

編號：CCMP97-RD-102(2-2)

一年生中藥材台灣 GAP 生產模式 之建立與評估(2-2)

陳世雄

明道大學

摘要

台灣中藥市場對半夏藥材之需求量相當大，雖有半夏原生植物，但素來極少開發研究利用，產量不足供應台灣市場使用，以往皆依賴中國大陸進口供應；但材料來源的真偽與品質常有疑慮。目前我國所用半夏及北柴胡藥材，皆自中國進口為主，臺灣並未生產。近年來由於許多傳染病細菌病毒對於抗生素等藥劑，逐漸產生嚴重抗藥性，使此類疾病蔓延更迅速，範圍更廣闊，未來疫情也可能更加劇。預測未來全世界對半夏及北柴胡等具抗菌、抗病毒類中藥材之需求，將更為殷切。於台灣建立這些藥材 GAP 栽培模式，生產品質穩定均一的優良藥材，應為當務之急。因此，本研究利用組織培養量化技術與細胞內粒線體 *matK* 基因序列為分子標誌，以建立半夏 GAP 栽培之優良健康種苗，並探討半夏與其他天南星科植物間遺傳親源性之關係。另一部份以植物細胞粒線體 *matK* 基因來比較半夏及其他天南星科植物間的親緣關係。以 CTAB 法來萃取植體 DNA，再加入 RNaseA 來除去 RNA 及其他蛋白質，達到純化目的，並以 PCR 放大粒線體基因片段。中藥材半夏及北柴胡 GAP 模式之建立及多元化利用等研究，對於台灣中藥產業之發展，具有指標性與建設性的意義與價值。

本研究計畫在台灣大量選種，繁殖半夏及柴胡正品基原之健康種苗。並篩選重要品種，詳細調查分析其性狀、產量及有效成分。選取適合之繁殖方法與栽培條件，建立台灣半夏及柴胡等藥用植物 GAP 栽培模式。相關成果，將可應用於其他中藥材藥用植物之 GAP 生產栽培。

計畫工作概要 1. 半夏與柴胡之種原蒐集與馴化，以組織切片法與 TLC 鑑定其正品基原，並由其外表形態、性狀與產量進行生育習性調

查。2.半夏及柴胡正品基原之建立組培苗馴化與健康種苗育苗技術。
3.親緣分析與分子標誌基原鑑定技術開發 4.不同品種與栽培條件對半夏與柴胡生長與產量之影響 5. 研究並建立半夏與柴胡有機栽培及優良農業操作模式。

半夏試驗收集有台灣原生半夏 (*Pinellia ternate* (Thunb.) Breit.) 及中國河南半夏 (*Pinellia ternata* (Thunb.) Breit.)等，並進行種原鑑定、種球調查與栽培試驗。半夏種原委由順天堂藥廠代為進行基原鑑定與 TLC 分析，結果顯示，本計畫所收集的台灣原生半夏與中國引種之半夏為正品基原。半夏組織培養方面，根據 Nalawade (2003)等學者之研究建議，半夏之培養基添加 1-15 mg/l BA 與 0.0 - 0.2 mg/l NAA 即可進行增殖與繼代培養。本研究顯示，將半夏接種於 1/2MS+1 mg/l BA 培養基中，培養 6-7 週即可完成 1 個繼代世代。因此，未來可將此技術應用在大量繁殖無病毒之半夏種苗上。台灣半夏栽培之肥培管理，宜混合施用有機肥 4000 Kg/ha 與鉀肥 50 kg/ha 可以獲得高產，單獨施用有機肥亦可獲得高產，若單獨施用化學肥料則產量較低。

柴胡試驗收集有台灣原生高氏柴胡 (*Bupleurum kaoi*) 種苗與種子並引種中國河北北柴胡 (*Bupleurum chinense* DC.) 種子，並進行種子調查、發芽、育苗及栽培試驗。本計畫所收集的高氏柴胡已由農業試驗所確定為正品基原。高氏柴胡之栽培土壤以紅壤最為適宜，其次為砂土與坩土。柴胡耐旱，忌水，栽培時須注意田間排水，避免積水造成根部腐爛。高氏柴胡之肥培管理，宜施用有機肥 4000 Kg/ha 與鉀肥 120-240 kg/ha 可獲得高產。柴胡栽培時間以 2~3 年為宜。

關鍵詞【至少三項】：有機農業、優良農業操作、引種、半夏、高氏柴胡、北柴胡

編號：CCMP97-RD-102(2-2)

Establishment and evaluation for GAP model of annual medicinal herbs in Taiwan (2-2)

Shih-Shiung Chen
Ming Dao University

ABSTRACT

Most materials of *Pinellia ternate* and *Bupleurum chinense* used in Taiwan are imported from China. In the near future, it is predicted that infectious diseases will spread widely and seriously. And thus the demand of medicine for these infectious diseases control would be getting higher. This research will screen these medicinal plants, collect their species origins, select and build the healthy reproducing systems on the basis of certified variety. Analysis of effective components will be conducted. This project aimed to select the traits that suit for local cultivation, and the varieties with high effective components to establish the methods for massive reproduction and Good Agriculture Practice (GAP) models. Furthermore, the model of GAP established will serve as the standard for medicinal herbs production in Taiwan.

This project plan to make mass selection and propagation for the correct and healthy seedling of *Pinellia ternate* and *Bupleurum chinense*. We will screen and select cultivars by their characteristics, yields, and active components investigated. Establishment for the GAP of *Pinellia ternate* and *Bupleurum chinense* will be further application in GAP for other medicinal herbs.

The work in this project including: 1) Collection for the sources of *Pinellia ternate* and *Bupleurum chinense* both from Taiwan and China. Biopsy of tissue and TLC will be applied in authentication. Agronomic

characteristics and yields will be also surveyed. 2) Propagation for the healthy seedlings of *Pinellia ternate* and *Bupleurum chinense*. 3) Tissue culture and mass propagation system for *Pinellia ternate* and *Bupleurum chinense* will be established.

We collected native *Pinellia ternate* (Thunb.) Breit. in Taiwan and China. The authentication for original sources of *Pinellia ternate* was carried out. Field cultivation and experiments for GAP were practiced. We collected stem tuber of *Pinellia ternate* (Thunb.) Breit from Mei-Feng farm of Taiwan University. All the bulbs then transferred to grow in Ming Jien, Nan-Tou County in screen house under 50% shading. The growth of the seedlings are very well. We also collected bulb of *Pinellia ternate* (Thunb.) Breit. from Hoa-Nan province of China. The tissue culture of *Pinellia ternate* (Thunb.) Breit. and succeeding cultivation are conducted. Effect of basal fertilizers and potassium on growth of *Pinellia ternata* (Thunb.) Breitenbach was investigated. The treatment of organic basal fertilizer with 50 kg K₂O /ha gave the highest yield. The mean yield of stem tuber is 10823 kg/ha. The treatment of organic basal fertilizer with 50 kg K₂O /ha showed the highest yield 2974 kg/ha for dry stem tuber of *Pinellia ternate*. It is suggested that for stem yield, the effective part of *Pinellia ternate*, application of organic basal fertilizer with 50 kg K₂O /ha would promised a highest yield.

We collected seeds and seedlings of native *Bupleurum kaoi*. We also collected seeds of *Bupleurum chinense* from Hu-Pei province and seeds of *Bupleurum scorzoerifolium* Wild, from Shih-Chiun province of China. The survey of seeds, germination testing, propagation of seedlings and field cultivation are practiced. Since the low germination rates, special treatment are needed before planting.

The treatment of organic base fertilizer with 120 kg K₂O /ha gave the highest yield of *Bupleurum kaoi*. The mean yield of fresh root is 947 kg/ha. The treatment of organic base fertilizer with 240 kg K₂O /ha showed the highest yield 347 kg/ha for dry root of *Bupleurum kaoi*. It is suggested that for root yield, the effective plant part of *Bupleurum kaoi*., organic base fertilizer with 120~240 kg K₂O /ha would promised the highest yield.

The overall conclusion of this experiment suggests that the successful cultivation of *Pinellia ternate* (Thunb.) Breit. , *Bupleurum chinense* and *Bupleurum kaoi* in organic farming and GAP approaches would be available in Taiwan. Results of this study will be applied to establish the GAP models of medicinal herbs in Taiwan. The achievements of this study will contribute to the localization of medicinal herbs cultivation. The healthy production models will enhance the quality control of medicinal herbal materials and thus a well development to the enterprises of herbal medicine in Taiwan.

Keywords【至少三項】: Organic Agriculture、Good Agriculture Practice、Introduction、*Pinellia ternate* Thunb.Breit.、*Bupleurum kaoi* Liu Chao & Chuang、*Bupleurum chinense* DC. ◦

壹、前言

一、半夏與柴胡

臺灣所用半夏與柴胡中藥材以中國生產之半夏及北柴胡為主。半夏，性味辛溫有毒，體滑性燥。有和胃健脾，補肝潤肺，除濕化痰之功。主治感冒咳嗽濕痰、咽痛、頭眩、嘔吐...等，為治療嘔吐、痰飲的常用中藥。柴胡，性味苦平微寒。有和解表裡、退熱、疏肝解鬱、升舉陽氣的功能。主治感冒發熱、瘧疾、脅肋疼痛、肝氣鬱滯、頭暈目眩、調和經血、經痛..等。半夏與柴胡為治療感冒等症狀常用之中藥，但臺灣並未生產大陸半夏與柴胡等中藥材，目前半夏與柴胡研究皆偏重於藥理與成分分析，對於半夏與柴胡之引種與GAP栽培模式建立及多元化利用則仍有待研究。且近年來大陸藥價持續上漲。因此，於台灣生產栽培半夏與柴胡..等中藥材具有其重要意義與價值。

二、半夏與柴胡有機栽培及優良農業操作模式之建立

有機農法 (Organic farming) 不允許施用任何化學肥料及農藥，以乾淨、無污染的方式生產乾淨品質優良的農產品，對消費者的健康與生態環境保育具有正面意義。「GAP」為Good Agriculture Practice之縮寫，意思是優良農業操作。優良農業操作是為確保農產品的質量，以最合乎自然的耕作生產條件來種植農作物，減少因農業帶來對自然生態的傷害，能適時適地適種，合理使用農業資材 (包括肥料及農藥...等)，並完整記錄生產履歷及嚴格遵守相關規範 (包括生態環境、種源、土壤、水、作物栽培過程、採收、加工、包裝、儲藏、運輸...等規範)，依此原則生產的農業生產過程，即為GAP。有機農業與GAP之差異為有機農業強調完全不施用任何合成化學物質，而GAP則可以合理適當使用農業資材 (包括肥料及農藥..等)，但共同目標皆為保護自然生態，生產自然、健康、安全、衛生的農產品。因此，以有機農法及優良農業操作規範應用於建立中草藥栽培模式，以生產健康自然、質量均一、安全之中草藥，應為未來台灣中草藥產業發展重要生產研究方向。

