**植物学通报** 2005, **22** (2): 231~237
***Chinese Bulletin of Botany***

专 题 介 绍

# 月季的植株再生及遗传转化研究进展①

高莉萍　包满珠②

(华中农业大学园艺林学学院, 园艺植物生物学教育部重点实验室　武汉　430070)

**摘要**　本文对近20年月季植株再生和转基因研究进展进行了较为系统的回顾和总结。月季通过器官和体细胞胚发生途径都能再生植株，但遗传转化主要是利用体细胞胚发生途径。通过农杆菌介导法和基因枪法，外源基因如报告基因、抗病基因和改变花色的基因等已转化成功。文章还对今后月季转基因研究的方向进行了讨论。

**关键词**　月季，再生，遗传转化

# Advances in Plant Regeneration and Genetic Transformation of Roses

GAO Li-Ping　BAO Man-Zhu②

(*Key Laboratory of Horticulture Biology, Ministry of Education, College of Horticulture and Forestry, Huazhong Agricultural University*, Wuhan 430070)

**Abstract**　This paper describes research on rose plant regeneration and genetic transformation in the last 20 years. Rose plants could be regenerated by both organogenesis or somatic embryogenesis, but somatic embryogenesis was mainly used for the regeneration of transgenic rose plants. Foreign genes, such as reporter genes, disease-resistant genes or color-related genes, were successfully transferred to roses via agrobacteria or through microprojectile bombardment. Difficulties in rose genetic transformation and future research directions are also discussed.

**Key words**　*Rosa hybrida* L., Plant regeneration, Genetic transformation

月季(*Rosa hybrida* L.)是世界上最重要的观赏植物之一。虽然自1875年人工杂交技术产生后，经过长期的杂交和选择，获得了许多理想品种，但月季育种目前存在着以下几个问题：1)传统杂交方法具有局限性。表现在基因资源有限，染色体数目及倍性差异使远缘杂交难以成功；生长一致性、开花同时性等多基因控制性状难以改良等。此外月季作为多年生灌木，育种所需时间较长。2)只注重对外观性状的改良，而忽视了对内在性状的改良。在过去的育种史中，育种家们只注意芽形、花形、花径、瓣数和茎长等外

①国家自然科学基金项目(30170666)资助。
②通讯作者。Author for correspondence.　E-mail: mzbao@mail.hzau.edu.cn
收稿日期：2003-12-25　接受日期：2004-05-08　责任编辑：孙冬花，于昕

https://www.sciengine.com/doi/10.3724/CBB-t23-245

观性状的改良，并且选择的标准也趋于一致，造成资源流失，而内在性状，如生活力、瓶插寿命以及对病虫害的抵抗能力等未得到相应的提高。3)遗传背景相对狭窄。据统计，蔷薇属的100多个物种中只有8个种对现代月季做出过突出贡献，因此这种近亲杂交现象严重影响月季的生活力(de Vries and Dubois, 1995)。

90年代发展起来的以组织培养为基础的转基因技术无疑为月季育种提供了一条新途径。这种方法不但使品种在外源基因所控制的性状上发生改变，其性状保持相对稳定，还可利用来自其他生物类型的基因，创造更优良的品种。目前，月季的组织培养已有了较深入的研究，基因的分离、克隆以及载体构建等技术在重要的农作物及模式植物上已积累了较多的经验，皆可应用于月季的基因工程育种中。

## 1 月季再生的研究进展

利用组织培养的方法使植株再生是对植物进行转基因改良的重要前提条件，转基因成功与否在很大程度上依赖于再生体系是否高效。目前国内对月季组培的研究主要集中在离体快繁上(李青和苏雪痕，1999；吕沐和裴建文，2000)，虽然已建立了比较完善的以茎尖或带芽茎节作外植体的扩繁、生根及移栽的生产模式，但关于植株再生的研究还未见报道。在国外，英国人Hill 1967年就报道从*R. hybrida* 'The Doctor'的愈伤组织诱导出胚状结构。此后，研究者们采用不同外植体及不同的再生途径，在许多月季品种的再生上都取得了成功。

一般而言，植株再生可分为器官发生途径(organogenesis)和体细胞胚发生途径(somatic embryogenesis)，又依据是否经过愈伤组织阶段而进一步分为直接再生(direct)和间接再生(indirect)两种，间接再生因需要经过愈伤组织阶段，所以通常需要更长的时间。

