

# 牡丹试管苗生根过程解剖结构观察及相关激素与酶变化的研究

贺 丹<sup>1,2</sup>, 王 政<sup>1</sup>, 何松林<sup>1,\*</sup>

(<sup>1</sup>河南农业大学林学院, 郑州 450002; <sup>2</sup>北京林业大学园林学院, 北京 100083)

**摘 要:** 以‘太平红’牡丹试管苗为材料, 对其生根诱导过程中吲哚乙酸 (IAA)、细胞分裂素 (ZR) 和脱落酸 (ABA) 含量, 过氧化物酶 (POD)、多酚氧化酶 (PPO) 和吲哚乙酸氧化酶 (IAAO) 活性以及根形态结构进行了研究。结果表明: 试管苗不定根的根原基发生于形成层。根原基发生期为诱导生根 3 d 左右, 15 d 时不定根突破表皮。内源激素在根原基诱导期间整体呈下降趋势, 而在不定根的伸长期整体呈上升趋势。POD 活性在根原基发生期间呈下降趋势, 在不定根的伸长期波动较大; PPO 和 IAAO 活性在根原基的诱导期间呈上升趋势, 在不定根的伸长期 PPO 活性先下降后上升, IAAO 活性呈下降趋势。

**关键词:** 牡丹; 试管苗; 内源激素; 酶活性; 解剖结构

**中图分类号:** S 685.11

**文献标识码:** A

**文章编号:** 0513-353X (2011) 04-0770-07

## Adventitious Root Generating Process and Hormone and Enzyme Changes in *Vitro* *Paeonia suffruticosa*

HE Dan<sup>1,2</sup>, WANG Zheng<sup>1</sup>, and HE Song-lin<sup>1,\*</sup>

(<sup>1</sup>College of Forestry, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China; <sup>2</sup>College of Landscape Architecture, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China)

**Abstract:** *In vitro* cultivar of *Paeonia suffruticosa* ‘Taipinghong’ was used to study histological characters and the contents of IAA, ZR and ABA and the activities of POD, PPO and IAAO during rhizogenesis. Results identified that the adventitious root primordia originated from the vascular cambium cells. The adventitious root primordia formed on the 3rd day of root induction period and broke epidermis on the 15th day. The contents of endogenous hormones decreased during root primordia-inducing but increased during root elongation. Moreover, the activity of POD fell but the activity of PPO and IAAO rose during root primordia-growing; And the activity of POD fluctuated, the activity of PPO decreased then increased, the activity of IAAO decreased during root elongation.

**Key words:** *Paeonia suffruticosa*; *in vitro* shoot; endogenous hormone; enzyme activity; anatomical structure

收稿日期: 2010-12-23; 修回日期: 2011-03-24

基金项目: 国家‘863’计划项目 (2002AA241131); 河南省高校创新人才培养计划项目 (豫教高[2005]126号)

\* 通信作者 Author for correspondence (E-mail: hsl213@163.com)

牡丹 (*Paeonia suffruticosa*) 生产中至今沿用传统的嫁接与分株技术进行繁殖, 繁殖系数低, 速度慢, 无法满足市场发展的需要 (高志民 等, 2001)。而利用组培技术繁殖牡丹具有周期短, 繁殖系数高, 便于大规模生产等特点。但是, 牡丹试管苗根系发生困难, 且质量不高 (李航 等, 2007)。

目前对牡丹组培苗生根的研究多集中在培养基及添加生长调节物质方面 (徐桂娟, 2002; 张子学 等, 2004; 陈笑蕾, 2005; 刘会超和贾文庆, 2010), 牡丹组培苗生根过程中酶活性及内源激素与不定根的发生和生长有密切的关系 (Zeng et al., 2006; 李航, 2007; 王永伟, 2008), 但是尚未展开系统地研究。

本试验中主要研究了牡丹试管苗生根过程中酶活性和内源激素的变化以及不定根发生、发育的结构形态, 以期对牡丹等难生根植物发根研究提供科学理论和技术借鉴。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料及其培养条件