台灣地處亞熱帶與熱帶氣候的交會處，三千公尺以上的山峰百座，由於特殊的地理位置與地形影響，植物種類相當豐富。但是國人所需的中草藥材九成來自中國，價格與品質無法保持穩定，嚴重影響醫療效果。為保證醫療效果以及管制品質，必須從中草藥的種植開始，也就是建立中草藥的優良農業操作 (Good Agriculture Practice; GAP) 生產規範。篩選優良基原植物，探討影響生產潛力及品質的關

鍵條件，如土壤的理化及生物特性、施肥種類及田間管理技術等，開發一系列應用於中草藥之栽培技術，期望在短時間內生產大量高品質及高有效成分的藥草原料，同時阻絕重金屬、化學肥料及農藥殘留的污染。

明道大學與中興大學農資院農業試驗場積極合作研究中草藥有機栽培與優良農業操作模式之建立。中興大學農資院農業試驗場位於霧峰，佔地18公頃，多年來均施行有機栽培的田間操作方法，不施用任何化學農藥與化學肥料。生產的作物種類繁多，包括有機稻米、有機香蕉、紅龍果、以及有機蔬菜等，為完全使用有機栽培的農場，近年來並成功栽植有機板藍根、大青葉、有機紫錐菊..等藥材。未來擬繼續以本場做為台灣地區中草藥有機栽培及GAP栽培示範農場，提供從事中草藥栽培工作者建立有機農法模式，熟悉有機操作技術，生產健康無污染之中草藥原料。

三、半夏與柴胡之引種與繁殖

引種 (Introduction) 由其他國家或地區引入育種材料。目的在樹立新作物之栽培事業，改良品種與充實育種材料。引種先須由地方品種著手，並考慮氣候之相似性 (盧，1961)。評估為種源保育與利用的前提，評估步驟包括：1.種子繁殖與初步評估。2.系統化的農藝型態特性調查。3.利用大規模篩選選拔性狀。4.精密測試(張，1997)。評估工作必須符合作物改良目標，需評估項目包括:外觀性狀、抗病蟲性、品質性狀、對環境之抗逆性與適應性..等 (蕭，1995)。經過一系列試驗選留下來的材料才能推廣利用。

本研究收集有台灣原生半夏與高氏柴胡及中國半夏、北柴胡與南柴胡種原材料，以進行栽培、基原鑑定、繁殖與相關性狀之評估與調查，並進一步進行GAP栽培試驗與指標成分分析，以期選育出適合台灣栽培之半夏與柴胡品種並建立其優良農業操作規範與模式。

四、半夏微體繁殖與粒線體 *matK* 基因親源鑑定

台灣每年中草藥進口量約有 38,000 公噸，為全球第五大藥用植物輸入國，其中 80% 來自中國(宋，2002)。由中國進口之藥材，經常檢驗不符規定(吳，2004)，原料產地的品質較難以控制。為確保國人健康，培育出優良無污染中草藥及監控品質是極為重要的課題。半夏為天南星科 (Araceae)，半夏屬 (*Pinellia*)，多年生宿根性草本植物。用於鎮嘔、止吐、鎮咳、祛痰、治咽喉痛等 (邱，1973)。目前在台灣對半夏之研究，多為藥理與活性分析，其中藥理試驗顯示半夏所含

成份 1-ephedrine 能鎮咳止吐，另外 homogentisic acid (尿黑酸) 與 3,4-dihydroxybenzaldehyde (3,4-二羥基苯甲醛) 可催吐，methionine (甲硫氨酸) 與 glycine (甘胺酸) 則可以鎮吐(黃, 1989; 鄭, 2002)。台灣本土半夏只有一種，栽培方法欠缺研究與探討。由廖淑櫻調查(廖, 2001) 可得知，台灣半夏商品，約有三分之一是以水半夏代用。

貳、材料與方法

一、半夏與柴胡材料種原蒐集

蒐集半夏與柴胡基原材料，進行植物性狀調查與鑑別，並進行初步栽培試驗。

臺灣地區市場所售半夏與柴胡藥材以中國生產之半夏與北柴胡為主，此外尚有南柴胡。本年度以蒐集材料有台灣原生半夏與高氏柴胡及中國半夏與北柴胡種原材料，分別於明道大學校區、中興大學北溝農場及名間八卦山台地(海拔 400 公尺) 進行馴化與栽培試驗。

蒐集採料來源分別為：

(一) 半夏材料：

目前已收集的半夏種原分別為：(1) 清境台大梅峰山地農場之台灣原生半夏 (*Pinellia ternate* (Thunb.) Breit.)、(2) 中國醫藥大學中藥資源學系郭昭麟副教授提供台灣半夏、(3) 自中國河南引種之半夏 (*Pinellia ternate* (Thunb.) Breit.) (4) 台灣之土半夏 *Typhonium divaricatum* (L.) Decene.、(5) 水半夏 *Typhonium flagelliforme*(Lodd.) Blume、(6) 掌葉半夏 *Pinellia pedatisecta* Schott.、共 6 個不同品種之半夏與其他 14 種天南星科 (Araceae) 植物如：芋、天南星、越南天南星、魔芋、姑婆芋..等。

(二) 柴胡材料：

目前已收集的柴胡種原分別為：(1) 農業試驗所陳威臣博士提供高氏柴胡(*Bupleurum kanoi*)、(2) 由中草藥專家百草谷藥用植物園林德保先生處購得台灣高氏柴胡、(3) 自中國河北引種北柴胡 (*Bupleurum chinense* DC.)、(4) 由中草藥專家何富順先生處購得之 3 年生北柴胡 40 株。以上蒐集之半夏與柴胡種原，將作為種原評估、馴化、採種與栽培研究之材料。

二、半夏與柴胡基原鑑定

A. 植物組織石蠟切片法 (蔡, 1975。由明道大學精緻農業系鍾仁彬助理教授整理)

一、固定 Fixation

F.A.A.固定液：

1. 一般植物組織 Formalin : Acetic acid : 70%EtOH = 5 mL : 5 mL : 90 mL
2. 組培細嫩組織 Formalin : Acetic acid : 50%EtOH = 5 mL : 5 mL : 90 mL

二、脫氣

放入材料後立即以真空脫機進行脫氣，脫氣效果佳者，約 0.5~1 小時；脫氣效果不佳時，可將時間延長至 3~4 小時，原則是氣泡不再產生，材料由浮起變下沉，此時即可取出。注意脫氣時瓶蓋不可關緊，是鬆開而不是打開；脫氣時壓力約維持在 65~70bar 左右。

三、脫水 Dehydration

由材料置入固定液起，固定 12~24 小時後進行脫水。若無法立即脫水，則可將固定液置換為 70%酒精暫時保持。注意固定時間不可太長，易使材料變硬，切片時不易進行。脫水之前先利用 50%酒精洗滌三次，每次間隔十分鐘。

脫水步驟：(共六步驟，可每隔兩小時更換下一步驟，或一天更換一個步驟)

TBA(t-butyl-alcohol)系列脫水

第一步驟：TBA : 95%EtOH : disH₂O = 10 : 40 : 50 mL

第二步驟：TBA : 95%EtOH : disH₂O = 20 : 50 : 30 mL

第三步驟：TBA : 95%EtOH : disH₂O = 35 : 50 : 15 mL

第四步驟：TBA : 95%EtOH : disH₂O = 55 : 45 : 0 mL

第五步驟：TBA : 100%EtOH : disH₂O = 75 : 25(無水酒精) : 0

第六步驟：TBA : 100%EtOH : disH₂O = 100 : 0 : 0

☆ 進行最後一個步驟時，TBA 的量以能蓋過材料為原則，其量不可太多，以利滲蠟後能揮發完全。

☆ TBA 藥品於夏天常為液體應用方便，但於冬天溫度過低時會結晶，使用須注意，可加溫使其溶解再使用。

四、滲蠟

脫水第六步驟完成後，放置 12~24 小時，之後進行滲蠟。將固定瓶內之標籤、材料和 TBA 溶液一起倒入滲蠟瓶。將濾紙剪長方形條狀，其上放入 2~3 塊小蠟塊(舊蠟)，和軟木塞一起塞入滲蠟瓶口，注意濾紙不可露出滲蠟瓶口，然後置入烘箱(溫度設定約攝氏 60 度左

右)，每隔二小時加一次小蠟塊，或一天加一次小蠟塊，共加六次，於最後一次加入時，於兩小時後將軟木塞及濾紙橋取出，脫水最後一個步驟使 TBA 揮發，置於烘箱隔夜至無 TBA 味道，即可進行埋蠟工作。

五、埋蠟

於烘箱中取出滲蠟瓶，並立即將材料從熱蠟中取出，置入已加熱且有熱蠟之埋蠟盒中，當蠟略凝固後，置於冰塊上，使其加速凝固，但不可太早置於冰塊上，以防裂縫產生。待凝固後從埋蠟盒中取出，供切片用。

六、切片

已埋蠟之材料視欲觀察目的修成適當角度之小蠟塊，固定於木塊上，利用轉動式切片機(rotary microtome)切成厚度為 8-10 mm 之連續蠟帶。

七、製片

取放置於 70% 酒精之玻片，以面紙拭境，滴一滴黏著劑(1% gelatin)，塗抹於整個玻片，再加上數滴 3% 福馬林，取出連續蠟帶，整齊排列於其上，在置於加熱器上(加熱器之溫度設定攝氏 35-45 度，和 3% 福馬林一起使用，以利連續拉帶拉平，溫度不可太高—60 度以上，以防蠟溶解)。過夜或待藥品乾後再進行染色，若未乾即進行染色或 3% 福馬林太多均會使材料於染色過程中脫落。

八、染色

可單獨以 Safranin O 染色，但常用為 Delafields hematoxylin and Safranin O 或 fast green and Safranin O 雙重染色。

- 1、二甲苯溶蠟*(溶兩次)————各 10mins
- 2、二甲苯：無水酒精————3mins
- 3、無水酒精———— 3mins
- 4、95% ETOH————3mins
- 5、85% ETOH————3mins
- 6、70% ETOH————3mins
- 7、50% ETOH————3mins
- 8、0.5% Safranin O———— over night
- 9、水洗
- 10、Delafields hematoxylin————40-120sec(test)
- 11、水洗
- 12、50% ETOH————3mins

- 13、70% ETOH—————3mins
 14、85% ETOH—————3mins
 15、95% ETOH—————3mins
 16、1%Fast Green—————40-120sec(test)
 17、以 95%EtOH 洗
 100% ETOH

九、封片

於染色最後一個步驟完成後，一片一片以封片劑 (euparal) 封片，未封之片子仍於染色最後一個步驟之溶液，勿一次取出於抽氣櫃下，時間長易使材料脫水，反之可使染色保持鮮豔。再置入 40°C 下烘乾。