### 1.1 器官发生途径的植株再生

**1.1.1 直接再生不定芽** 月季直接再生不定芽的报道不多。Lloyd等(1988)在仅含有BA和NAA的培养基上直接从*R. persica* × *xanthina*的叶和根, 金英子(*R. laevigata*)和光叶蔷薇(*R. wichuraiana*)的叶上诱导出不定芽，但未报道诱导率。Dubois等(1995, 1997)报道的两步直接再生不定芽的方法是目前所报道再生率最高，需时最短的再生方法。他们首先将采自田间未展开的幼嫩复叶消毒后切成带柄的小叶，此小叶在诱导培养基(1/2 MS+1.5 mg·L$^{-1}$ TDZ(噻重氮苯基脲)+0.05 mg·L$^{-1}$ NAA + 100 mg·L$^{-1}$ CH(水解酪蛋白)+10 mg·L$^{-1}$ $AgNO_3$)上黑暗下诱导8天，然后转入发枝培养基(MS+0.5 mg·L$^{-1}$ BA+0.01 mg·L$^{-1}$ NAA+0.1 mg·L$^{-1}$ $GA_3$)中不定芽长成植株。所试24个品种25天后不定芽的再生率为65%~100%(其中15个品种再生效果非常好，5种较好，4种中等)。再生率越高的品种，再生所需时间越短，不定芽生长越快，且再生芽数也越多，并且田间苗较组培苗的效果好。Ibrahim和Debergh(2000, 2001)在此法的基础上做了适当调整，使组培苗叶片的再生频率明显提高，文章还讨论了叶龄、光照、暗培养时间及空气湿度对再生的影响，并采用石蜡切片的方法观察到不定芽发生于小叶叶柄基部的表层细胞。

直接诱导不定芽的方法虽然不定芽的发生率较高，但由于激素的影响，有些不定芽因畸形而无法伸长长大，在一定程度上降低了植株的再生频率(Lloyd *et al.*, 1988)。

**1.1.2 间接再生不定芽** Lloyd等(1988)在含BA和NAA的培养基上从*R. persica* × *xanthina*的节间愈伤组织诱导出不定芽。实验发现，无再生能力的愈伤组织淀粉含量较高，而能再生的愈伤组织中含淀粉少，并且这种具有器官发生能力的愈伤组织

https://www.sciengine.com/doi/10.3724/CBB-t23-245

(organogenic callus)经过3次继代后便失去了再生能力。Burger等(1990)利用4个杂交组合产生的未成熟胚为外植体，在含BA和NAA的培养基上由子叶愈伤组织诱导出不定芽。实验表明授粉后27天胚轴刚形成时的胚再生频率最高，可达53%。Rosu等(1995)认为侧芽附近的细胞可能受其影响也能进行再分化而形成不定芽。他将膨大的侧芽不断继代在含TDZ和NAA的培养基上，不仅诱导出愈伤组织，并得到不定芽。通过此法他从一少刺的嵌合体切花品种分离出无刺的植株。Hsia和Korban(1996)及Li等(2002a)将品种*R. hybrida* 'Carefree Beauty'的叶和节间在含2,4-D或NAA的培养基上诱导愈伤组织，结果愈伤组织上分化出不少不定根，此带根愈伤组织在含TDZ和$GA_3$的培养基上分化出不定芽，再生率最高可达到53%。

月季从愈伤组织间接诱导不定芽再生率通常不高，并且非常受基因型的限制，具有器官发生能力的愈伤组织也无法继代增殖，因此，此再生途径的应用有一定的局限性。

**1.2 体细胞胚发生途径的植株再生**

**1.2.1 体细胞胚的诱导** 体细胞胚的诱导是指从植物外植体诱导体细胞胚，也称为初级体细胞胚胎发生(primary embryogenesis)。为了保持月季品种的优良性状，体细胞胚的诱导都是以营养器官为外植体的。一般由营养器官诱导的体细胞胚发生是间接的(Raemakers *et al.*, 1995)，目前已有十几个月季品种被报道通过间接途径成功诱导出体细胞胚。

