

# Effect of Different Culture Medium Formulas on *Dendrobium loddigesii* Rolfe Root Culture

Lu Zhou, Guoqing Luo, Feng Yang, Jianhua Wang, Zibu Wang\*

College of Chemistry and Life Science, Guizhou Normal College, Guiyang Guizhou  
Email: [2609151292@qq.com](mailto:2609151292@qq.com), [\\*xjshz\\_2008@sina.com](mailto:xjshz_2008@sina.com)

Received: Feb. 20<sup>th</sup>, 2015; accepted: Mar. 6<sup>th</sup>, 2015; published: Mar. 9<sup>th</sup>, 2015

Copyright © 2015 by authors and Hans Publishers Inc.  
This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).  
<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## Abstract

**Objective:** The effect of different culture medium formulas on *Dendrobium loddigesii* root culture was studied to provide theoretical basis for the standardization production. **Method:** We investigated the effect of media components on the induction of shoot regeneration for different types of explants to research the effect on taking root for *Dendrobium loddigesii*. **Results:** The media components have a great influence on taking root. And 1/2 MS medium can obviously promote rooting. And with the increasing of NAA, the rooting rate rises. But when the NAA increased to 0.7 mg/L, and the rooting rate reached 86% and then increased again, there will be a slow growth with the leaves turning yellow. **Conclusion:** The best culture medium formula is 1/2 ms + 0.7 mg/L NAA for *Dendrobium loddigesii* to take root and grow.

## Keywords

Dendrobium Stem, Tissue Culture, Root Growth, *Dendrobium loddigesii* Rolfe

# 不同培养基配方对美花石斛生根培养的影响

周 路, 罗国庆, 扬 风, 汪建华, 王自布\*

贵州师范学院化学与生命科学学院, 贵州 贵阳  
Email: [2609151292@qq.com](mailto:2609151292@qq.com), [\\*xjshz\\_2008@sina.com](mailto:xjshz_2008@sina.com)

\*通讯作者。

收稿日期：2015年2月20日；录用日期：2015年3月6日；发布日期：2015年3月9日

## 摘要

目的：为美花石斛种苗的规模化生产提供理论依据。方法：以将继代培养的美花石斛长至0.2~0.6 cm左右的丛生芽分割外植体，分别转入不同的培养基中。研究MS培养基浓度，激素(NAA)浓度对美花石斛组培苗生根的影响。结果：MS培养基的浓度对美花石斛组培苗生根影响较大，组培苗在1/2 MS培养基中有明显的促进作用。在培养基中添加激素(NAA)对美花石斛组培苗生根有很大的促进作用，随着激素(NAA)浓度的增加，组培苗生根率越高，当NAA增加到0.7 mg/L时达到86%，再增高会出现生长缓慢，叶变枯黄。结论：当培养基配方为1/2MS + 0.7 mg/L时，美花石斛组培苗生根及生长效果最佳。

## 关键词

石斛，组织培养，生根培养，美花石斛

## 1. 引言

美花石斛(*Dendrobium loddigesii*)为兰科多年生草本植物。在《本草经》中，石斛就已被列为上品，也是我国栽培历史悠久的兰科植物之一[1]。作为中药有很高的药用价值。《本草纲目》中，李时珍认为石斛为“本经上品，甘、淡、微咸。主治：伤中，除脾下气，补五脏虚劳羸瘦强阴益精”[2]。美花石斛的野生资源有限，传统的种子播种繁殖率也不高，属于我国三级濒危保护植物，自然繁殖难以大量化[3]。目前以石斛加工而成的各类药品及滋补品走销市场，加之石斛对生长条件的苛刻，导致野生石斛遭到掠夺性的采摘，数量急剧减少。由于石斛的栽培一直存在存活率低，产量低，进入盛产期年限长的问题，因此，石斛药源一直处于紧张状态，急需解决[4]。因此，在组培苗培养中组培苗的生根率尤为重要。本研究选择生长一致的无菌丛生芽，研究不同培养基浓度以及不同激素浓度对美花石斛的组培苗生根影响，以确定最适生根培养基配方，为下一步美花石斛组培苗的移栽成活提供基础保证。