试验于 2008 年 12 月至 2009 年 4 月在河南农业大学林学学科重点实验室与中央与地方共建观赏植物学实验室进行。试材为 ‘太平红’ 牡丹试管苗。该品种生长势强, 开花早, 在本实验室的前期研究中其试管苗生根率高于其他品种。

将无根试管苗接种到 WPM + IBA  $4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  + PVP  $1.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  + 维生素 C  $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  + 蔗糖  $30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  + Gellan gum  $2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  (pH 5.8) 的固体培养基上, 在常规条件下 [温度  $(24 \pm 1) ^\circ\text{C}$ , 光强  $2\,000 \text{ lx}$ , 光照时间  $12 \text{ h} \cdot \text{d}^{-1}$ ] 进行生根培养。

### 1.2 不定根发生的形态观察

试管苗不定根发生过程中的组织学变化采用石蜡切片法观察。从诱导生根培养起, 分别于接种后的 0、1、2、3、4、5、7、9、12、15、19、23、28、33、38 和 43 d 时切取嫩茎基部  $0.5 \sim 1.0 \text{ cm}$  长的茎段, 用 FAA 固定液固定, 然后用梯度酒精脱水, 石蜡包埋, 转动切片机切片, 切片厚度  $12 \mu\text{m}$ , 番红—固绿对染法染色, Olympus 显微镜观察并照相。

### 1.3 内源激素和酶活性测定

生根培养开始后, 分别于 0、1、2、3、4、5、7、9、12、15、19、23、28、33、38 和 43 d 时取长势基本一致的试管苗 20 株, 剪碎后充分混匀, 称取样品  $0.5 \text{ g}$ , 采用酶联免疫法测定内源激素吲哚乙酸 (IAA)、细胞分裂素 (ZR)、脱落酸 (ABA) 的含量。

过氧化物酶 (POD) 和吲哚乙酸氧化酶 (IAAO) 活性测定参照张志良和瞿伟菁 (2003) 的方法并稍作修改; 多酚氧化酶 (PPO) 活性测定参照李明等 (2000) 的方法并适当改动。试验设 3 次重复。

## 2 结果与分析

### 2.1 牡丹不定根原基的发生部位和时间

茎基部的组织切片表明, 试管苗嫩茎中不存在潜生根原基 (图 1, A), 不定根原基属于诱生根原基类型。诱导培养 2 d 后, 形成层细胞开始分裂, 细胞层数增加 (图 1, B)。3 d 时开始, 在维管束处开始出现根原基, 细胞首先进行平周分裂, 增加细胞的层数, 其次进行各个方向分裂, 形成一球形细胞团, 该细胞团继续分裂分化形成根原基轮廓 (图 1, C、D)。12 d 时根原基继续生长, 逐

渐突破表皮 (图 1, E)。15 d 可见已突出表皮的不定根。20 d 时已可见完整的根 (图 1, F)。生根后期, 愈伤组织明显膨大, 茎细胞变的疏松, 中部髓腔变大。

此外, 试管苗的不定根也可由愈伤组织分化形成, 而由愈伤组织长出的根, 则是由皮层薄壁细胞中的根原基突破表皮形成的 (图 1, G)。不定根突破表皮后, 其输导组织与茎的维管束并不相连。