十、光學顯微鏡下觀察，拍照及記錄

*黏著劑 (1%gerlite) 之配製：

向 sigma 公司購買 gerlite 藥品，以水加熱溶解，之後於抽風櫃內加入一滴 phenol，取少量供使用，其餘置入冷凍庫中保存，必要實再加熱溶解供使用之。此藥品配置後於夏天高溫下為液體，冬天低溫下則凝固，使用時，需加熱至 35-40°C 使之溶解，方可使用。

*染劑配置

Delafields hematoxylin：直接向廠商購買

0.5%Safranin O：向 sigma 公司購買暗紅色之粉狀藥品，以 50%酒精配成 0.5% Safranin O，過濾，放置 1-2 天，使其略氧化再使用。材料被染上後，可於酒精中退染，酒精濃度愈高，退染效果愈好。

1%Fast Green：整個過程需在抽氣櫃內進行。向 sigma 公司購買暗紅色之粉狀藥品，以燒杯裝 xylene：100% ETOH=1：1 為溶劑，溶解 Fast Green，攪拌之，燒杯上用 parafilm 封兩層，蓋上培養皿壓住，再蓋上塑膠袋，用橡皮筋封住，至少攪拌一個晚上至 24 小時，一邊過濾一邊攪拌，待過濾完後，即可使用。攪拌過程會部分揮發，故配置用量需較使用量多，一旦配置後需快速使用，否則易揮發而乾掉。

Gelatin (切片時黏貼蠟片) 配置法：

- (1) 定量 100ml 水 (二次水)
- (2) 稱取 1g Gelatin
- (3) Gelatin 1 g 加入 100 ml 水中
- (4) 一邊以磁石攪拌並加熱，以溫度計測量溫度維持其溫度在 30-40°C 之間，約半小時 (30-40mins) (Gelatin 需於微加熱下可溶解)
- (5) 加入 1-2 滴 phenol

(6) 少許倒入使用之瓶中，餘冰入冰箱中 (0°C 貯藏)

PS. Phenol (有毒)，千萬不可接觸至皮膚，會使 DNA 死亡而呈現褐斑。室溫下結晶之 Phenol 隔水加熱並攪拌 (均勻) 至完全溶解取 1-2 滴加入 (5) 使步驟所有過程需於 hood 中進行。

PS. 於 0°C 貯藏後 (凝膠狀)，使用前，先使其回溫，故於回溫後再加熱至 30-40°C 溶解後再使用。

B. 薄層層析法 (TLC) (參考: 行政院藥物食品檢驗局，易混淆及誤用藥材之鑑別 (II); p.241)

1. 檢液之調製：取半夏等生藥粉末各 3g，分別加入乙醇 10ml，超音波震盪 1 小時，過濾，濃縮後定溶至 10ml，供作檢液。

2. 薄層層析條件：

(1) 層析板：Silics gel 60 F₂₅₄

(2) 展開溶媒：n-Butanol:Water:Acetic acid(7:2:1, v/v)

(3) 點注量：各 10 μ l

(4) 展開距離：10cm

(5) 檢出方法：a. 噴 10% H₂SO₄ spray reagent，105°C 加熱 3 分鐘後檢視。

b. 噴 10% 10% H₂SO₄ spray reagent，105°C 加熱 3 分鐘後於 U.V.366nm 下檢視。

半夏與柴胡之組織切片鑑定與薄層層析法鑑定 (TLC)，委由順天堂藥廠必安研究所以其正品基原之生半夏與本研究所蒐集之台灣半夏與中國河南半夏進行比對鑑定。

三、建立組培苗馴化與健康種苗育苗技術

本試驗材料半夏 (*Pinellia ternata* (Thunberq) Breitenbach) 塊莖採集自台大梅峰試驗農場。2007 年 10 月 10 日於南投縣名間鄉假植，以四吋盆種植，每盆土壤重量為 800 g，施用基肥後種植於栽培盆內。2007 年 11 月 2 日盆栽半夏移置明道大學精緻農業學系溫室之育苗床，進行後續實驗。

首先將本土半夏從溫室育苗床取出，並使用次氯酸鈉消毒，進行無菌繁殖。無菌繁殖使用 N01B05 培養基培育出無菌且健康本土半夏試驗體以便於未來試驗。2008 年 8 月 26 日將試驗所需使用之平板培養基全數配妥，而試驗時所使用的平板培養基成分是含 0.1 ppm NAA 的 MS 培養基配方裡分別加入 0.5 ppm、1 ppm 及 2 ppm 不同濃度的 BA、Kinetin、TDZ、2ip 生長激素並觀察其對於本土半夏莖段(約 0.5 cm)

及葉面(約 0.5 cm²)生長情形的影響，而每個平板培養基內均以九重複試驗，每個濃度三重複，並從試驗中得知對於本土半夏生長情形較佳之培養基配方。

柴胡健康種苗育苗技術：將柴胡種子以流水漂洗 24 小時後，以 1~2%次氯酸鈉消毒 3 分鐘後以無菌水進行清洗，再播種於 35 孔之育苗穴盤中，每穴 10~15 粒種子，柴胡種子發芽溫度為 15~18°C (約每年 10 月~2 月)，種子於播種 2~3 週後陸續發芽，發芽 3~4 週後每週施用 N:P:K：20-20-20 之 1000 倍液肥，以促進幼苗生長，約播種 2~3 個月後，再假植到 50~72 孔的穴盤中 (每穴 1 株) 健化 1.5 個月後，再移植到田間定植。

四、親緣分析與分子標誌基原鑑定技術開發

粒線體 *matK* 基因親源鑑定

1. DNA 萃取

以 CTAB 法萃取半夏乾品和鮮品以及其他天南星科植物 DNA，取重 1 公克的植體，先將其剪碎，置入研鉢並加入適量液態氮，將組織研磨成細粉打破植體細胞壁後，加入 4ml β -ME/CTAB 及 0.4~0.5ml CTAB/NaCl 溶液磨勻，倒入離心管內置於 65°C 水浴槽內 60 分鐘，並不時搖晃均勻。取出後先放置室溫 15~30min 待其回溫，以 25°C，12000rpm 離心 10min 後，取出上清液至新的離心管內並加入 phenol/chloroform/isoamyl alcohol(25:24:1)均勻混合約 30 秒後，再以 25°C，12000rpm 離心 10min，取出上層液體至新的離心管，每管容量約 0.5~0.7ml 並加入等量的 isopropanol 溶出 DNA，置於室溫環境中 30min 待其沉澱，再次以 4°C，12000rpm 離心 15min。此時即可看見離心管尖端有 DNA 團粒，將上清液去除，先以 95% 酒精潤洗與保存。

2. DNA 純化

先將 sample 離心管倒置於試管架上將酒精瀝乾，再加入 50 μ l TE buffer 溶解團粒，加入 2 μ l RNaseA 後，置入乾浴機中先以 37°C 加熱 30min，再以 72°C 加熱 5min。

3. 聚合酶連鎖反應

加入 RNaseA 去除樣品中 RNA 以純化 DNA 後，取 Fast-RunTM Taq Master Kit 混合液 10 (5 μ l)、Taq Master Mix(5x, 10 μ l)、*matK* forward primer (1 μ l, 1 μ g/ μ l) 與 *matK* reverse primer (1 μ l, 1 μ g/ μ l)，最後加入 dd-H₂O 至總體積 50 μ l，充分混合後在 PCR 儀器內反應。PCR 反應條件為 denature 94°C，3min；annealing 54°C，40 秒；extension 72°C，1 分。

以上反應40 cycles 之後，再以72°C反應7分鐘，最後保存溫度4°C。此PCR產物以8% TAE gel 電泳確定分子量加入粒線體matK primer開始PCR流程。將樣品加入Loading Dye跑出電泳膠片，完成後將膠片取出放入EtBr染劑中3~5min，再以流水沖退染後，於UV燈光下拍照。

4.matK基因片段之擴增

本計畫利用NCBI基因庫(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)所登錄植物的matK之核苷酸序列，選取10種植物並利用EMBL網站上的ClustalW軟體(<http://www2.ebi.ac.uk/clustalw>)進行多序列比對，找出其保守區域，並分別設計出matK (5'-CGTAAACAGTCTTCTTATTTACG-3')、matKB (5'-TATGTTTACGAGCCA AAGTTCTA-3')專一性引子進行PCR反應。

5.DNA序列之分析

將PCR增幅產物純化並定序後，將序列結果以DNASTAR軟體(Madison, WI, USA)加以分析，計算其與各天南星科間matK序列相似度與親源關係樹狀分析圖。

五、半夏與柴胡之栽培試驗

1.半夏栽培試驗：

本試驗材料為採集自台大梅峰試驗農場之台灣半夏 (*Pinellia ternata* (Thunberg) Breitenbach) 塊莖，並於南投縣名間鄉松柏嶺(海拔 400m) 進行相關栽培試驗，以四吋盆種植，每盆土壤(坵土：泥碳土：珍珠石=2：2：1) 重量為 800 公克。試驗區採逢機完全區集設計試驗設計，每處理 3 重複，每重複 9 盆(4.5 吋盆)，每盆 5 顆半夏塊莖。於栽培 7 個月後(97 年 4 月 24 日調查) 與 13 個月後(97 年 11 月 03 日調查) 後，採收全株進行調查。調查項目包括塊莖鮮重、塊莖乾重、塊莖鮮重產量、塊莖乾重產量、含水百分率、乾物重重百分率..等。塊莖產量以每公頃種植 1200Kg 半夏種莖進行計算。

目前進行中的半夏栽培試驗分別為：

- (1) 半夏不同有機肥施用量試驗：處理分為化學肥對照組與三個有機肥施用量，化學肥對照組施用量為 N:P:K=120-120-120，不同有機肥施用量處理分別為每公頃施用 4000(O4)、8000(O8)、12000(O12) Kg。
- (2) 半夏不同基肥與鉀肥施用量試驗：半夏基肥分別施用成功牌有機肥 501 號 (N-3.5%，P-1.5%，K-1.5%) 36 克及化學肥台肥有機複合肥料寶效 1 號 (N-11%，P-11%，K-11%，含 30% 以

上動物性有機質) 1.8 克，比較有機肥與化學肥料作為基肥，對半夏農藝性狀和產量之影響。不同鉀肥施用量處理分別為每公頃施用 50 kg (K_1)、200 kg (K_2)、450 kg (K_3)。半夏栽培試驗期間有鱗翅目天蛾科銀條斜線天蛾 *Hippotion celerio* 幼蟲與扁蝸牛嚴重危害，天蛾幼蟲以蘇立菌 500 倍防治，扁蝸牛則施用苦茶粕進行防治。

