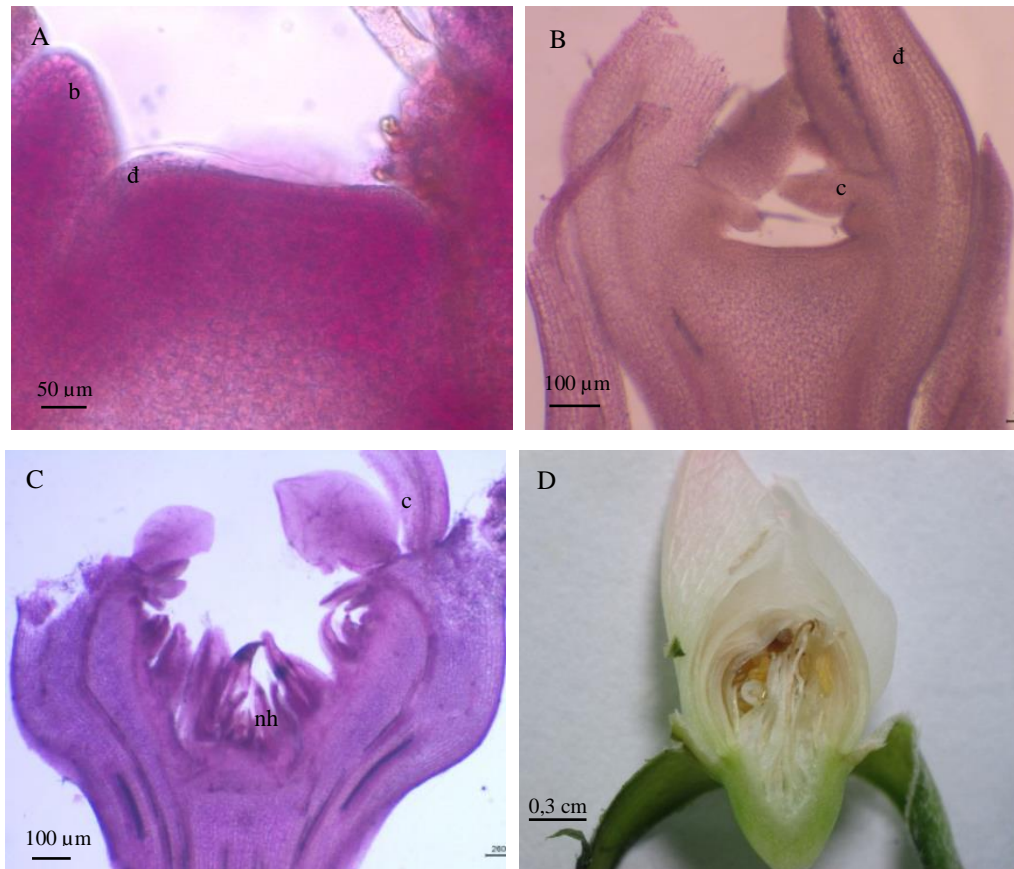
**Bảng 4.** Trạng thái mô phân sinh hoa trên môi trường MS bổ sung GA<sub>3</sub> 0,5 mg/L, BA và NAA ở các nồng độ thay đổi theo thời gian nuôi cấy

Xử lý		Tỷ lệ tương đối BA/NAA	Cơ quan hoa xuất hiện		
BA (mg/L)	NAA (mg/L)		Tuần 4	Tuần 6	Tuần 8
1,5	0,1	15	Đài, cánh	Đài, cánh	Nhị, nhụy
1,5	0,25	6	Đài, cánh	Đài, cánh	Nhị, nhụy
1,5	0,5	3	Đài, cánh	Nhị, nhụy	Nhị, nhụy
0,3	0,1	3	Đài, cánh	Nhị, nhụy	Nhị, nhụy

Chú thích: Các số trung bình trong cột với các mẫu tự khác nhau khác biệt có ý nghĩa ở mức  $p \leq 0,05$



**Hình 2.** Chồi hoa Hồng Nhung phát triển từ khúc cắt thân mang mô phân sinh hoa trên môi trường nuôi cấy MS có bổ sung BA 0,3 mg/L; NAA 0,1 mg/L và GA<sub>3</sub> 0,5 mg/L. Chú thích: (A). Tuần 0. (B). Tuần 4. (C). Tuần 6. (D). Tuần 8.