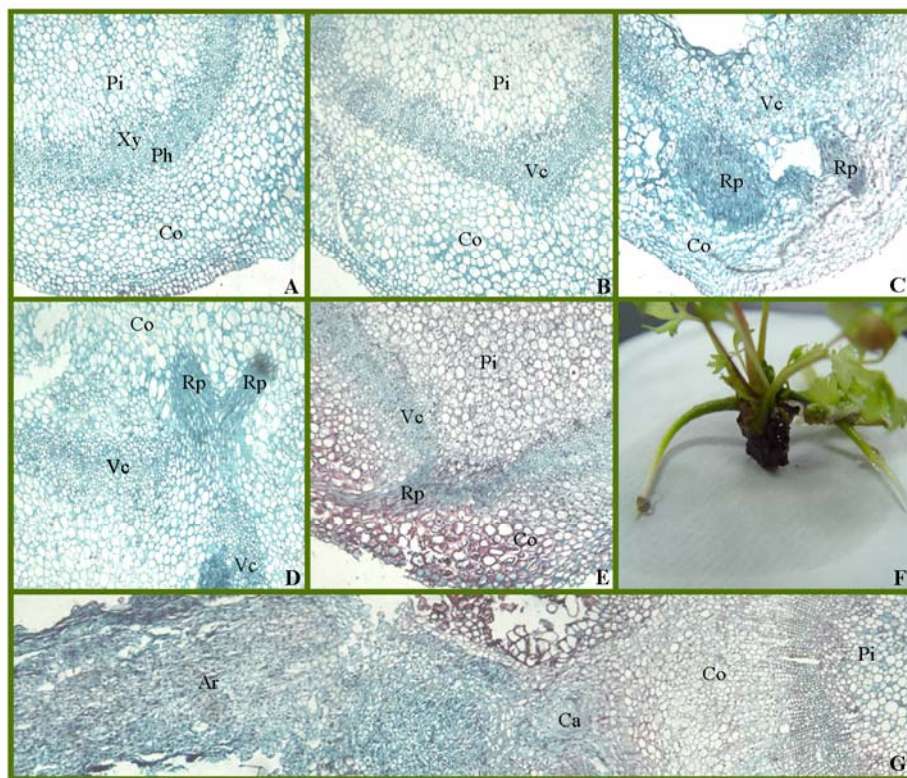


图 1 试管苗生根过程的解剖结构

A. 生根培养; B. 生根诱导 2 d, 形成层细胞分裂旺盛; C、D. 生根培养 3~4 d, 形成根原基轮廓; E. 生根培养 12 d, 根原基即将突破表皮; F. 生根培养 20 d, 试管生根苗; G. 茎愈伤组织生根。

Ar. 不定根; Co. 皮层; Ca. 愈伤组织; Ph. 韧皮部; Pi. 髓; Rp. 根原基; Vc. 微管形成层; Xy. 木质部。

Fig. 1 Histological structure of shoot rooting

A. Root culture; B. 2 d after root inducing, the cell of vascular cambium differentiate strongly; C, D. 3~4 d after rooting culture, form root primordia; E. 12 d after rooting culture, root primordia will break epidermis; F. 20 d after rooting culture, rooted shoot of 'Taipinghong' cultivar; G. Rooting from stem callus.

Ar. Adventitious root; Co. Cortex; Ca. Callus; Ph. Phloem; Pi. Pith; Rp. Root primordia; Vc. Vascular cambium; Xy. Xylem.

## 2.2 牡丹试管苗生根过程中内源激素含量的变化

转入生根培养基后, 3 种内源激素含量变化如图 2 所示。根原基诱导及形成期, 即转入生根培养的前 5 d, IAA 含量整体呈下降趋势, 随后上升, 分别于 7 d 和 12 d 达到峰值; 在根突破表皮前后 (9~15 d) 整体呈上升趋势, 不定根突出表皮 (19 d) 后, IAA 含量下降且变化趋于平缓。

生根培养后 ZR 含量前 5 d 呈下降趋势, 在根原基出现之后含量开始大幅度上升, 根突出表皮之后开始下降, 然后变化趋于稳定, 生根后期含量升高。

ABA 含量在根原基诱导期缓慢下降, 7 d 时降到最小值, 然后开始上升, 在根突破表皮前后 (9~15 d) 整体呈上升后下降的现象, 在根伸长期趋于稳定, 而在生根后期含量上升以促进根的成熟、老化。