用来诱导体细胞胚的植物外植体可以是叶片(de Wit *et al.*, 1990; Rout *et al.*, 1991; Hsia and Korban, 1996; Kintzios *et al.*, 1998, 1999, 2000; Dohm *et al.*, 2001a; Li *et al.*, 2002a)、节间(Rout *et al.*, 1991)、根(Yokoya *et al.*, 1995; van der Salm *et al.*, 1996)、花丝(Noriega and Söndahl, 1991)、花瓣(Murali *et al.*, 1996)或花萼、花座和子房等(Arene *et al.*, 1993)。诱导的方法是在同时含有生长素和细胞分裂素的MS培养基中诱导体细胞胚(de Wit *et al.*, 1990; Rout *et al.*, 1991; Noriega and Söndahl, 1991; Arene *et al.*, 1993; Kintzios, 1998, 1999, 2000); 或者先在生长素的作用下诱导生成愈伤组织，然后在细胞分裂素的作用下诱导形成体细胞胚的(Dohm *et al.*, 2001a; Li *et al.*, 2002a; Kim *et al.*, 2003); 也有直接在含生长素的培养基上不断继代形成体细胞胚的(Yokoya *et al.*, 1995; van der Salm *et al.*, 1996; Murali *et al.*, 1996)。黑暗或弱光适于体细胞胚诱导，但也有不同的报道(Dohm *et al.*, 2001a; Chang *et al.*, 2003)。另外，不同品种的L-脯氨酸(Rout *et al.*, 1991)、培养基凝固剂(van der Salm *et al.*, 1996)、碳源(Hsia and Korban, 1996)及铜离子浓度(Kintzios *et al.*, 1998, 1999, 2000)对体细胞胚的诱导产生不同的影响。初级体细胞胚的诱导率一般是较低的(低于10%)，并且非常受基因型的限制，仅Dohm等(2001a)报道实验的50个品种中有69%的品种都能再生，再生率最高可达到95%。

**1.2.2 体细胞胚的增殖或胚性愈伤组织的保持** 初级体细胞胚可通过次级胚再生(secondary embryogenesis)不断增殖，即在前一次的体胚上又分化出多个新的胚状体，或者通过诱导和选择形成活力旺盛、再生能力持久的胚性愈伤组织。这种系统能长期源源不断地提供正常、成熟的次级胚及再生植株，因此对于资源保存和遗传转化都非常有利。

Rout等(1991)、Dohm等(2001a)和Li等(2002a)报道在含有生长素和细胞分裂素的培养基上次级体细胞胚的再生能力分别保持了16个月、3年和1年多。Noriega和Söndahl (1991)及Yokoya等(1995)报道了胚性愈伤组织的保存，分别保持了18个月和30个月。Murali等(1996)从花瓣诱导的愈伤组织可在含2,4-D和2iP(2-异戊烯基腺苷)的培养基上增殖和保存，但繁殖效率有所下降。Noriega和

https://www.sciengine.com/doi/10.3724/CBB-t23-245

Söndahl(1991)指出体细胞胚再生过程中重要的一步是从初级体细胞胚上诱导和保持脆性胚性愈伤组织(friable embryogenic tissue)，低水平的NAA/ZT(玉米素)有利于诱导，而高水平的NAA/ZT有利于保持，但有资料记载(van der Salm *et al.*, 1996)此二人3年的实验仅得到2个胚性愈伤系。Dohm等(2001a)指出长期不断地选择生活力持久的愈伤组织非常重要；利用胚性愈伤组织，还建立了品种*R. hybrida* 'Pariser Charme'和'Heckenzauber'的细胞悬浮系统。

**1.2.3 体细胞胚的成苗** 目前的试验表明月季体细胞胚的萌发需要培养基中同时含有生长素和细胞分裂素，但是和其他木本植物一样萌发仍是比较困难的。Dohm等(2001a)报道体胚的萌发是零星发生的，Kim等(2003)报道的体胚萌发率为11%。为提高萌发效率采取的措施主要是强光照(Kintzios *et al.*, 1998, 1999)、低温和ABA处理。Rout等(1991)将子叶期体细胞胚在8 ℃下储藏4天，可促进12%的体细胞胚萌发。Noriega和Söndahl (1991)以及Murali等(1996)都发现ABA能促进胚的成熟，减少不正常胚的发生，后者还指出在间苯三酚的促进下93%的成熟胚萌发成苗，比不使用时提高了近3倍。*R. hybrida* 'Carefree Beauty'的体细胞胚在ABA的作用下萌发率也提高了5倍(Li *et al.*，2002a)。Yokoya等(1995)采用ABA和低温联合处理，并使用麦芽糖代替蔗糖，通过胚的萌发和不定芽的再生，使25%的体细胞胚成苗。另外，BA和Mela(月桂酸甲酯)、碳源和渗透压调节物质对体细胞胚的成熟和萌发也会产生影响(Sarsan *et al.*, 2001; Castillón and Kamo, 2002)。体细胞胚还可通过再生不定芽成苗，*R. hybrida* 'Heckenzauber'的体细胞胚在含BAP、IBA和$GA_3$的培养基上不定芽的再生率可达到100%(Dohm *et al.*, 2001a)。