**Hình 3.** Các biến đổi cấu trúc của mô phân sinh ngọn chồi trong quá trình tạo cơ quan hoa *in vitro* (b: lá bắc, đ: đài, c: cánh, nh: nhụy). *Chú thích:* (A). Mô phân sinh hoa (ngày 0). (B). Mô phân sinh hoa đã tạo vòng lá đài và cánh hoa sau 4 tuần nuôi cấy trên môi trường MS bổ sung BA 0,3 mg/L; NAA 0,1 mg/L và GA<sub>3</sub> 0, 5 mg/L. (C). Nụ hoa đã tạo vòng nhị đực và nhụy cái sau 7 tuần nuôi cấy trên môi trường MS có bổ sung BA 0,3 mg/L; NAA 0,1 mg/L và GA<sub>3</sub> 0, 5 mg/L. (D). Nụ hoa với đầy đủ các cơ quan hoa sau 8 tuần nuôi cấy trên môi trường MS có bổ sung BA 0,3 mg/L; NAA 0,1 mg/L và GA<sub>3</sub> 0, 5 mg/L

Cũng như ở cây *Arabidopsis*, sự tạo các cơ quan ở cây Hồng Nhung được sắp xếp theo thứ tự từ ngoài vào trong: đài, cánh, nhị và nhụy theo mô hình ABC, mô hình tổng quát về sự ra hoa. Theo mô hình này, kiểu gene A kiểm soát sự hình thành lá đài, sự phối hợp giữa kiểu gene A và B kiểm soát sự phân hóa cánh hoa, sự phối hợp giữa kiểu gene B và C kiểm soát sự hình thành nhị, và kiểu gene C quyết định sự hình thành nhụy [5]. Hoạt động của *STM* (*Shoot meristemless*) giúp duy trì hoạt động của mô phân sinh dinh dưỡng trong khi hoạt động của *LFY* (*Leafy*) thúc đẩy sự hình thành mô phân sinh hoa cũng như kích thích hoạt động của các gene thuộc mô hình ABC. Auxin làm giảm hoạt động của *STM* và tăng hoạt động của *LFY*, qua đó, gián tiếp kích thích sự biểu hiện của các gene

hình thành cơ quan hoa theo mô hình ABC [5]. Trong quá trình phát triển cơ quan hoa, auxin quyết định vị trí hình thành các sơ khởi cơ quan hoa [12]. Chính vì vậy, để tạo nụ hoa hoàn chỉnh đòi hỏi phải có sự phối hợp giữa cytokinin và auxin với tỉ lệ thích hợp. Tỉ lệ này là 3 trong trường hợp cây Hồng Nhung.

#### 4 KẾT LUẬN

Trong giai đoạn phát triển hoa ở cây hoa Hồng Nhung, hoạt tính cytokinin nội sinh tăng, phối hợp với auxin nội sinh giúp sự phân chia tế bào và phân hóa cơ quan hoa. Tỷ lệ cytokinin/auxin ngoại sinh thấp thúc đẩy nhanh sự hình thành nụ hoa hoàn chỉnh. Môi trường MS có bổ sung GA<sub>3</sub> 0,5 mg/L, NAA 0,1 mg/L và BA 0,3 mg/L giúp khúc cắt thân mang

mô phân sinh hoa ở giai đoạn bắt đầu trạng hoa tăng tỷ lệ phát triển cơ quan hoa.

### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] G.Y. Wang, M.F. Yuan, Y. Hong, “*In vitro* flower induction in Rose”. *In vitro Cellular & Developmental Biology - Plant*, vol. 38, no. 5, 513–518, 2002.
- [2] N.H. Vu, P.H. Anh, D.T. Nhut, The role of sucrose and different cytokinins in the *in vitro* floral morphogenesis of rose (hybrid tea) cv. “First Prize, *Plant Cell Tiss. Org. Cult.*, 87, pp. 315–320, 2006.
- [3] N.N. Udom, K. Kanchanapoom, K. Kanchanapoom, “Micropropagation from cultured nodal explants of rose (*Rosa hybrida* L. cv. ‘Perfume Delight’). *Songklanakarín J Sci Technol*, 31, pp. 583–586, 2009.
- [4] N.M. Thom, “Nghiên cứu chọn tạo và nhân giống cây hoa hồng (*Rosa* spp.L.) năng suất, chất lượng cao cho một số tỉnh miền bắc Việt Nam”, Luận văn tiến sĩ nông nghiệp, Đại Học Nông Nghiệp Hà Nội, 2009.
- [5] E.R. Alvarez-Buylla, M. Benítez, A. Corvera-Poiré, Á.C. Cador, S. de Folter, “Flower development”. *The Arabidopsis Book*, 8, e0127, 2010.
- [6] M. Bendahmane, A. Dubois, O. Raymond, & M.L. Bris. Genetics and genomics of flower initiation and development in roses, *Journal of Experimental Botany*, vol. 64, no. 4, pp. 847–857, 2013.
- [7] B.T. Việt, “Tìm hiểu hoạt động của các chất điều hòa sinh trưởng thực vật thiên nhiên trong hiện tượng rụng “bông” và “trái non” Tiêu (*Piper nigrum* L.)”, *Tạp san khoa học ĐHTH TPHCM*, no. 1, pp. 155–165, 1992.
- [8] H. Meidner, “Class experiments in plant physiology, George Allen and Unwin”, London, 1984.
- [9] T. Murashige, F. Skoog, “A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures”, *Plant Physiol*, vol. 15, no. 3, pp. 473–497, 1962.
- [10] Bùi Trang Việt, “Giáo trình Sinh lý thực vật đại cương”, trường Đại học Khoa học Tự nhiên - Đại học Quốc gia TPHCM - lưu hành nội bộ, 2016.
- [11] D. Tấn Nhựt, L. Văn Thúc, T. Trọng Tuấn, T.T.D. Hiền, “Nghiên cứu một số yếu tố ảnh hưởng đến sự hình thành hoa *in vitro* ở cây torenia (*Torenia fournieri* L.)”, *Tạp chí Khoa học và Công Nghệ*, vol. 51, no. 6, pp. 689–702, 2016.
- [12] V. Cecchetti, M. M. Altamura, G. Falasca, P. Costantino and M. Cardarelli, “Auxin regulates Arabidopsis anther dehiscence, pollen maturation, and filament elongation”, *The Plant Cell*, vol. 20, no. 7, pp. 1760–1774, 2008.

# Roles of plant growth regulators in the *in vitro* floral organogenesis of rose (*Rosa hybrida* L.)

Tran Minh Hong Linh, Trinh Cam Tu, Bui Trang Viet, Tran Thanh Huong\*

VNUHCM-University of Science

\*Corresponding author: trthuong@hcmus.edu.vn

*Received: 16-10-2017; Accepted: 21-12-2017; Published: 31-12 -2018*

**Abstract**—In this study, morphological and physiological changes in flower development of the rose (*Rosa hybrida* L.) in the garden were analyzed. Role of plant growth regulators on *in vitro* floral organogenesis of rose from floral meristem was investigated. The flowering of *Rosa hybrida* L. has three phases: shoot apical meristem, single floral meristem and floral bud with sepals, petals, stamens and gynoecium. Activities of cytokinins and auxins

increased in the transition of shoots from vegetative growth to floral initiation stage. Floral meristems having sepals and the first layer of petals on MS medium with 0.5 mg/L GA<sub>3</sub>, 0.1 mg/L NAA and 0.3 m/L BA were continuously developed in these next layers of petals and became floral buds at the highest percentage after 4 and 8 weeks of culture, respectively.

**Keywords**—plant growth regulators, floral organogenesis, *in vitro* flowering, *Rosa hybrida* L.