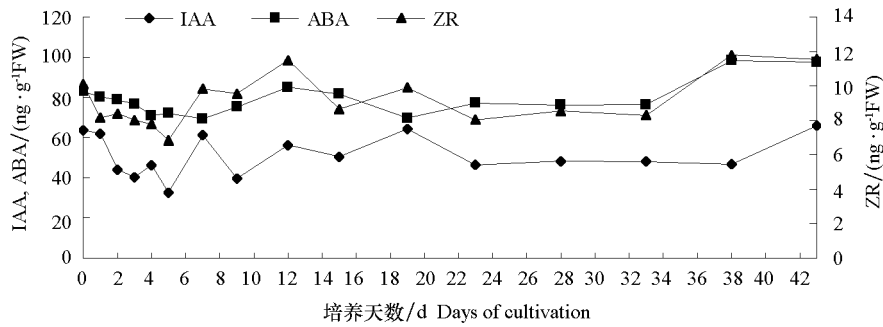


图2 牡丹试管苗生根过程中内源激素含量的变化

Fig. 2 Changes of endogenous hormones contents in inducing rooting of *Paeonia suffruticosa*

生根过程中 IAA/ABA 和 IAA/ZR 的变化如图 3。IAA/ABA 和 IAA/ZR 的比值变化趋势相似, 生根培养 1 d 时达到一个高峰, 随后下降, 7 d 和 19 d 时分别到达高峰, 然后直至 38 d 变化幅度较小, 且 IAA/ABA 和 IAA/ZR 的比值的变化趋势与 IAA 的变化趋势基本相近。

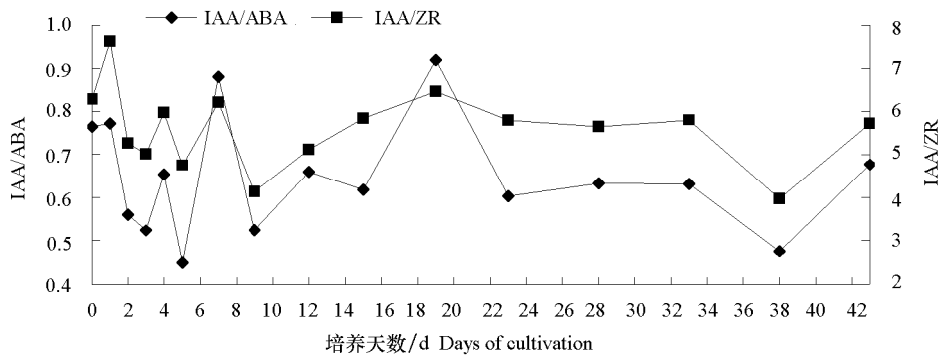


图3 牡丹试管苗生根过程中 IAA/ABA, IAA/ZR 的变化

Fig. 3 Changes of IAA/ABA, IAA/ZR in inducing rooting of *Paeonia suffruticosa*

### 2.3 牡丹试管苗生根过程中酶活性的变化

试管苗转入生根培养基后, 前 5 d POD 活性变化剧烈。1 d 时达到高峰, 然后急剧下降, 根原基形成期间整体呈下降趋势, 7 d 时下降到最低值, 随后呈波动变化, 生根后期变化趋于稳定; 生根培养后 PPO 活性开始下降, 2 d 时降低到最低值, 根原基形成期间开始上升, 随后呈波动变化, 7 d 时降低到最低值, 12 d 后整体呈上升趋势, 生根后期有所下降; 根原基诱导期及形成期 IAAO 活性逐渐升高, 5 d 时达到高峰, 随后急剧下降, 7 d 时降低到最低值, 根原基形成之后变化幅度较小。