2. 柴胡栽培試驗：

本試驗材料由農業試驗所陳威臣博士提供之高氏柴胡(*Bupleurum kaoi*)種子。於南投縣名間鄉松柏嶺(海拔 400m)進行種子浸種與育苗。試驗區地質為洪土台地堆積層，土類為黃紅色紅壤。試驗區採逢機完全區集設計試驗設計，每處理 3 重複，每重複 18 盆(1 尺盆)，每盆 1 株高氏柴胡。

目前進行中的柴胡栽培試驗分別為：

(1) 柴胡不同鉀肥施用量試驗

每公頃施用有機肥 4000 Kg 作為基肥，再以不同鉀肥施用量處理，施用量分別為每公頃施用 0 Kg (K_1)、120 Kg (K_1)、240 Kg (K_2)、360 Kg (K_3)。試驗區採逢機完全區集設計試驗設計，每處理 3 重複，每重複 18 盆，每盆 1 株高氏柴胡。

(2) 柴胡不同栽培土壤試驗

以 3 種不同介質處理(砂土、坵土、紅壤)進行試驗。試驗區採逢機完全區集設計試驗設計，每處理 3 重複，每重複 24 盆，每盆 1 株高氏柴胡。

於 97 年 10 月 31 日進行調查。調查項目包括株高、葉長、葉寬、分蘗數、莖粗、根粗、根長、鮮重、乾重、鮮重、乾重等。產量以每公頃種植 10 萬株進行計算。

六、以高液相層析法(HPLC)進行半夏與柴胡中藥材之成分分析與比較

為探討半夏與柴胡是否有藥用價值，本計劃擬建立半夏與柴胡 GAP 栽培制度，並探討指紋圖譜及有效活性成份的分離與鑑定，將各種不同種源之半夏與柴胡的根與葉，區別其化學成份，或比較其有效活性成分(如膽鹼(Choline)、氨基丁酸(β -Aminobutyric acid)、柴胡皂苷(Saikoside)的含量)，以作為化學分析上的基原鑑定之用，並作為選種之依據，並期找出具活性指標之藥效成分。以高壓液相層析及液相層析質譜儀進行半夏與柴胡根部之有效成份分析與比較。

1、檢量線製備

將標準品，分別以 methanol 配置成 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 之儲存溶液(stock solution)，置於 0°C 下儲存，在配置檢量線時則個別稀釋至 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，作為工作溶液(working solution)，為達同時分析與快速測定之目的，採取將各標準品以 1:1 的方式混和配置以便於同時測定，以 10、20、50、100、250、500、1000、1500、2000 ng/mL 的濃度，分別配置於標準品溶液中(70% methanol_(aq))，每個濃度在配置時並個別添加 1,000 ng/mL 的內標準品(internal standard)。

2、樣品的製備與萃取：

本實驗將所獲得的各種半夏與柴胡藥材之粉末秤取 1g，置於試管中，之後添加 10mL 之 100% methanol_(aq)，利用超音波震盪萃取 30 分鐘，取上層液，以離心機在 5000RPM 轉速下離心 10 分鐘，取其上層澄清液，最後再添加 methanol_(aq) 定量至 10mL，即完成真實樣品母液之製備 經過濾後即可注射入液相層析儀中。而進行液相層析質譜儀實驗分析時，則再將母液稀釋 50 倍，並添加 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 之內標品後，再以 0.22 μm 孔洞大小(pore size)之注射針過濾膜(syringe Filter)過濾，即可進行全圖譜之分析。

各分劃之製備，為將植物藥材 1 公斤，粉碎後以甲醇或甲醇加水萃取，濃縮後懸浮於水中，再分別以極性由低到高之溶劑，萃取出各個極性的分劃，可送作藥理實驗，同時可進行液相層析。

3.儀器與設備：

- (1)自有高效能液相層析儀 (High Performance Liquid Chromatograph, HPLC): BECKMAN, System Gold, Pump 125 & Diode array Detetor 168 (USA)。
- (2)液相層析質譜儀: LCQTM，配備 ESI 及 APCI 兩種離子源介面，Thermo Finnigan MAT，由國科會貴儀支援。

4.液相層析之實驗部分：

分析方法包括：

(1)液相層析(HPLC)實驗部分：

液相層析條件探討：液相層析之分離條件之探討，包括管柱選擇流動相最佳條件溫度及流速。

(2)液相層析質譜術(LC/MS)實驗部分：

液相層析質譜術之實驗，主要是以電灑游離法來分析，因中藥樣品多為水溶性較高物質，若效果不佳則可考慮改為大氣壓化學游離法分析。

1. 分子離子與斷裂離子之分析偵測

進行質譜分析首先要決定分析物之分子離子，通常使用注射針以低流速直接進樣方式，配合 ESI 介面進行分析。ESI 為一軟性游離法介面，一般只會觀察到質子化分子離子($[M+H]^+$ ，或 $[M+Na]^+$ ，正離子模式)與去質子分子離子($[M-H]^-$ ，負離子模式)，而斷裂離子分析則以直接進樣方式，進行 MS/MS 分析，以觀測分子離子之斷裂行為。斷裂離子除了可作為定性之基礎，並可進一步作為定量之偵測離子。

2. 定量之離子掃描模式

選擇其分子離子或主要斷裂離子作為定量離子，以所得之萃取離子層析圖 (LC/MS 模式)，或以其作為母離子再做其子離子的主要特徵斷裂碎片之萃取離子層析圖 (LC/MS/MS 模式)，將對其面積進行積分，及記錄其層析峰高度。

3. 流動注入分析與質譜條件最佳化

由樣品注射圈注射適當樣品量直接進入質譜分析之方法，通常運用來調校質譜的各個參數，以及動相條件。影響電灑游離法的質譜參數有霧化氣體流速、輔助氣體流速、噴灑電壓、毛細管溫度、毛細管電壓、管口補償電壓，離子入射時間。除此之外，動相條件如：動相流速、動相組成以及動相添加劑也會影響電灑游離法之訊號強度。

4. 層析條件探討

運用質譜儀的高選擇性能力，在液相層析之分離條件探討上，變得相當容易，無須像高效能液相層析技術一般必須將分析物與基質干擾物完全分離，液相層析質譜術僅需進行簡單前處理工作，就能達到分離鑑定與定量之目的。

半夏與柴胡成分分析，由於相關一年期栽培試驗調查，剛於 97 年 11 月初才陸續完成，因此相關材料目前才剛委由相關單位進行成分分析。

七、半夏與柴胡有機栽培及優良農業操作模式之建立

1. 擬定半夏與柴胡之中草藥有機栽培標準作業程序。
 2. 建立半夏與柴胡 GAP 栽培模式。
2. 試驗區已完成土壤與灌溉用水水質之重金屬檢測，符合有機農業法規之標準。

參、結果

一、半夏與柴胡之引種、種原蒐集與基原鑑定

(一)半夏

1.種原蒐集：

目前已收集的半夏種原分別為：(1) 清境台大梅峰山地農場之台灣原生半夏 (*Pinellia ternate* (Thunb.) Breit.)、(2) 中國醫藥大學中藥資源學系郭昭麟副教授提供台灣半夏、(3) 自中國河南引種之半夏 (*Pinellia ternate* (Thunb.) Breit.) (4) 台灣之土半夏 *Typhonium divaricatum* (L.) Decne.、(5) 水半夏 *Typhonium flagelliforme*(Lodd.) Blume、(6) 掌葉半夏 *Pinellia pedatisecta* Schott.、共 6 個不同品種之半夏與其他 14 種天南星科 (Araceae) 植物如：芋、天南星、越南天南星、魔芋、姑婆芋..等。

2.半夏之調查

於 96 年 9 月 17 日與 10 月 4 日至清境台大梅峰山地農場進行台灣半夏之原生地調查與採集。台大梅峰山地農場位於海拔 2100 公尺的高山上，於野外草叢中有零星之半夏族群。主要半夏族群生長於園藝網室之栽培床下，屬於網室入侵式有毒雜草。於栽培床下有 20 多個半夏族群分佈，葉片形狀有所差異。

半夏植物型態為多年生草本 (Fig 2.a)，高 15~30cm。幼苗時葉片常為單葉，卵狀心形 (Fig 2.b)；成熟葉為三叉複葉 (Fig 2.c~d)，小葉卵狀橢圓或長橢圓形，及線狀披針形和種種形狀，全緣，先端尖銳，基部鈍形，小葉長 5~10 (17) cm，3 小葉的會合處具珠芽 (Fig 2.e)，可供繁殖之用。地下塊莖著生 1~2 片葉子，葉柄細長約 10~25cm，葉柄基部內側處亦著生珠芽 (Fig 2.f)，可供繁殖。塊莖球形或扁球形，黃白色，有多數鬚根 (Fig 2.g)。開花之綠色莖稍比葉高，頂端著生肉穗花序 (Fig 2.h)，下部雌花部分長約 1cm，貼生於佛焰苞，其略高 1cm 處，具密著之雄花約 5mm；附屬體長 6~10cm，細柱狀；花藥 2 室，子房具短花柱。漿果卵形 (Fig 2.i)，熟時紅色。花期 5~7 月，果期 6~9 月。

而採集之半夏生長土質為石礫地，且因不同生長區域的土質、光照與水分..等因素之影響，造成原生半夏個體外表形與生長上有明顯差異，而真正原因仍有待後續之相關研究。

3.半夏與土半夏

於“台灣傳統藥典”中，以天南星科 (Araceae) 植物半夏 *Pinellia*

ternate (Thunb.) Breit. 之乾燥塊莖為半夏之正品基原。在大陸常以天南星科植物鞭檐犁頭尖 *Typhonium flagelliforme* (Lodd.)Blume.的塊莖作為半夏之替代品。

鞭檐犁頭尖又稱為水半夏，為少常用中藥，《中國藥典》1977年版收載為天南星科植物鞭犁頭尖 *Typhonium flagelliforme* (Lodd.)Blume.的塊莖。具有燥濕、化痰、止咳的功能。常用於咳嗽痰多、支氣管炎等症之治療。比較半夏、水半夏的藥理活性差異：水半夏毒性較大，鎮咳作用較差。而半夏鎮吐作用較強。根據相關資料顯示，半夏質量優於水半夏，水半夏不宜代半夏使用（童，1999）。而台灣另有民間藥草天南星科植物土半夏 *Typhonium divaricatum* (L.)Decne. 的塊莖及全草容易造成混淆。土半夏植物型態為：多年生草本。幼株葉1~2，葉片深心形、卵狀心形至戟形，長3~5cm，寬2~4cm，多年生植株葉4~8枚，葉柄長20~24cm，基部鞘狀，淡綠色，上部圓柱形，綠色；葉片戟狀三角形，綠色，長約13cm，寬約8cm；中肋2面稍隆起，側脈3~5對，最下1對基出。塊莖近球形、橢圓形，直徑1~2cm，褐色，具環節，節間有黃色根跡，頸部生長1~4cm的黃白色纖維狀鬚根，散生撫凸狀芽眼。花序柄單1，從葉腋抽出，長9~11cm，淡綠色，圓柱形，直立；佛焰苞管部綠色，卵形，長1.6~3cm，粗0.8~1.5cm，簷部綠紫色，卷成長角狀，長12~18cm，盛花時展開，後仰，卵狀長披針形，寬4~5cm，中部以上驟狹成帶狀下垂，先端旋曲，內面深紫色，外面綠紫色；肉穗花序無柄；雌花序圓錐形，長1.5~3mm，粗3~4mm；中性花序長1.7~4cm，下部長具花，連花粗4mm，無花部分粗約1mm，淡綠色；雄花序長4~9mm，粗約4mm，橙黃色；附屬器具強烈的糞臭，長10~13cm，鼠尾狀，近直立，下部1/3具疣皺，向上平滑；雌花子房卵形，黃色，柱頭盤狀具乳突，紅色；雄花雄蕊2，無柄，藥室2，長圓狀倒卵形；中性花線形，兩頭黃色，腰部紅色，長約4mm。漿果卵圓形。種子球形。花期5~7月。