## 2. 材料与方法

### 2.1. 实验材料

美花石斛来自贵州师范学院生物实验室经过初代、继代培养的丛生芽。

### 2.2. 实验方法

#### 2.2.1. 实验材料的选择处理与接种分组

实验材料选择经过初代、继代培养的0.2~0.6 cm的丛生芽，长势基本一致。接种于各组别的培养基上。实验分组分为3个大组，每个大组设置6个不同培养基配方编号，每个培养基编号可设置15个培养瓶，一个培养瓶中接入一颗丛生芽进行诱导生根培养。

#### 2.2.2. 培养基的配方筛选

本实验采用MS培养基为基础培养基，设置(1/4MS、1/2MS、3/4MS)一系列培养基，再添加一系列具梯度的激素(NAA)浓度(0~0.9 mg/L)。以上培养基蔗糖均为3%，琼脂均为1%。以上培养基均用0.2 mol/L的HCL或NaOH来调节PH值为5.8~6.2。培养基采用高压蒸汽灭菌，在0.1~0.15 Mpa压强(120℃~125℃)下保持15~30 min。如(表1)设置了18种不同的培养基配方，在随后每周观察并记录组培苗的生根情况以

及生根数量。

### 2.2.3. 培养器皿

采用 250 ml 的玻璃培养皿，装入 20 ml 左右的培养基，用配套的塑料盖盖好。

### 2.2.4. 培养条件

组培室中培养箱培养，培养温度  $23^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ ，光照强度 1500~2000 lx，光周期为 12/12 h。

## 3. 结果与分析

### 3.1. 以 1/4MS 培养基为基本培养基的不同激素(NAA)浓度对美花石斛组培苗生根影响的结果分析

由表 2 可以看出，以 1/4MS 为基本培养基培养的美花石斛组培苗生长情况不是很理想，且生根率也不是较高，平均根数从 1.1 到 2.2，根平均长度从 0.6 cm 到 1.41 cm。生根率随着激素(NAA)的浓度增加而上升，但当激素浓度到达 0.9 mg/L 时，叶芽出现枯黄，表明最适 NAA 浓度在 0.7 mg/L 时到达峰值。

### 3.2. 以 1/2MS 培养基为基本培养基的不同激素(NAA)浓度对美花石斛组培苗生根影响的结果分析

由表 3 可以看出，1/2MS 培养基对美花石斛组培苗的生根有显著的影响，生根率也比较理想，随着激素(NAA)浓度的增加，美花石斛组培苗的生根数量与生根率越来越好，在 NAA 浓度为 0.7 mg/L 时，组培苗平均根数为 3.9 颗，根平均长度为 4.55，生根率为 86%，生长状况较好。随着 NAA 浓度的继续增加，到达 0.9 mg/L 时，虽然生根率等一系列指标比较理想，但组培苗叶面枯黄，不是实验的理想结果。因此，以 1/2MS 为基本培养基的最适激素(NAA)浓度为 0.7 mg/L。

### 3.3. 以 3/4MS 培养基为基本培养基的不同激素(NAA)浓度对美花石斛组培苗生根影响的结果分析

由表 4 可以看出，以 3/4MS 为基本培养基对美花石斛组培苗的影响较 1/4MS，1/2MS 培养基更加不是理想，整个美花石斛组培苗生长缓慢，长出的根即细小又短小，长出的根的平均长度、平均根数都比较不为理想。不能符合移栽使用。整个生根率也很差，同样有个问题为当 NAA 浓度达到 0.9 mg/L 时，组培苗的叶、芽会出现枯黄情况。