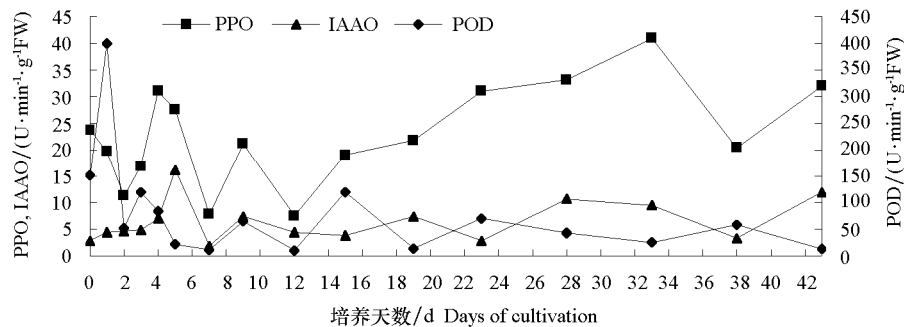


图4 牡丹试管苗生根过程中酶活性变化

Fig. 4 Changes of enzyme activities in inducing rooting of *Paeonia suffruticosa*

### 3 讨论

#### 3.1 牡丹不定根发生过程

通过解剖学观察发现,牡丹试管苗不定根起源于维管束的形成层细胞,特别是髓射线正对的形成层细胞。其不定根发育过程基本可以分为4个阶段:(1)转入生根诱导培养基后,薄壁细胞组织脱分化;(2)培养2 d,脱分化组织转变为分生组织细胞群;(3)3 d开始,分生组织细胞群不断分裂和分化,发育成可见的根原基;(4)根原基内细胞继续分裂分化形成根尖,其内发育出维管束,随后向外生长并穿过皮层,最后突破茎表皮。这与王清民等(2006)在核桃研究中发现的不定根起源阶段基本一致。同时,在移栽过程中发现,从维管束部位发育出根的试管苗能够成活,这可能与该类型根与木质部相连后具有正常根的输导等功能有关;而从愈伤组织发育出根的试管苗容易死亡,这可能与该类型根与茎不相连(无明显的输导组织)有关。

#### 3.2 牡丹试管苗生根过程中内源激素与生根的关系

本研究中,IAA含量在根原基发生期下降,根的生长期上升,这在石竹、葡萄、茶树、核桃、牡丹(桂仁意等,2003;李胜等,2005;姚永宏等,2005;王清民等,2006;Zeng et al., 2006;齐永顺等,2009)等研究中发现根原基诱导期IAA含量下降,而生根后IAA含量升高的结论一致。同时,ZR含量在根诱导期下降幅度较大,而在根原基形成和根伸长期时升高,这可能与根原基形成和根伸长时需要提高细胞数量及其分裂速度有关,以促进根的纵向伸长生长及横向根径生长;牡丹根原基诱导期ABA含量的变化与葡萄、核桃(李胜等,2005;王清民等,2006)等试管苗生根的情况相反,这可能与植物种类不同有关。而且,本研究中发现IAA/ABA和IAA/ZR比值的变化趋势与IAA的变化趋势基本相近,分别在根原基发生初期和根伸长生长前期出现峰值。说明IAA/ABA与IAA/ZR比值与牡丹试管苗生根密切相关,常永健等(1991)在研究落地生根、苹果中也发现生根主要取决于IAA/ABA比值,高IAA/ABA值有利于根的数量增加及生长。

#### 3.3 牡丹试管苗生根过程中酶活性与生根的关系

POD、PPO和IAAO与生根密切相关,不同生根时期的相关酶活性不同。如根原基诱导需要较低活性的IAAO和较高活性的POD和PPO;根生长期需要较低活性的POD、IAAO及较高活性的PPO;生根后期需要较低活性的PPO和较高活性的POD、IAAO(李明等,2000;辜云杰等,2004;宋士任和王华,2005;黄美娟等,2006;李航,2007;付喜玲等,2009)。本研究中发现,在牡丹试管苗根原基诱导期和根突破表皮期过程中,POD活性变化与付喜玲等(2009)在芍药扦插苗生根过程中发现不定根诱导期和表达期POD活性升高的结论一致,可能POD作用的某些产物是不定根发生所必须的辅助因子。