关于月季原生质体的植株再生可参考Matthews等(1991)的报道，在此不再详述。

## 2 月季转基因的研究进展

由于月季再生系统不够完善，多数表现为再生率不高，且明显受基因型限制。由于欧洲国家对转基因植物的限制，目前有关月季转基因的报道还非常有限，在这有限的报道中农杆菌介导法仍是主要的转化方法。

影响转化的因素很多，其中转化受体材料的选择是转基因能否成功的关键之一。Firoozabady等(1994)试验了*R. hybrida* 'Royalty'的叶、茎、叶柄及花器官，Li等(2002b)试验了*R. hybrida* 'Carefree Beaty'的叶及愈伤组织，都仅得到转化的愈伤组织。次级体细胞胚和胚性愈伤组织因能长期保存，不断提供丰富的材料，而且再生能力持久，成为目前主要的受体材料，之后通过抗性体细胞胚或胚性愈伤组织的再生获得转化植株(Firoozabady *et al.*, 1994; Souq *et al.*, 1995; Dohm *et al.*, 2001b; Li *et al.*, 2002b; Kim *et al.*, 2004)。唯一例外的是van der Salm等(1997)采用*R. hybrida* 'Moneyway'节间组织与农杆菌在一诱根培养基上共培养，得到转化的不定根，再经12个月从转化的不定根上诱导出胚状体，最终长成植株。农杆菌菌株及质粒种类对转化影响不大，根癌农杆菌LBA4404或发根农杆菌15834的转化效率无显著差异(Firoozabady *et al.*, 1994)，根癌农杆菌GV3101、EHA105和GV2260也都有成功报道，但农杆菌的预培养及共培养时间对转化效率有一定影响。Dohm等(2001b)报道使用根癌农杆菌EHA105和GV2260时，摇菌时间不应超过2小时，共培养时间分别为2天和6天。采用卡那霉素作为选择抗生素是有效的，目前尚没有假转化体或嵌合体的报道，并且转化植株中外源基因多是以单拷贝插入的。

目前，除了GUS(β-葡萄糖苷酸酶)和GFP(绿色荧光蛋白)报告基因的转化获得成功外

https://www.sciengine.com/doi/10.3724/CBB-t23-245

(Firoozabady *et al.*, 1994; Li *et al.*. 2002b; Kim *et al.*, 2004)，一些可改良农业性状的基因也已导入月季植株，并对性状的表现产生了影响。Souq等(1995)进行了*RolC*基因及月季查耳酮反义基因的转化，前者表现一定程度上的矮化，且主茎茎基分枝增多；后者表现为花的红色减淡，但未见到白花或白色斑纹。*R. hybrida* ‘Moneyway’ 含有 *RolC* 基因的转化植株插枝的生根能力提高了 3 倍，以此转化植株作砧木，对根的生长和接穗上侧芽的萌发都有促进作用。Dohm 等(2001b)转化 *R. hybrida* ‘Heckenzauber’ 和 ‘Pariser Charme’，得到了含不同组合抗真菌蛋白基因的转化植株，其中含核糖体失活蛋白基因的植株对黑斑病的感染率下降了 60%。

除农杆菌介导法外，基因枪法也被应用于月季的转化。Marchant等(1998a)以胚性愈伤组织细胞为对象，通过转化 GUS 报告基因，将基因枪法的转化条件进行了优化。此后他又成功地将来自水稻的几丁质酶基因转入 *R. hybrida* ‘Glad Tidings’，使该品种月季黑斑病的发生率降低13%~43%，抗病效果与几丁质酶基因的表达量呈正相关(Marchant *et al.*，1998b)。

## 3 结语

从以上的报道可以看出，近20年来月季的再生和转基因研究有了长足发展，但还处于初级阶段。少数品种建立了高效再生体系，转基因多数还停留在报告基因转化的水平，外源基因在转基因植株中表达和稳定性的报道不多，至今未有在生产中推广的转基因月季品种。再生体系不够完善仍然是制约月季转基因的主要因素，直接再生不定芽途径虽然再生率高，需时短，适应范围较广，但转化困难；胚性愈伤组织或次级体细胞胚易于转化，但体细胞胚再生系统的建立相对困难，需要在诱导出初级体细胞胚后经过长时间的继代和选择，目前具备该再生系统的品种还非常有限。