4.半夏之基原鑑定（政院衛生署藥物食品檢驗局，易混淆及誤用藥材之鑑別（II），2006）

來源：本品為天南星科(Araceae)植物半夏 *Pinellia ternate* (Thunb.)Breit. 之乾燥莖。

性狀：本品呈圓球形、半圓球形或偏斜狀，直徑0.8~2cm，外皮有黃色斑點。上部多圓平，有凹陷之黃棕色點為葉芽之殘痕，周圍

密布棕色凹點狀鬚狀根痕，下部鈍圓而光滑，質堅實，緻密，去淨外皮表面白或淺黃色，縱切面腎臟形，潔白，富粉性。

組織：塊莖之橫切面：

- 1.栓皮層 4~6 層，木栓層由 3~5 層木栓細胞形成。
- 2.近木栓層之薄壁細胞含有多數緊密分布之類圓形或橢圓行黏液腔，黏液腔中含有草酸鈣針晶束呈單束或多束，多為單束。
- 3.維管束為不定方向的單韌形及僅為數各導管。
- 4.澱粉粒為單粒，可見現狀、裂縫狀、星狀臍點。
- 5.不具分泌物。

半夏之組織切片鑑定與薄層層析法鑑定，委由順天堂必安研究所以其正品基原之生半夏與本研究所蒐集之台灣半夏與中國河南半夏進行成分比對鑑定。結果顯示本研究所蒐集之台灣原生半夏與中國引種之半夏材料，為正品半夏基原。(Fig 3.、Fig 4.)

(二) 柴胡

1.種原蒐集

目前已收集的柴胡種原分別為：(1) 農業試驗所陳威臣博士提供高氏柴胡(*Bupleurum kaoi*)、(2)由中草藥專家百草谷藥用植物園林德保先生處購得台灣高氏柴胡、(3)自中國河北引種北柴胡(*Bupleurum chinense* DC.)、(4)由中草藥專家何富順先生處購得之3年生北柴胡40株。本研究之高氏柴胡材料已由農業試驗所鑑定為正品柴胡基原材料。

2.柴胡之型態與生育性調查

於 96 年 8 月 21 日將高氏柴胡植株，移至南投名間八卦山台地的栽培試驗田定植。定植之高氏柴胡株高為 15-20cm，種植 2~3 週後高氏柴胡則陸續抽出花苔，花苔抽出 5-6 週後陸續結實。調查高氏柴胡種子千粒重為 1.0g。於 96 年 10 月 29 日自中國引種河北北柴胡種子 985g 及四川南柴胡種子 895g，並調查北柴胡與南柴胡種子大小，其長度約 0.5mm、寬度約 0.27mm，而千粒重則各為 1.0g。於高氏柴胡與北柴胡種子外觀上幾乎沒有差異。因此，在進行柴胡試驗研究時必須相當小心，避免種子混雜。

高氏柴胡植物型態為：多年生草本，高 50~100cm，根黃色，圓錐形，質硬，表面淺棕色，多分枝。莖直立，叢生，上部多分枝，並

呈”之”形彎曲。單葉互生，綠色，廣線狀披針形，全緣，上下均細狹，葉脈數條縱走，長 5~15cm，寬 0.5~1.5cm，根生葉具長柄。複繖形花序，花瓣 5 枚，雄蕊 5 枚，子房下位，花柄 4~10 個，長短不一，花梗 5~10 個；花小，黃色。雙懸果，深灰色或身褐色，長橢圓形，左右扁，上具 5 條明顯的主稜。花期 8~9 月，果期 9~10 月。

二、建立組培苗馴化與健康種苗育苗技術

(1) 半夏之馴化與繁殖技術

1. 原生與引種材料之馴化：將由台大梅峰山地農場蒐集之台灣原生半夏約 4200 株/顆與中國河南引種之半夏，以砂質壤土混和進口泥碳土 (1:1) 之培養土種植，分別種植成 355 盆與 123 盆 (4.5 吋盆) 半夏盆栽。而栽培環境為位於南投名間八卦山台地進行馴化與養球。
2. 組培苗馴化：將半夏組培苗以清洗乾淨後，以免賴得殺菌劑 1000 倍進行殺菌後，種植於裝有泥炭土之育苗盒中進行健化與馴化 2 個月，再移植到 4 吋盆中進行栽培。(Fig 5.)
3. 珠芽育苗技術：將採集之半夏珠芽，播種於 50~72 孔之育苗穴盤中進行育苗，每週施用 N:P:K:20-20-20 之 1000 倍液肥，約 2~3 個月即可移植到田間定植。

(2) 半夏之不定芽增生與繼代培養

1. 半夏不定芽增生：

半夏組織培養瓶苗由中國醫藥大學中藥資源學系郭昭麟副教授提供。於 2007 年 10 月 22 日開始誘導，切取再生之不定芽體大約 1-3 mm 大小，接種於誘導增生培養基 (MS + 0.1 mg/L NAA + 0.5 mg/L BA)，培養一週後芽體抽出小枝條，同時基部形成癒傷組織，二週左右形成間接不定芽發生形態。

2. 半夏繼代培養

半夏組織培養瓶苗由中國醫藥大學中藥資源學系郭昭麟副教授提供。於 2007 年 9 月 14 日開始進行繼代培養，切取其不定芽體，接種於繼代培養基 (1/2MS + 1 mg/L BA)，培養 2~3 週後，產生不定芽；4 週後芽體長出葉芽與根；7 週後長出新的半夏植株，其根系生長旺盛。但部分材料培養至 6~7 週時，會產生褐化，此時需立即進行繼代培養或移植至溫室中進行馴化。

3. 微體繁殖

微體繁殖常用之生長激素類 (Auxin) 有 IAA、IBA、NAA 和

2,4-D，細胞分裂素類（Cytokinin）有BA、Kinetin、2IP、Zeatin，所以植物微體繁殖常將Auxin與Cytokinin兩者混合使用，例如：Auxin/Cytokinin濃度比大於1時，可誘導癒傷組織或使芽體形成根的分化；Auxin/Cytokinin等濃度施用下，可以形成癒傷組織，誘導器官或不定芽分化；Auxin/Cytokinin如濃度比小於1，則會促進癒傷組織形成芽體。所以目前主要進行試驗是為癒傷組織之誘導以及尋求癒傷組織最適宜的生長濃度條件，希望找出此最適濃度，以便後續進行基因鑑定時有優良無菌之健康苗株得以進行試驗。（鄒，2003）

試驗紀錄於一個半月後已有褐化現象產生，而褐化問題普遍存在於植物組織培養，尤其是含較多酚化物質的木本植物。植物組織中褐化造成的原因主要跟含銅的氧化酶有關，這些酵素統稱為多酚氧化酶（polyphenol oxidase）、酚酶（phenolase）及酪胺酸酶（tyrosinase）。當植物體衰老或受傷時，會有大量的酚化物被合成或釋放於組織中，產生的酚化物顏色通常呈暗色或褐色。這些代謝物、酚化物及有毒物質，若對培植體的生長及型態發生不會造成負面的影響，即可不用移除；但有時這些酚化物會影響植物的生長，甚至導致培植體死亡，則必須加以改善、防止褐化的產生。

本試驗每半個月針對再生率、不定芽發生率、芽體發生率及增殖根系進行調查，其中不定芽發生率在此定義為3mm以上。綜合以上得知表二至表五，從中得知表一數據。而從表一中得知不同濃度0.5、1.0及2.0 mg/L搭配四種細胞分裂素BA、Kinetin、TDZ及2ip對半夏莖段與葉片培養不定芽之再生率均有顯著性影響。其中莖段培養不定芽之再生率變化範圍為**75-100%**，分別以0.5 mg/L BA、0.5 mg/L Kinetin有較佳及較差的再生率；葉片培養不定芽之再生率變化範圍為**65.7-94.5%**，分別以2.0 mg/L TDZ、1.0 mg/L 2ip有較佳及較差的再生率（Fig 6.）。

綜合上述得知，生長激素BA對於本土半夏的再生率之影響最佳；而對於不定芽及芽體之發生率則為生長激素TDZ最佳；而生長激素Kinetin及2ip對於半夏微體增殖結果並不顯著。（Table 1.）。

Murashige（1977）指出選擇培植體時須考慮取材部位、培植體大小、培植體之年齡及採樣季節等因子。通常自植物分生組織及生殖器官等細胞分裂旺盛處為培植體，形成癒合組織之能力最佳，如胚、花柄、未成熟子房、幼根及葉柄等都是誘導癒合組織的理想材料，而較成熟的材料則因酚類物質含量較多，易引起褐化死亡（黃、劉，1987；

黃、李，2000)。

於試驗紀錄於一個半月後已有褐化現象產生，而褐化問題普遍存在於植物組織培養，尤其是含較多酚化物質的木本植物。植物組織中褐化造成的原因主要跟含銅的氧化酶有關，這些酵素統稱為多酚氧化酶 (polyphenol oxidase)、酚酶 (phenolase) 及酪胺酸酶 (tyrosinase)。當植物體衰老或受傷時，會有大量的酚化物被合成或釋放於組織中，產生的酚化物顏色通常呈暗色或褐色。這些代謝物、酚化物及有毒物質，若對培植體的生長及型態發生不會造成負面的影響，即可不用移除；但有時這些酚化物會影響植物的生長，甚至導致培植體死亡，則必須加以改善、防止褐化的產生。(蔡，2004)

改善褐化的方法有下列幾點：(George, 1993)

1. 減少培植體損傷

當培植體受傷時，易導致大量酚化物產生而形成褐化現象。將培植體由母體上切離或進行表面消毒時，應避免對培植體造成傷害或使用濃度過高的消毒劑進行表面消毒。

2. 移除酚化物質

(1) 培植體預處理：

經表面消毒後，於無菌操作台內，需以大量無菌水將培植體上的消毒劑沖乾淨，消毒劑的殘留亦是造成褐化的原因之一。在進行培養或繼代前先浸泡無菌水或抗氧化劑，可減少酚化物的含量，也可避免將酚化物帶至新的培養基中。