PPO可催化酚类物质与IAA反应形成“IAA-酚酸复合物”,该物质被普遍认为是生根的辅助因子(Bassuk et al., 1981)。牡丹试管苗的PPO和IAAO活性在根原基诱导初期较低,IAA含量相对较高;然后PPO活性开始上升,IAA含量进一步下降,说明PPO可能催化有关酚类物质与IAA反应形成“IAA-酚酸复合物”,以促进根原基的形成。同时,IAAO活性在根原基诱导期缓慢升高,降解了部分IAA,使IAA含量较低以有利于根原基的形成。在根原基形成后的突破表皮期间需要较高的IAA含量。因此,PPO活性降低以减少“IAA-酚酸复合物”的合成量,进而减少了反应底物IAA的需求量;IAAO也在此期间降低了活性,保证了高水平的IAA含量,有利于根原基突破表皮。在根伸长期,PPO活性持续升高,催化形成较多的“IAA-酚酸复合物”以促进根的伸长生长及侧

根的形成;而 IAAO 维持了较低的活性,从而保证了较为稳定的 IAA 水平,满足了根伸长生长的需求。这与 Gaspar 等(1990)发现在诱导最初细胞分裂(根原基发生)之前高水平 IAA 刺激根发生,而低水平的 IAA 才能使根原基得以发育的结论一致。

另外,在牡丹试管苗生根过程中,PPO 活性的变化有利于根原基形成及根的伸长生长,但也造成了试管苗基部出现褐变现象。因此,如何调控 PPO 活性的变化使其既有利于根的形成又能降低褐变现象的发生概率,有待深入研究。

## References

- Bassuk N L, Hunter L D, Howard B H. 1981. The apparent of polyphenol oxidase and phloridzin in the production of apple rooting cofactors. *J Hort Sci*, 56 (4): 313 - 322.
- Chang Yong-jian, Chen Si-wei, Ma Bao-kun, Lü Zeng-ren. 1991. Studies on the relationship between some hormones and adventitious root formation in shoot-tip culture of apple (*Malus pumila* Mill cvs). *Journal of Agricultural University of Hebei*, 14 (4): 1 - 5. (in Chinese)
- 常永健, 陈四维, 马宝琨, 吕增仁. 1991. 苹果茎尖培养中植物激素与不定根形成关系的研究. *河北农业大学学报*, 14 (4): 1 - 5.
- Chen Xiao-lei. 2005. The preliminary research on tissue culture of *Paeonia suffruticosa* [M. D. Dissertation]. Henan: Henan Agricultural University. (in Chinese)
- 陈笑蕾. 2005. 牡丹组织培养的初步研究[硕士论文]. 河南: 河南农业大学.
- Fu Xi-ling, Guo Xian-feng, Kang Xiao-fei, Huang Xue, Xu Yun-qiang. 2009. Effects of IBA on stem cutting and activity of related enzymes during rooting of *Paeonia lactiflora* Pall. *Acta Horticulturae Sinica*, 36 (6): 849 - 854. (in Chinese)
- 付喜玲, 郭先锋, 康晓飞, 黄 雪, 徐云强. 2009. IBA 对芍药扦插生根的影响及生根过程中相关酶活性的变化. *园艺学报*, 36 (6): 849 - 854.
- Gao Zhi-min, Wang Yan, Wang Lian-ying. 2001. The recent development of research on propagation and breeding of peony. *Journal of Beijing Forestry University*, 23 (4): 75 - 79. (in Chinese)
- 高志民, 王 雁, 王莲英. 2001. 牡丹、芍药繁殖与育种研究现状. *北京林业大学学报*, 23 (4): 75 - 79.