植株再生是进行遗传转化的必要前提，只有具备了成熟再生体系才能有效地进行基因转化。现在组织培养技术在很大程度上仍是以经验为基础的，广泛开展月季组培的研究仍是解决问题的最佳途径，在我国尤其如此。随着经验的积累，月季再生体系将不断完善，为转基因提供前提条件，同时，对植物性状背后生化反应过程的进一步了解，新的基因将被克隆，为分子育种提供新材料。此外，人们对环保日益重视，对新奇花朵的需求日益增加，转基因技术必将在月季育种中发挥重要作用。预计在今后几年将育出抗毛虫、根结线虫的月季、延长花期的月季、一次性采收的月季(de Vries *et al.*, 1995)、蓝色月季和香味月季等。

## 参 考 文 献


李青, 苏雪痕 (1999) 藤本月季组织培养快繁研究. 北京林业大学学报, **21:** 17-21

吕沐, 裴建文 (2000) 丰花月季的组培快繁技术. 甘肃农业科技, **2:** 44-45

郑玉梅, 马祎, 刘青林 (2003) 月季遗传转化研究进展. 中国生物工程杂志，**23:** 79-82

Arene L, Pellegrino C, Gudin S (1993) A comparison of the somaclonal variation level of *Rosa hybrida* L. cv. ‘Meirutral’ plants regenerated from callus or direct induction from different vegetative and embryonic tissue. *Euphytica*, **71:** 83-90

Burger DW, Liu L, Zary KW, Lee CI (1990) Organogenesis and plant regeneration from immature embryos of *Rosa hybrida* L. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, **21:** 147-152

Castillon J, Kamo K (2002) Maturation and conversion of somatic embryos of three genetically diverse rose cultivars. *Hort Science*, **37:** 973-977


https://www.sciengine.com/doi/10.3724/CBB-t23-245

de Vries DP, Dubois LAM (1996) Rose breeding: past, present, prospects. *Acta Horticulturae*, **424:** 241-247

de Wit JC, Esendam HF, Honkanen JJ, Tuominen U (1990) Somatic embryogenesis and regeneration of flowering plants in rose. *Plant Cell Reports*, **9:** 456-458

Dohm A, Ludwig C, Nehring K, Debener T (2001a) Somatic embryogenesis in roses. *Acta Horticulturae*, **547:** 341-348

Dohm A, Ludwig C, Schilling D, Debener T (2001b) Transformation of roses with genes for antifungal proteins. *Acta Horticulturae*, **547:** 27-34

Dubois LAM, de Vries DP (1996) The direct regeneration of adventitious bud on leaf explants of glass house-grown cut rose cultivars. *Acta Horticulturae*, **424:** 327-331

Dubois LAM, de Vries DP, Koot A (1997) Genetic variation of rose cultivars for direct shoot organogenesis. *Acta Horticulturae*, **447:** 79-83

Firoozabady E, Moy Y, Courtney-Gutterson N, Robinson K (1994) Regeneration of transgenic rose (*Rosa hybrida*) plants from embryogenic tissue. *Bio/technology*, **12:** 609-613

Hsia C, Korban SS (1996) Organogenesis and somatic embryogenesis in callus cultures of *Rosa hybrida* and *Rosa chinensis* minima. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, **44:** 1-6

Ibrahim R, Debergh PC (2000) Improvement of adventitious bud formation and plantlet regeneration from *in vitro* leaflet explants of roses(*Rosa hybrida* L.). *Acta Horticulturae*, **520:** 271-279

Ibrahim R, Debergh PC (2001) Factors controlling high efficiency adventitious bud formation and plant regeneration from *in vitro* leaf explants of roses (*Rosa hybrida* L.). *Scientia Horticulturae*, **88:** 41-57

Kim CK, Chung JD, Jee SO, Oh JY (2003) Somatic embryogenesis from *in vitro* grown leaf explants of *Rosa hybrida* L. *Journal of Plant Biotechnology*, **5:** 169-172

Kim CK, Chung JD, Park SH, Burrell AM, Kamo KK, Byrne DH (2004) *Agrobacterium tumefaciens*-mediated transformation of *Rosa hybrida* using the green fluorescent protein (GFP) gene. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, **78:** 107-111