(2) 繼代培養：

可經由不斷的繼代培養，減少酚化物質累積，但耗費人力且增加成本。繼代培養時間通常以1-7 天繼代一次，但仍以培養狀況及視不同物種而異。於繼代培養時，先切除褐化的部分再進行繼代，對褐化現象也有改善作用。固態培養因酚化物及有毒物質擴散不易，若改以液態培養基進行培養，即能防止褐化物質的累積。

(3) 添加吸附劑：

亦可添加活性碳、PVP (polyvinylpyrrolidone) 等藥品，吸附酚化物質。活性碳主要作用有，阻隔光線、吸附有色物質及抑制物；然而，除酚化物以外，活性碳也能吸附具芳香環結構之物質，如BA、NAA、IAA、IBA 及KIN 也同樣會被吸附，故必須謹慎使用。PVP 則是利用結構上的氫鍵與芳香酸、乙醛、酚化物及單寧類結合，達吸附的作用 (Pan and van Staden, 1998)。李和黃 (2003)

於銀葉桉 (*Eucalyptus cinerea* F. Muell. ex Benth.) 含節莖段培養時，即是於培養基中添加1 g/L PVP 達抑制培植體褐化的效果。張等 (1996) 證實PVP 0.8 g/L，能使紅豆杉 (*Taxus mairei*) 葉片誘導的癒合組織褐化情形減輕。

3.改善培養環境

含銅的氧化酶易受光刺激而活化，故於培養初期先將培植體培養在黑暗或低光的環境下，能降低褐化現象及酚化物質的產生。初期酚化物雖不明顯，但預先培養於黑暗中一段時間後再提供光源，能有利於培植體的生長。低溫的環境也能降低褐化反應。

4.培養基組成份

高鹽環境，如MS 基本培養基易造成褐化現象。因木本植物較草本植物易褐化，故許多木本植物會以較低鹽的1/2 MS、WPM 或 B5 基本培養基進行試驗，以降低褐化的發生。酚氧化酵素因含有銅而易造成褐化產生，故於培養初期先移除培養基中的銅離子，也能改善褐化現象。

5.植物生長調節劑

植物生長調節劑對褐化的影響，視不同物種而異。一般而言，乙烯及高濃度之2,4-D 易導致褐化。

6.修飾氧化還原電勢：

抗氧化劑有較低的氧化還原電位，添加抗氧化劑能有效的防止培植體的褐化及酚的氧化作用。在培養前先將培植體以抗氧化劑沖洗或浸泡，能防止褐化現象。張等 (2002) 於牛樟芽體培養時，經表面消毒後，將切離的培植體以100 mg/L 抗壞血酸浸泡1 小時再進行培養，結果顯示，芽體褐化率降低約50%。一般常使用的抗氧化劑有抗壞血酸及枸橼酸，抗壞血酸除用於培植體沖洗或浸泡外，有時也添加於培養基中，但抗壞血酸易受熱破壞，不能使用殺菌釜滅菌；枸橼酸除添加於培養基中用來防止褐化外，也因其為緩衝劑及營養物質，亦有其他作用。

綜合上述得知，生長激素BA對於本土半夏的再生率之影響最佳；而對於不定芽及芽體之發生率則為生長激素TDZ最佳；而生長激素Kinetin及2ip對於半夏微體增殖結果並不顯著。

(3) 柴胡之種子病原菌檢疫

由中興大學植病系柯勇教授與陳啟予助理教授進行北柴胡與南柴胡之種子病原菌檢查。由北柴胡種子上檢出之病原菌屬名：*Aspergillus*,

Mucor, Rhizopus, Penicillium, Cladosporium。由南柴胡種子上檢出之病原菌屬名：*Chaetomium, Alternaria, Cladosporium, Aspergillus, Nigrospora, Penicillium, Rhizopus*。此外，本研究所進行之柴胡種子發芽試驗，亦嚴重受到上述病原菌之侵害，嚴重影響種子發芽率。根據黃等（1987），建議柴胡種子播種前應以 1% 次氯酸鈉（NaHClO）浸種消毒 10 分鐘，並以蒸餾水清洗數次，以避免病原菌感染。

（4）柴胡健康種苗育苗技術：

將柴胡種子以流水漂洗 24 小時後，以 1~2% 次氯酸鈉消毒 3 分鐘後以無菌水進行清洗，再播種於 35 孔之育苗穴盤中，每穴 10~15 粒種子，柴胡種子發芽溫度為 18~15°C（約每年 10 月~2 月），種子於播種 2~3 週後陸續發芽，發芽 3~4 週後每週施用 N:P:K：20-20-20 之 1000 倍液肥，以促進幼苗生長，約播種 2~3 個月後，再假植到 50~72 孔的穴盤中（每穴 1 株）健化 1.5 個月後，再移植到田間定植（Fig 6.）。本研究將陳威臣博士提供之高氏柴胡種子進行育苗，於播種後 14 天起陸續萌芽，至 20 天時已有許多苗株出土（Fig 7.）。另外，本研究將 11 月份採收之高氏柴胡種子進行播種，但發芽率並不高。而學者（黃等，1987；胡等，1987）指出柴胡種子之胚具有後熟之作用，種子需經後熟發育完整胚組織後，才能提高發芽率。柴胡種子採收需經定溫儲藏之後熟作用後，才能提高發芽率（胡等，1987）。

三、親緣分析與分子標誌基原鑑定技術開發

本試驗將目前已收集的半夏種原：（1）清境台大梅峰山地農場之台灣原生半夏（*Pinellia ternate* (Thunb.) Breit.）、（2）中國醫藥大學中藥資源學系郭昭麟副教授提供台灣半夏、（3）自中國河南引種之半夏（*Pinellia ternate* (Thunb.) Breit.）（4）台灣之土半夏、（5）水半夏 *Typhonium flagelliforme*(Lodd.) Blume、（6）掌葉半夏 *Pinellia pedatisecta* Schott.、共 6 個不同品種之半夏與其他 14 種天南星科（*Araceae*）植物如：芋、天南星、越南天南星、魔芋、姑婆芋..等。進行 DNA 的萃取，必進一步分析半夏與相關天南星科植物間的親緣關係。目前本試驗已建立半夏活體組織基因組 DNA 抽取程序，並檢討中草藥乾品 DNA 萃取之品質，期望能建立穩定乾品抽取方法。初步將以粒腺體 *matK* 基因為模版，篩選引子進行 PCR 反應。

為了確認是否有抽出 DNA，先將初產物跑一次電泳圖，初步結果：由 lane 1~9 半夏的乾品及鮮品皆有 DNA 產物（Fig 8.）。在確立半夏乾品、鮮品與天南星科植物皆可由 CTAB 法抽出 DNA 後，接著進

行 PCR 反應。最後由電泳圖顯示分別為：lane 1 為對照組只含 PCR water 與 Loading Dye；lane 2、3 為天南星科植物，分別是芋及魔芋 PCR 產物；lane 4、5 為半夏乾品 PCR 產物及 lane 6 為鮮品的 PCR 產物。除 lane 1 以外，lane 2~6 皆有顯示條帶，其粒線體 matK 基因皆落在約 500 bp (Fig 9.)，由此結果可知將來在執行半夏中草藥鑑定時，可直接由乾品和其他天南星科植物來萃取兩者的 DNA 做判定比較。matK 基因已完成 DNA 定序，鹼基對大約 600bp，依長度與 DNA 結構應為粒腺體 matK 基因，由於半夏乾品 DNA 抽取較為困難，本計劃在這一年的已解決此純化問題，並得到 PCR 產物，目前陸續送定序，確認以 matK 基因作為分子標誌之可行性。

四、半夏與柴胡之栽培試驗影響

1. 半夏：目前進行中的半夏栽培試驗分別為：

調查項目包括塊莖鮮重、塊莖乾重、含水百分率、乾物重重百分率..等。

(1) 半夏不同有機肥施用量試驗

不同有機肥施用量處理分別為每公頃施用 4000(O4)、8000(O8)、12000(O12) Kg/ha。(Fig 10.)

半夏不同有機肥施用量試驗，半夏以有機肥 4000 Kg/ha 處理之塊莖長度、寬度最長，分別為 1.92cm、1.66cm (Table 2.)，以化學肥處理之塊莖長度、寬度最短，分別為 1.76cm、1.57cm。半夏塊莖增殖數量以有機肥 12000 Kg/ha 處理之塊莖增殖數量最多為 29.2 顆 (Table 3.)，化學肥處理增殖數量最少為 25.9 顆，有機肥施用量越多塊莖增殖數量越多。半夏塊莖重量以有機肥 4000 Kg/ha 處理之塊莖鮮重與乾重最重分別為 3.76 g/顆、0.99g/顆 (Table 4.)，以化學肥處理之塊莖重量最輕，分別為 3.18 g/顆、0.8g/顆。半夏塊莖產量以有機肥 4000 Kg/ha 處理之塊莖鮮重與乾重產量最高分別為 9809 kg/ha、2584 kg/ha (Table 5.)，以化學肥處理之塊莖產量最低，分別為 8673 kg/ha、2187 kg/ha。結果顯示栽培時間越久半夏塊莖大小越大，重量越重，以有機肥 4000 Kg/ha 處理的半夏塊莖產量最高，以化學肥處理之半夏塊莖產量最低。因此半夏栽培之肥料施用應以有機肥為主，施用量為 4000 Kg/ha。

(2) 半夏不同基肥與鉀肥施用量試驗

不同鉀肥施用量處理分別為每公頃施用 50 kg (K_1)、200 kg (K_2)、450 kg (K_3)。栽培 6 個月後，採收全株。

半夏不同基肥與鉀肥施用量試驗結果顯示，以有機肥作為基肥，並混和施用鉀肥 50 kg/ha 處理之半夏塊莖鮮重產量最高為 10823 kg/ha。而以化學肥為基肥混和施用鉀肥 450 kg/ha 處理之鮮重產量最差為 2974 kg/ha，產量僅為有機肥處理的 1/2 (Table 6.)。以有機肥作為基肥，並混和施用鉀肥 50 kg/ha 處理之半夏塊莖乾重產量最高為 2974 kg/ha。而以化學肥為基肥混和施用鉀肥 450 kg/ha 處理之乾重產量最差為 1243 kg/ha，產量僅為有機肥處理的 1/3。結果顯示，半夏栽之肥料施用，以施用有機肥料為佳，其產量較施用化學肥為佳，有機肥推薦用量為 4000 Kg/ha，若有機肥與混和施用鉀肥 50 kg/ha，可以獲得更高之產量。

半夏栽培試驗期間有鱗翅目天蛾科銀條斜線天蛾 *Hippotion celerio* 幼蟲與扁蝸牛嚴重危害，天蛾幼蟲以蘇立菌 1000 倍防治，扁蝸牛則施用苦茶粕進行防治。(Fig 11.)