- Gaspar T, Moncousin C, Greppin H. 1990. The place and role of exogenous auxins in adventitious formation // Mitter B, Greppin H. Intra and intercellular communications in plant. Reception, transmission, storage and expression of messages. Paris: INRA: 125 - 139.
- Gui Ren-yi, Cao Fu-liang, Shen Hui-juan, Xie Yin-feng. 2003. Effects of polyamine metabolism on endogenous hormone changes during flower formation of *Dianthus chinensis* L. *Journal of Nanjing Forestry University: Natural Sciences Edition*, 27 (4): 27 - 30. (in Chinese)
- 桂仁意, 曹福亮, 沈惠娟, 谢寅峰. 2003. 多胺代谢对石竹试管苗成花中内源激素含量的影响. *南京林业大学学报: 自然科学版*, 27 (4): 27 - 30.
- Gu Yun-jie, Deng Xiao-min, Zhang Jian-kang, Shi Da-xing, Wang Mi-li. 2004. Effects of IBA and NAA on POD and PPO in the development of adventitious root of *Elaeocarpus sylvestris*. *Subtropical Plant Science*, 33 (2): 8 - 9. (in Chinese)
- 辜云杰, 邓小敏, 张建康, 石大兴, 王米力. 2004. IBA 及 NAA 对山杜英组培苗生根过程中 POD、PPO 活性的影响. *亚热带植物科学*, 33 (2): 8 - 9.
- Huang Mei-juan, Huang Hai-quan, Lian Fang-qing, Deng Xiao-mei. 2006. Effects of substance E on rooting and activities of correlative enzymes of *Photinia fraseri* 'Red Robin' in vitro. *Journal of Yunnan Agricultural University*, 21 (2): 297 - 302. (in Chinese)
- 黄美娟, 黄海泉, 连芳青, 邓小梅. 2006. E 物质对红叶石楠“红罗宾”组培苗生根及相关酶活性的影响. *云南农业大学学报*, 21 (2): 297 - 302.
- Li Hang. 2007. Study on factors analysis and rooting of different explants of *Paeonia suffruticosa* in vitro [M. D. Dissertation]. Henan: Henan Agricultural University. (in Chinese)
- 李 航. 2007. 不同牡丹外植体组织培养中因子分析及生根研究[硕士论文]. 河南: 河南农业大学.
- Li Hang, Wang Yong-wei, He Song-lin. 2007. Research progress and prospect of root-inducing of *Paeonia suffruticosa*. *Journal of Anhui Agri Sci*, 35 (12): 3499 - 3513. (in Chinese)
- 李 航, 王永伟, 何松林. 2007. 牡丹试管苗生根研究进展和展望. *安徽农业科技*, 35 (12): 3499 - 3513.
- Li Ming, Huang Zhuo-lie, Tan Shao-man, Mo Xiao-yong, Lin Hai-qiu, Long Teng. 2000. Comparison on the activities and isoenzymes of polyphenol

