

第四章 結論

為了將延胡索開發為台灣生藥資源，本研究進行延胡索癒合組織之誘導、懸浮細胞之建立及體胚苗大量繁殖等研究，並探討添加有機添加物對於 tetrahydropalmatine 及 corydaline 含量之影響，希望藉由此技術開發，產生可預測、一致性且穩定之結果，以量產藥用成分提供市場所需。茲將試驗結果摘錄如下：

一、癒合組織之誘導

以塊莖為培植體，培養於全量 MS 基本鹽類，添加 3% sucrose, 0.9 % Difco agar, 1 mg/L 2,4-D，暗培養環境下，30 天繼代培養一次，可誘得細胞色澤及質地最佳的癒合組織。

二、懸浮細胞之建立

以初體積 1 ml 之懸浮細胞（總體積為 25 ml），培養於 MS 基本鹽類，添加 3% sucrose, 1mg/L 2,4-D，100 rpm 震盪速度，10 $\mu\text{E}/\text{m}^2\text{s}$ 光照強度下，培養 28 天可達最大的 PCV 值且細胞質地佳的懸浮細胞。

三、大量繁殖之研究

(一)體胚之誘導及發育

將 100 mg 癒合組織培養於 MS 基本鹽類，添加 3% sucrose, 0.5 mg/L kinetin，30 天光照培養，可獲得最多的體胚，再培養於 0.1mg/L zeatin-riboside 液體培養基，100 rpm 之速度震盪培養 15 天後之體胚苗，培養於 1 及 2 mg/L ABA 可再誘導體胚的產生，當移至 0.1 mg/L GA₃ 之液體培養基培養 15 天，體胚苗轉化率高達 80%，幼苗的根及子葉生長最佳。

(二)塊莖的形成及植株的健化。

以 0.1 mg/L GA₃ 液體培養基培養 15 天後形成的植株，培養於 1/2 X MS

及 6% sucrose，可誘得約 57% 的塊莖，將具有直徑約 0.5 cm 塊莖之植株，接種於全量 MS，3% sucrose 及 0.2% Gelrite，光照下培養，培養 4-6 個月後，將組培苗取出移植於栽培介質（蛭石：泥炭土 = 1:1）中，植株存活率高達 82%。

四、延胡索體胚內部組織及外部形態之觀察

利用石臘切片及掃描式電子顯微鏡 (SEM) 觀察體胚內外部的形態，將體胚苗培養於 2 mg/L ABA，處理 15 天後，體胚苗之子葉及根連接處，有表皮胚性細胞由垂周分裂轉變為平周分裂，下表皮細胞有液泡；培養一個月，顯示已形成球型期且具有胚柄及胚性細胞團的體胚；五個星期後，體胚苗未經過癒合組織的階段直接形成體胚；二個月之後已具有完整之子葉、維管束及根原細胞。將體胚移至 MS 基本鹽類，添加 0.1 mg/L GA₃ 之液體培養基，可轉化為體胚苗。體胚苗於 MS 基本鹽類之固體培養基，不添加任何植物生長調節劑，培養四個月後，植株有花芽及塊莖的形成；因此利用 ABA 處理可大量且同步性的產生體胚。

五、延胡索組織培養產生延胡索甲素 (corydaline) 及延胡索乙素 (tetrahydropalmatine) 之含量比較

(一)MS 基本鹽類，3% sucrose，0.9% Difco agar，添加 1 mg/L 2,4-D，暗培養 30 天之癒合組織，經冷凍乾燥後以 HPLC 偵測，可獲得高含量的 corydaline 及 tetrahydropalmatine；添加有機添加物方面，以 10 mg/L tyrosine 有益於 corydaline 及 tetrahydropalmatine 含量的提升，而添加水解酪蛋白、蛋白及椰子汁皆不利於有效成分的產生。

(二)懸浮細胞於 10 μE/m²s 光照及 100 rpm 轉速之環境下培養，培養 12 天 corydaline 之產量最多，而 tetrahydropalmatine 之

產量則以培養 24 天時為最多。

(三)植株接種於 1/2 X MS, 6% sucrose , 添加 0.5-5 mg/L ABA 處理, 可獲得較佳的 corydaline 及 tetrahydropalmatine 含量; 而 0.1 mg/l GA₃ 處理六個月後之塊莖使 corydaline 及 tetrahydropalmatine 成分明顯增多。