Kintzios S, Drssopoulos JB, Lymperopoulos C (2000) Effect of vitamins and inorganic micronutrients on callus growth and somatic embryogenesis from young mature leaves of rose. *Journal of Plant Nutrition*, **23:** 1407-1420

Kintzios S, Hiureas G, Shortsianites E, Sereti E, Blouhos P, Manos C, Maki O, Taravira N, Drossopoulos J, Holevas CD (1998) The effect of light on the induction, development and maturation of somatic embryos from various horticultural and ornamental species. *Acta Horticulturae*, **461:** 427-432

Kintzios S, Manos C, Makri O (1999) Somatic embryogenesis from mature leaves of rose(*Rosa* sp.). *Plant Cell Reports*, **18:** 467-472

Li XQ, Krasnyanski SF, Korban SS (2002a) Somatic embryogenesis, secondary somatic embryogenesis, and shoot organogenesis in rosa. *Journal of Plant Physiology*, **159:** 313-319

Li XQ, Krasnyanski SF, Korban SS (2002b) Optimization of the uidA gene transfer into somatic embryos of rose via *Agrobacterium tumefaciens*. *Plant Physiology and Biochemistry*, **40:** 453-459

Lloyd D, Roberts AV, Short KC (1988) The induction *in vitro* of adventitious shoots in *Rosa*. *Euphytica*, **37:** 31-36

Marchant R, Davey MR, Lucas JA, Lamb CJ, Dixon RA, Power JB (1998b) Expression of a chitinase transgene in rose (*Rosa hybrida* L.) reduces development of black disease (*Diplocarpon rosae* Wolf). *Molecular Breeding*, **4:** 187-194

Marchant R, Power JB, Lucas JA, Davey MR (1998a) Biolistic transformation of rose(*Rosa hybrida* L.). *Annals of Botany*, **81:** 109-114

Matthews D, Mohley J, Horan I, Roberts AV (1991) A protoplast to plant system in roses. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, **24:** 173-180

Murali S, Sreedhar D, Lokeswari TS (1996) Regeneration through somatic embryogenesis from petal-derived calli of *Rosa hybrida* L. cv 'Arizona' (hybrid

https://www.sciengine.com/doi/10.3724/CBB-t23-245

tea). *Euphytica*, **91:** 271-275

Noriega C, Söndahl MR (1991) Somatic embryogenesis in hybrida tea roses. *Bio/technology*, **9:** 991-993

Raemakers CJJM, Jacobsen E, Visser RGF (1995) Secondary somatic embryogenesis and applications in plant breeding. *Euphytica*, **81:** 93-107

Rosu A, Skirvin RM, Bein A, Norton MA, Kushad M, Otterbacher AG (1995) The development of putative adventitious shoots from a chimeral thornless rose(*Rosa multiflora* Thumb. ex J. Murr.) *in vitro*. *Journal of Horticultural Science*, **70:** 901-907

Rout GR, Debata BK, Das P (1991) Somatic embryogenesis in callus cultures of *Rosa hybrida* L. cv. 'Landora'. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, **27:** 65-69

Rout GR, Samantaray S, Mottlely J, Das P (1999) Biotechnology of the rose: a review of recent progress. *Scientia Horticulturae*, **81:** 201-228

Sarasan V, Roberts AV, Rout GR (2001) Methyl laurate and 6-benzyladenine promote the germination of somatic embryos of a hybrid rose. *Plant Cell Reports*, **20:** 183-186

Souq F, Coutos-Thenenot P, Yean H, Delbard G, Maziere Y, Barbe JP, Boulay M (1995) Genetic transformation of roses, 2 examples: one on morphogenesis, the other on anthocyanin biosynthetic pathway. *Acta Horticulturae*, **424:** 381-388

van der Salm TPM, van der Toorn CJG, Bouwer R, Hänisch ten Cate CH, Dons HJM (1997) Production of Rol gene transformed plants of *Rosa hybrida* L. and characterization of their rooting ability. *Molecular Breeding*, **3:** 39-47

van der Salm TPM, van der Toorn CJG, Hänisch ten Cate CH, Dons HJM (1996) Somatic embryogenesis and shoot regeneration from excised adventitious roots of the rootstock *Rosa hybrida* L. 'Moneyway'. *Plant Cell Reports*, **15:** 522-526

Yokoya K, Walker S, Sarasam V (1996) Regeneration of rose plants from cell and tissue cultures. *Acta Horticulturae*, **424:** 333-337

https://www.sciengine.com/doi/10.3724/CBB-t23-245