- oxidase and indoleacetic acid oxidase of difficult and easy-to-root *Eucalyptus* species. *Forest Research*, 13 (5): 493 – 500. (in Chinese)
- 李 明, 黄卓烈, 谭绍满, 莫晓勇, 林海球, 龙 腾. 2000. 难易生根桉树多酚氧化酶、吲哚乙酸氧化酶活性及其同工酶的比较研究. *林业科学研究*, 13 (5): 493 – 500.
- Li Sheng, Wu Ji-ling, Li Wei, Yang De-long, Yang Ning, Cao Zi-yi. 2005. Rooting and changes in endogeneous IAA, ZRs and ABA contents in test-tube plantlets of grape from primary culture and subculture. *Plant Physiology Communications*, 41 (3): 286 – 288. (in Chinese)
- 李 胜, 武季玲, 李 唯, 杨德龙, 杨 宁, 曹孜义. 2005. 初代和继代培养葡萄试管苗的内源 IAA、ZRs 和 ABA 含量变化及其与生根的关系. *植物生理学通讯*, 41 (3): 286 – 288.
- Liu Hui-chao, Jia Wen-qing. 2010. Establishment of plantlet regeneration system of tree peony through lateral buds cutting and carving. *Acta Horticulturae Sinica*, 37 (9): 1471 – 1476. (in Chinese)
- 刘会超, 贾文庆. 2010. 应用侧芽平切刻伤方法建立牡丹植株再生体系. *园艺学报*, 37 (9): 1471 – 1476.
- Qi Yong-shun, Zhang Zhi-hua, Wang Tong-kun, Du Guo-qiang, Zhang Jing-zheng. 2009. Changes of endogenous hormones in adventitious root formation in soft-wood cuttings of autotetraploid grape Muscat Hamburg. *Acta Horticulturae Sinica*, 36 (4): 565 – 570. (in Chinese)
- 齐永顺, 张志华, 王同坤, 杜国强, 张京政. 2009. 同源四倍体玫瑰香葡萄嫩枝扦插不定根发生过程中内源激素的变化. *园艺学报*, 36 (4): 565 – 570.
- Song Shi-ren, Wang Hua. 2005. The effect of polyphenol content polyphenol oxidase activity on rooting of tissue cultured seedlings in *Vitis* L. *Journal of Agricultural Biotechnology*, 21 (9): 70 – 73. (in Chinese)
- 宋士任, 王 华. 2005. 葡萄多酚含量和多酚氧化酶 (PPO) 活性与组培苗生根关系的初步研究. *农业生物技术科学*, 21 (9): 70 – 73.
- Wang Qing-min, Peng Wei-xiu, Zhang Jun-pei, Pei Dong. 2006. Histological and hormonal characters during the rhizogenesis of *in vitro* walnut shoots. *Acta Horticulturae Sinica*, 33 (2): 255 – 259. (in Chinese)
- 王清民, 彭伟秀, 张俊佩, 裴 东. 2006. 核桃试管嫩茎生根的形态结构及激素调控研究. *园艺学报*, 33 (2): 255 – 259.
- Wang Yong-wei. 2008. The preliminary research on rooting culture of *Paeonia suffruticosa in vitro* [M. D. Dissertation]. Henan: Henan Agricultural University. (in Chinese)
- 王永伟. 2008. 牡丹试管苗生根培养初步研究[硕士论文]. 河南: 河南农业大学.
- Xu Gui-juan. 2002. Studies on micropropagation of Chinese tree peonies (*Paeonia suffruticosa* Andr.) [M. D. Dissertation]. Beijing: Beijing Forestry University. (in Chinese)
- 徐桂娟. 2002. 牡丹组培快繁技术的研究[硕士论文]. 北京: 北京林业大学.
- Yao Yong-hong, Wu Quan, Li Zhong-lin, Deng Zu-ling, Peng Ping, Liu Yi-qing, Meng Yuan-xiang. 2005. Dynamics of endogenous hormones and soluble sugars in tea cutting wood during rooting. *Journal of Southwest Agricultural University: Natural Science*, 27 (6): 795 – 798. (in Chinese)
- 姚永宏, 吴 全, 李忠林, 邓祖玲, 彭 萍, 刘奕清, 孟元祥. 2005. 茶树插穗生根过程中内源激素动态变化. *西南农业大学学报: 自然科学版*, 27 (6): 795 – 798.
- Zeng Duan-xiang, Yin Wei-lun, Zhao Xiao-qing, Wang Hua-feng. 2006. Regulation of phytohormones on root primordium initiation and adventitious root formation in the etiolated shoots of *Paeonia suffruticosa* ‘Yinfen Jinlin’. *For Stud China*, 8 (4): 87 – 91.
- Zhang Zhi-liang, Qu Wei-jing. 2003. The experimental guide for plant physiology. Beijing: Higher Education Press. (in Chinese)
- 张志良, 瞿伟菁. 2003. 植物生理学实验指导. 北京: 高等教育出版社.
- Zhang Zi-xue, Ding Wei-qun, Shi Wei-jing, Liu Xiao-long, Hou Zhao-hui. 2004. Study on tissue culture for Fengdan peony. *Research and Practice of Chinese Medicines*, 18 (1): 18 – 21. (in Chinese)
- 张子学, 丁为群, 时惟静, 刘晓龙, 侯朝晖. 2004. 凤丹组织培养研究. *现代中药研究与实践*, 18 (1): 18 – 21.