2. 柴胡：柴胡栽培試驗分別為：

調查項目包括株高、葉長、葉寬、分蘗數、莖粗、根粗、根長、鮮重、乾重等。

(1) 高氏柴胡不同鉀肥施用量試驗

每公頃施用有機肥 4000 Kg 作為基肥，再以不同鉀肥施用量處理，施用量分別為每公頃施用 0 Kg (K_1)、120 Kg (K_1)、240 Kg (K_2)、360 Kg (K_3)。試驗區採逢機完全區集設計試驗設計，每處理 3 重複，每重複 18 盆，每盆 1 株高氏柴胡 (Fig 12.)。一年生高氏柴胡之調查項目包括株高、葉長、葉寬、分蘗數、莖粗、根粗、根長、鮮重、乾重等。

高氏柴胡不同鉀肥施用量試驗 (Fig 13.)，結果顯示以鉀肥 240 kg/ha 處理之高氏柴胡分蘗數最多為 14.2 個，葉長最長為 10.2cm，葉寬最寬為 0.75cm，莖粗最粗為 0.91cm，根長最長為 35.0cm。以鉀肥 0 kg/ha 處理之分蘗數最少為 7.8 個 (Table 7.)。高氏柴胡地下部乾重以鉀肥 240 kg/ha 處理最高為 3.5g，地下部乾物重百分率以鉀肥 240 kg/ha 處理最高為 40.2% (Table 8.)。地上部鮮重產量以以鉀肥 240 kg/ha 處理最高為 2047 kg/ha，以鉀肥 0 kg/ha 處理最低為 1353 kg/ha (Table 9.)，地下部鮮重產量以以鉀肥 240 kg/ha 處理最高為 880 kg/ha，以鉀

肥 0 kg/ha 處理最低為 660 kg/ha，地下部乾重產量以鉀肥 240 kg/ha 處理最高為 347 kg/ha，以鉀肥 0 kg/ha 處理最低為 230 kg/ha。高氏柴胡栽培研究之調查數據著重於分蘗數與根重，分蘗數越高相對的第一年與第二年的根莖產量即較高。根據高氏柴胡不同鉀肥施用量試驗結果顯示，高氏柴胡栽培之施肥管理，單獨施用有機肥料 4000 kg/ha 產量較低，若混和施用鉀肥 120-240 kg/ha 可以獲得較高的產量。

(2) 高氏柴胡不同栽培土壤試驗

以 3 種不同栽培土壤處理（砂土、坵土、紅壤）進行試驗。試驗區採逢機完全區集設計試驗設計，每處理 3 重複，每重複 24 盆，每盆 1 株高氏柴胡 (Fig 13.)。一年生高氏柴胡之調查項目包括株高、葉長、葉寬、分蘗數、莖粗、根粗、根長、鮮重、乾重等。

高氏柴胡不同栽培土壤試驗 (Fig 14.)，結果顯示以紅壤處理之高氏柴胡分蘗數最高為 12.8 個，根長最長為 32.7cm (Table10.)。以坵土處理之高氏柴胡株高最矮為 58.9cm，分蘗數最低，為 10.3 個。地上部乾物重百分率以紅壤處理最高為 40.9%，地下部乾物重百分率以坵土處理最高為 31.3% (Table11.)。高氏柴胡地上部與地下部鮮重產量以紅壤處理最高，分別為 2070 kg/ha、1107 kg/ha (Table12.)。地上部與地下部乾重產量以紅壤處理最高，分別為 850 kg/ha、320 kg/ha。根據高氏柴胡不同栽培土壤試驗結果顯示，高氏柴胡栽培於紅壤上的分蘗數與產量較高。建議栽培高氏柴胡之土壤以紅壤為佳，砂土與坵土次之。高氏柴胡耐旱忌積水，因此栽培高氏柴胡時，選擇排水良好之栽培田區為優先考量。

五、半夏與柴胡有機栽培及優良農業操作模式之建立

(一) 半夏 GAP 模式草案

一.前言

半夏GAP模式係指以最合乎自然的耕作生產條件來種植半夏，減少因農業操作帶來對自然生態的傷害，並適時適地適種，合理使用農業資材（包括肥料及農藥..等），完整記錄生產履歷及嚴格遵守相關規範（包括生態環境、種源、土壤、水、作物栽培過程、採收、加工、包裝、儲藏、運輸..等規範），依此原則生產的半夏生產過程，即為半夏GAP模式。

本研究根據台灣有機農業法規與 FAO 訂定之 GAP 規範，由種源、土壤、水、作物栽培過程、加工製造、能源及廢棄物管理..等之角度，架構 GAP 模式。以半夏為例，針對其引種馴化，種原及繁殖(包

括存活率、發芽溫度等)，生態環境(包括水質、土壤與肥分等)，栽培與管理(包括最適栽培條件、病蟲害等)，採收與加工(包括藥用部位採收後之清洗、乾燥等)，包裝、運輸及儲藏(包括完整記載品名、規格及產地等)加以控管，記錄，期建立半夏 GAP 栽培模式能供相關研究單位與產業之參考。

二.半夏 GAP 模式

1.栽培環境與地點選定

半夏，耐寒，喜涼爽和濕潤的氣候環境，為淺根性作物，一般塊莖與根可入土 15~30 公分深，在土層肥沃、排水良好的砂質壤土上生長良好，忌排水不良之土壤。

依據「有機農產品生產規範-作物」第二點規定之生產環境條件選擇適合半夏栽培之環境：1.農地應符合農業發展條例所規定供農作使用之農地。2.農地應有適當防止外來污染之圍籬或緩衝帶等措施，以避免有機栽培作物受到污染。3.灌溉水質及農地土壤重金屬含量應符合本規範訂定之標準。4.農地應施行良好之土壤管理及水土保持措施，確保水土資源之永續利用。因此半夏栽培應選擇在四周無任何工廠、大畜牧場等污染原之處，土壤應符合有機農業重金屬含量標準及環保署土壤污染管制標準，水質應符合有機農業重金屬含量標準及行政院農委會灌溉用水水質標準，空氣應符合環保署空氣品質標準。其次考量土壤肥沃度，土壤質地以排水良好之砂質壤土最佳。選擇通風良好水源方便及日照充足之處，盡量避免病蟲害易嚴重發生地區。避免受鄰近一般慣行農法栽培田區施用農藥之污染，半夏 GAP 栽培田區宜盡量毗鄰且形成集團栽培，此外田區應使用 GPS 衛星定位監控半夏藥材產地及栽培情形。

本研究試驗田位於南投縣名間鄉八卦台地(GPS 衛星定位：WGS84 座標 E120°40' N23°50')，氣候涼爽，土層深厚，排水良好，四周無工廠污染原之處，符合半夏生長環境。

2.品種選擇

〈中國藥典〉與〈中華中藥典〉將天南星科半夏屬一年生草本植物半夏 (*Pinellia ternate* (Thunb.) Breit.) 的乾燥塊莖收錄為正品半夏。根據文獻記載有不同基原的植物被用作半夏的代用品，如水半夏 *Typhonium flagelliforme* (Lodd.) Blume. 與掌葉半夏 *Pinellia pedatisecta* Schott. 等的塊莖均普遍被當作為其代用品。而中藥材特別講求其正品基原，因此必須栽培半夏才能獲得正品的半

夏藥材。

本試驗目前已收集的半夏種原分別為：(1) 清境台大梅峰山地農場之台灣原生半夏、(2) 中國醫藥大學中藥資源學系郭昭麟副教授提供台灣半夏、(3) 自中國河南引種之半夏 (*Pinellia ternate* (Thunb.) Breit.) (4) 台灣之土半夏 *Typhonium divaricatum* (L.) Decne.、(5) 水半夏 *Typhonium flagelliforme* (Lodd.) Blume、(6) 掌葉半夏 *Pinellia pedatisecta* Schott. 共 6 個不同品種之半夏與其他 14 種天南星科 (Araceae) 植物如：芋、天南星、越南天南星、魔芋、姑婆芋..等，可供進行相關基原鑑定研究。

3.種源繁殖

半夏繁殖方法有種子繁殖、珠芽繁殖、塊莖繁殖

(1) 種子繁殖

夏秋收集種子，藏於濕潤細沙中，至翌年 4 月播種、條播，行距 10~12cm 播種後覆蓋細土，蓋草木灰澆水濕潤。於苗高 6~10cm 進行移植。

(2) 珠芽繁殖

5~6 月，取葉柄下成熟的珠芽，進行條播，行距 10~15cm，株距 6~9cm。種植後覆以細土草木灰，稍加壓實。

(3) 塊莖繁殖

以塊莖繁殖法最為普遍，取直徑 1~1.5cm (重量約 1~2g 種莖) 的種莖最適合 (種莖太小產量低，種莖太大成本高)，於 10~11 月種植，按行株距 8×8~10×10cm 穴植，每穴 2~3 個種莖，栽植後覆土 6cm，每公頃需種莖 1200 kg。由於此方法簡便易行，產量高，所以較為普遍使用。

半夏塊莖播種方法可以採用點播 (dibbling) 或條播 (drilling)。半夏塊莖生育適溫為 20~25°C，30°C 以上生長緩慢，一般播後 15~20 天幼苗即可出土。播種以春播和冬播為主，台灣春播在 2 月上旬，冬播在 11 月上旬。冬播應儘量提早播，立冬 (11 月) 前後播種者可提高產量。用為藥材者一般採冬播，留種田可採用春播，春播在立春至雨水之後。播種需選擇飽滿、無病原菌感染的種莖，每分地種莖用量約 120 公斤。種植前將土地深耕 30-50 公分，施有機肥 4,000 公斤、磷肥 50 Kg/ha P₂O₅ 與鉀肥 50 Kg/ha K₂O 做為基肥，耕犁混合，整平作畦，畦面 90 公分，溝寬 25 公分左右，深 25~30 公分。四周

開排水溝，以利排水，畦面按行株距 10*10 公分開深 8 公分左右的淺溝，將種莖殖入穴內，播種後覆土 6 公分。

4.耕作模式

天南星科作物栽培時，一般採用輪作栽培，因輪作可以經濟合理利用肥料，改善土壤理化性質，防止病蟲害及雜草的發生與蔓延，以增進生產及改善品質。

半夏幼苗期需適度遮蔭、成株期適合大量光照，可與早熟玉米或豆科綠肥間作，可用豆科綠肥如：花生、魯冰花、青皮豆..等。一般將間作作物種在畦面的兩邊，株距約 50 公分左右為宜。而在台灣半夏栽培病蟲害情形並不嚴重，其塊莖具有良好增殖能力，因此半夏連作栽培之可行性可以進一步研究評估。