### 3.4. 实验结果总论

通过以上三种 MS (1/4MS、1/2MS、3/4MS)培养基以及不同激素(NAA)浓度的不同对美花石斛组培苗进行分组培养，一周后均出现白点生根。但在 3 周过后，生长以及生根情况出现明显的差异。在一定条件下，低浓度的无机盐对美花石斛组培苗的生长有促进作用，激素(NAA)随浓度的增加对美花石斛组培苗生根有促进作用。以 1/2MS + 0.7 mg/L NAA 为最佳培养基，此时，美花石斛组培苗的平均根数、根平均长度以及生根率都是最好的。

## 4. 讨论

我国石斛组培研究起步较晚，直到 1984 年，徐云鹤等[5]首报道获得霍山石斛试管苗随后对石斛资源，生物学特性，进行组织培养及栽培驯化等方面进行了大量的研究。2004 年以卢文芸[6]等人以美花石斛的茎段作为外植体进行培养，通过形成丛生芽的形式快速繁殖试管苗，改变了过去通过原球茎途径进行繁殖的方式，简化了操作步骤。美花石斛对生长环境的要求比较苛刻，在工厂化生产讨论结果也只有 53.6%。2012 年，云南省德宏热带农业科学研究所[7]，研究的以美花种子无菌播种繁殖技术也没有得到较大的收益。说明终止的繁殖对于石斛的培养是得不到较好的发展。石斛为合轴生长(sym-podial)，分株是人工繁殖的主要形式，故繁殖系数低，且在通常情况下生长慢，成为发展较慢的主要原

**Table 1.** 18 kinds of culture medium formulas  
**表 1.** 18 种培养基配方

| 组别 | 培养基号 | 培养基配方          |
|----|------|----------------|
| 1  | S1   | 1/4MS          |
|    | S2   | 1/4MS + 0.1NAA |
|    | S3   | 1/4MS + 0.3NAA |
|    | S4   | 1/4MS + 0.5NAA |
|    | S5   | 1/4MS + 0.7NAA |
|    | S6   | 1/4MS + 0.9NAA |
| 2  | S1   | 1/2MS          |
|    | S2   | 1/2MS + 0.1NAA |
|    | S3   | 1/2MS + 0.3NAA |
|    | S4   | 1/2MS + 0.5NAA |
|    | S5   | 1/2MS + 0.7NAA |
|    | S6   | 1/2MS + 0.9NAA |
| 3  | S1   | 3/4MS          |
|    | S2   | 3/4MS + 0.1NAA |
|    | S3   | 3/4MS + 0.3NAA |
|    | S4   | 3/4MS + 0.5NAA |
|    | S5   | 3/4MS + 0.7NAA |
|    | S6   | 3/4MS + 0.9NAA |

**Table 2.** 1/4MS: the effects of NAA in different concentrations on *Dendrobium loddigesii* Rolfe root culture  
**表 2.** 1/4MS: 不同激素(NAA)浓度对美花石斛组培苗生根的影响

| NAA 浓度(mg/L) | 苗数(颗) | 平均根数(颗) | 平均长度(cm) | 生根率(%) | 生长状况                   |
|--------------|-------|---------|----------|--------|------------------------|
| 0            | 15    | 1.1     | 0.60     | 13.3   | 生长缓慢, 根细短, 生根率较小。      |
| 0.1          | 15    | 1.1     | 0.95     | 33.3   | 生长缓慢, 根细短, 生根率较小。      |
| 0.3          | 15    | 1.4     | 1.00     | 40.0   | 生长缓慢, 根细短, 生根率较小。      |
| 0.5          | 15    | 1.6     | 1.35     | 53.3   | 生长缓慢, 根粗短, 生根率较小。      |
| 0.7          | 15    | 1.9     | 1.40     | 60.0   | 生长一般, 根粗短, 生根率一般       |
| 0.9          | 15    | 2.2     | 1.41     | 66.7   | 生长一般, 根粗短, 生根率一般, 叶枯黄。 |

因[8]。

## 5. 结论

美花石斛组培苗适宜的生根培养基为 1/2MS + 0.7 mg/L NAA。培养基蔗糖、琼脂加入量分别为 3%、1%，适宜的培养基 PH 为 5.8，适宜光照强度为 2000 lx，适宜光周期为 12/12 h。培育出的组培苗生长健壮，生根数较好，生根率最高，可进行移栽。

