

中文摘要

延胡索 (*Corydalis yanhusuo* W.T. WANG) 為 Fumariaceae (紫堇科) 紫堇屬 (*Corydalis*) 多年生草本植物，為大陸野生之重要藥用植物，臺灣無自產之原植物，現今延胡索藥材皆仰賴進口以供市場所需。利用組織培養技術進行大量繁殖，進而透過細胞培養生產其二次代謝產物，經 TLC 與 HPLC 分析其有效成分 corydaline (COR) 與 tetrahydropalmatine (THP) 在癒合組織中之含量，再建立其細胞懸浮培養；其次建立擬胚化培養，經由體胚之誘導，植株塊莖的形成，建立快速繁殖途徑，希望藉由此技術之開發，量產藥用成分提供醫藥市場所需。本研究結果如下：(1)以塊莖為培植體，培養於 MS 基本鹽類培養基，添加 2 mg/L BA, 1 mg/L 2,4-D, 3 % sucrose 及 0.9 % agar, 於暗培養下，癒合組織誘導率 100 %，癒合組織的鮮重達最佳。(2)癒合組織於接種後 7-9 天開始生長，第 12 天進入指數生長期，旋即快速增殖，至 32 天達最高峰，增重約 8-10 倍量。繼代培養以第 26-30 天之生長穩定時最適宜。(3)癒合組織培養於 MS 基本鹽類，添加 5-10 mg/L tyrosine, 3% sucrose 及 0.9% agar, 有利於癒合組織之生長，且有效提高 COR 與 THP 之含量。(4)照光培養使癒合組織的增殖速度較暗培養慢，但有稍微提高 COR 與 THP 之含量，同時照光下使癒合組織有紅點產生，導致有體胚分化的趨勢。(5)癒合組織培養於 MS 基本鹽類，3% sucrose, 0.9% agar, 添加 1 mg/L 2,4-D, 暗培養之癒合組織，其色澤鮮黃、質地均一且增殖快速，可供建立細胞懸浮培養之用。(6)癒合組織培養於 1 mg/L 2,4-D, 3% sucrose 之液體培養基，以 10 $\mu\text{E}/\text{m}^2\text{s}$ 光照強度，25 \pm 1 及 80-120 rpm 轉速下培養，每二週繼代培養一次，可得分散均勻且生長良好之懸浮細胞。(7)癒合組織培養於 0.5 mg/L kinetin, 於光照下培養，可誘得更多的體胚；但長期繼代培養的癒合組織不利於體胚的分化。(8)體胚苗培養於 2 mg/L ABA 的培養基中，

可獲得較多發育正常的體胚苗；將體胚苗移至 0.1mg/L GA₃ 培養基，體胚苗轉化率高達 80 %。(9)體胚苗接種於 1/2 MS, 6% sucrose, 0.9 % agar 之培養基，培養 1-2 個月後，可獲得具有塊莖之植株。將此植株培養於全量 MS, 3% sucrose, 0.2 % gelrite 之培養基，培養 2-4 個月，其塊莖約 0.7-1.2 cm 長，且約有 5% 植株開花。(10)將培養 4-6 個月的植株，移植於泥炭土：蛭石 (1:1) 混合之培養土，置於照光 12-14 小時之溫室，經二個月後調查有高達 82% 的存活率。(11)培養基添加 5-10 mg/L tyrosine，有利於癒合組織之生長且有效提高 COR 與 THP 之含量。(12)體胚苗接種於 1/2 MS, 6% sucrose, 0.9 % agar，並添加不同化學藥劑之培養基，有助於生產高品質的塊莖及提高 COR 與 THP 的含量。