**Table 3.** 1/2MS: the effects of NAA in different concentrations on *Dendrobium loddigesii* Rolfe root culture  
**表 3.** 1/2MS: 不同激素(NAA)浓度对美花石斛组培苗生根的影响

| NAA 浓度(mg/L) | 苗数(颗) | 平均根数(颗) | 平均长度(cm) | 生根率(%) | 生长状况                      |
|--------------|-------|---------|----------|--------|---------------------------|
| 0            | 15    | 1.0     | 0.88     | 26.6   | 生长缓慢, 根细短, 生根率较小。         |
| 0.1          | 15    | 1.5     | 1.26     | 40.0   | 生长缓慢, 根细短, 生根率较小。         |
| 0.3          | 15    | 2.2     | 1.82     | 46.6   | 生长一般, 根细短, 生根率一般。         |
| 0.5          | 15    | 2.6     | 2.25     | 60.0   | 生长一般, 根粗长, 生根率一般。         |
| 0.7          | 15    | 3.9     | 4.55     | 86.6   | 生长较快, 根粗长, 生根率高, 茎段好, 叶茂。 |
| 0.9          | 15    | 3.9     | 4.50     | 86.6   | 生长较快, 生根率也高, 但叶变枯黄。       |

**Table 4.** 3/4MS: the effects of NAA in different concentrations on *Dendrobium loddigesii* Rolfe root culture  
**表 4.** 3/4MS: 不同激素(NAA)浓度对美花石斛组培苗生根的影响

| NAA 浓度(mg/L) | 苗数(颗) | 平均根数(颗) | 平均长度(cm) | 生根率(%) | 生长状况                    |
|--------------|-------|---------|----------|--------|-------------------------|
| 0            | 15    | 1.0     | 0.25     | 0.07   | 生长缓慢, 根细短, 生根率较小。       |
| 0.1          | 15    | 1.0     | 0.57     | 26.7   | 生长缓慢, 根细短, 生根率较小。       |
| 0.3          | 15    | 1.0     | 0.74     | 26.7   | 生长缓慢, 根细短, 生根率较小。       |
| 0.5          | 15    | 1.2     | 1.01     | 40.0   | 生长缓慢, 根细短, 生根率较小。       |
| 0.7          | 15    | 1.3     | 1.10     | 46.7   | 生长缓慢, 根细短, 生根率较小。       |
| 0.9          | 15    | 1.2     | 1.05     | 46.7   | 生长缓慢, 根细短, 生根率较小, 叶变枯黄。 |

## 基金项目

贵州省科技厅项目(黔科合 J 字[2013]2246 号); 贵州师范学院博士启动基金项目(12BS028)。

## 参考文献 (References)

- [1] 苏敬 (1957) 新修本草. 上海卫生出版社, 上海, 162(6).
- [2] 李时珍 (1977) 本草纲目(校点本). 人民卫生出版社, 北京, 1383(2).
- [3] 毛秀华, 金家兴, 刘易作, 等 (2004) 环草石斛种子萌发培养的研究. *贵州农业科学*, **3**, 48-49.
- [4] 曾宋君, 程式君 (1996) 石斛的试管苗快速繁殖. *中药材*, **10**, 490-491.
- [5] 徐云鹤, 子立文 (1984) 霍山石斛种子试管苗培养. *植物生理学通讯*, **4**, 35-36.
- [6] 卢文云, 张宇斌, 唐金刚, 等 (2004) 环草石斛(*D. loddigesii* Rolfe)快速繁殖研究. *贵州师范大学学报(自然科学版)*, **4**, 15-18.
- [7] 耿秀英, 李泽生 (2012) 美花石斛种子无菌播种繁殖技术. *中国热带农业*, **4**, 36-42.
- [8] 张明, 夏鸿西, 朱利泉, 等 (2000) 石斛组织培养研究进展. *中国中药杂志*, **6**, 323-326.