5.整地與作畦

整地(Soil preparation)為作物栽培前應行的重要作業，因農地經過長期栽培後，土壤已逐漸硬結，不宜作物生長的狀態。故栽培前，先將農地加以耕犁、鎮壓、作畦..等作業，使土壤達到適宜作物生長的良好狀態，此作業稱為整地。

半夏塊莖需要良好土壤孔隙以利生長發育，整地時應採深耕，耕犁深度為 30~40cm，深耕的優點為：1.使根系生長領域擴大，並可吸收深層土壤之水份與養分。2.調節土壤水份，多雨時，可將雨水滲透至地中，旱害時，可由土壤的毛細管作用，將地下水運至土表，以供作物吸收。台灣氣候多雨，一般作物均採畦作(Preparation of seed bed)栽培，畦作栽培灌溉與排水管理方便，畦土物理性質良好，但較費勞力。半夏栽培建議宜採平畦栽培(Level culture，畦高 20cm)，畦作方向最好選擇以南北向為宜。

6.水份管理

半夏田間水份管理，水質必需符合有機農業灌溉水質之重屬容許量標準，並依據栽培環境不同採用溝灌、噴灌、滴灌、人工噴灌..等方式，但需注意田間排水與雜草管理等問題。

一般採用溝灌方式較為簡便，可運用在大面積栽培，但用水量大，並容易滋生雜草，於雨季時田間容易積水造成半夏根部腐爛。噴灌與滴灌可以避免田間積水問題，但需較高的設備成本。而噴灌會滋生雜草，滴灌則可以有效控制雜草，並減少用水量。人工噴灌僅適合小面積精緻化栽培，其可以避免田間積水問題，亦可以有效控制雜草，減少用水量，但最大缺點為需花費較多的

人力成本。

7.肥料管理

施肥原則需以營養均衡觀點，交替使用不同有機質肥料，並配合土壤監控，在不同期作更換使用有機肥種類（含配方），以避免某些養分長期使用而產生過度累積現象，可以減少有機肥料投入成本。各種禽畜堆肥經充分發酵腐熟後都可利用，菜粕籽氮含量高，可作追肥使用。

半夏栽培，宜以有機肥 4,000 Kg/ha、磷肥 50~80 Kg/ha P_2O_5 與鉀肥 50~80 Kg/ha K_2O 做為基肥，於整地時耕犁入土。栽培 3~5 個月後進行追肥，追施氮肥 50 Kg/ha、磷肥 50 Kg/ha 及 50 Kg/ha，混合撒入行間。半夏採收塊莖要多施磷、鉀肥，才能獲得高產。

8.中耕除草與疏苗管理

半夏生育期間須進行中耕除草（Cultivation）、去花及追肥..等工作。中耕為作物生育期中，淺耕株間與畦間的表土及粉碎土塊，使土壤疏鬆的作業。中耕可以使土壤物理性狀良好，促進土壤微生物的繁殖，使雨水易被土壤吸收，並使其所含養分易被有效利用，於旱季時，可以阻斷表土毛細作用，防止水份蒸發。半夏中耕作業應於種植後 60~90 天進行第一次中耕，除草通常每 3~4 週進行一次，中耕除草次數視生育期長短而定，全生育期約 5~8 次。

9.雜草管理

雜草為田間栽培目的以外的植物，雜草會妨害作物生育，影響收穫物品質，為病蟲害傳播媒介，因此雜草防制為作物栽培重點作業。

雜草為台灣半夏田間栽培重要問題，常見雜草有：野萹、紫背草、龍葵、青葙、狗牙根、牛筋草、小葉灰藿、香附子、牽牛花、馬唐...等等。一般而言，除草劑是最省錢的除草方法，因為除草效率大幅提高，除草成本也大幅降低，但半夏行株距小若噴施除草劑會傷害到半夏植株，且造成環境及水源污染，土壤硬化且破壞生態體系影響甚鉅，值得重視。因此，半夏栽培之雜草管理，宜以人工除草為主。

在人類未使用化學除草劑之前，已發展出除草和降低雜草為害的方法。目前常用非農藥雜草防治方法：

a.人工除草：以人工於雜草苗期進行除草作業。

- b.輪作方式:水旱田輪作對某些旱田雜草如香附子以及某些水生雜草防治效果不錯。
- c.淹水法:多利用於水稻、芋頭、空心菜等之雜草防治方法,因此類作物在水中生長良好。
- d.敷蓋:利用無生命物質鋪於田面或畦面稱為敷蓋。敷蓋材料有銀黑色塑膠布、雜草抑制蓆、稻殼、花生殼粉、作物收穫後殘餘物如稻桿、尚未結種子之枯死雜草(圖19)。
- e.滴灌:僅灌溉栽植作物之土壤,未栽植作物土壤因未灌溉可以避免或減少雜草種子萌發。
- f.生物防治法:即利用天敵如昆蟲、病原菌及其他草食動物等防治雜草。

10.病蟲害及其防治

台灣半夏栽培常見的主要病害有根腐病(*Fusarium solani*),主要危害塊莖。主要蟲害為天蛾科鱗翅目之銀條斜線天蛾(*Hippotion celerio*)與扁蝸牛(*Bradybaena similaris* (F.)),蟲害危害嚴重,但使用一些有機防制方法即可獲得良好控制,天蛾幼蟲以蘇立菌 500 倍防治,扁蝸牛則施用苦茶粕進行防治。此外,栽培時勿過度密植,避免病害發生蔓延。

建議半夏病蟲害可以採用綜合防治:(1)適地適作。(2)與非天南星科與十字花科作物輪作。(3)調整種植時期及合理密植。(4)多施磷、鉀肥,並控制氮肥。(5)注重田間衛生,即時清除病株。(6)病害防治預防勝於治療(劉、林和張,2002)。(7)鱗翅目害蟲可以施用蘇力菌防治。若需使用化學藥劑進行病蟲害管理,化學藥劑必須符合「衛署食字第 0940409059 號令-殘留農藥安全容許量」及避免使用禁用農藥,此外有部份藥劑為「得免訂定容許量之農藥」。

11.半夏採收、加工方法

根據本研究結果建議,延長半夏栽培時間可以增加塊莖產量,冬播採收以栽培 300~360 天為佳,於種植翌年 9~10 月採收可以獲得最高產量。

半夏一般在夏、秋二季採收(大陸於霜降前採收),選晴天進行,先在畦的一端深挖 20~30 公分淺溝,然後順溝採收,因半夏的塊莖生長較淺,不需要深挖,但須防止將塊莖掘斷,降低質量。半夏洗淨去土(清洗用水水質應符合環保署因用水質標準:

附件)後,除去外皮及鬚根後以 80°C 熱水左右烘燙(否則易生新皮),再曬乾或烘乾,烘乾溫度為 50~60°C,乾燥時間約為 72~96 小時,直至乾燥。冬播約可採收 9000~10000 Kg/ha 新鮮塊莖,乾重約為 3000Kg/ha。

12. 包裝與儲藏

生半夏儲藏應按毒性中藥由專人保管,儲藏於專櫃內,置於乾燥處並防蟲蛀。製半夏按普通藥材保管,置於乾燥處。

半夏包裝儲藏的目的在于防止藥材因病菌、蟲蛀以及藥材本身的生理化學變化,而引起的變質、氧化與敗壞。目前大陸進口的許多中藥材多因包裝與儲藏不良而發霉,並為防蟲蛀使用硫磺燻蒸。因此需有良好的包裝與儲藏,才有優質的藥材。包裝材料必須防潮及低透氣性,並兼具環保功能,在包裝上必須標示品名、重量、製造日期、有效期間、廠商名稱、地址及生產單位與產地。可應用之半夏藥材儲藏方式為:1.真空儲藏 2.常溫儲藏 3.低溫儲藏。

(二) 柴胡 GAP 模式草案

1. 前言

柴胡GAP模式係指以最合乎自然的耕作生產條件來種植柴胡,減少因農業操作帶來對自然生態的傷害,並適時適地適種,合理使用農業資材(包括肥料及農藥..等),完整記錄生產履歷及嚴格遵守相關規範(包括生態環境、種源、土壤、水、作物栽培過程、採收、加工、包裝、儲藏、運輸..等規範),依此原則生產的柴胡生產過程,即為柴胡GAP模式。

本研究根據台灣有機農業法規與 FAO 訂定之 GAP 規範,由種源、土壤、水、作物栽培過程、加工製造、能源及廢棄物管理..等之角度,架構 GAP 模式。以柴胡為例,針對其引種馴化,種原及繁殖(包括存活率、發芽溫度等),生態環境(包括水質、土壤與肥分等),栽培與管理(包括最適栽培條件、病蟲害等),採收與加工(包括藥用部位採收後之清洗、乾燥等),包裝、運輸及儲藏(包括完整記載品名、規格及產地等)加以控管,記錄,期建立柴胡 GAP 栽培模式能供相關研究單位與產業之參考。

二、柴胡 GAP 模式

1. 栽培環境與地點選定

柴胡，常生於乾旱的荒野山坡，耐寒、耐旱力強。喜光照之溫暖氣候環境，為深根性作物，一般根可入土 40~60 公分深，在土層肥沃、排水良好的紅壤與砂質壤土上生長良好，忌排水不良之土壤。

依據「有機農產品生產規範-作物」第二點規定之生產環境條件選擇適合柴胡栽培之環境：1.農地應符合農業發展條例所規定供農作使用之農地。2.農地應有適當防止外來污染之圍籬或緩衝帶等措施，以避免有機栽培作物受到污染。3.灌溉水質及農地土壤重金屬含量應符合本規範訂定之標準。4.農地應施行良好之土壤管理及水土保持措施，確保水土資源之永續利用。因此柴胡栽培應選擇在四周無任何工廠、大畜牧場等污染原之處，土壤應符合有機農業重金屬含量標準及環保署土壤污染管制標準，水質應符合有機農業重金屬含量標準及行政院農委會灌溉用水水質標準，空氣應符合環保署空氣品質標準。其次考量土壤肥沃度，土壤質地以排水良好之砂質壤土最佳。選擇通風良好水源方便及日照充足之處，盡量避免病蟲害易嚴重發生地區。避免受鄰近一般慣行農法栽培田區施用農藥之污染，柴胡 GAP 栽培田區宜盡量毗鄰且形成集團栽培，此外田區應使用 GPS 衛星定位監控柴胡藥材產地及栽培情形。

本研究試驗田位於南投縣名間鄉八卦台地(GPS 衛星定位：WGS84 座標 E120°40' N23°50')，氣候涼爽，土層深厚，排水良好，四周無工廠污染原之處，符合柴胡生長環境。

2. 品種選擇

〈中國藥典〉與〈中華中藥典〉將繖形科柴胡屬多年生草本植物北柴胡 (*Bupleurum chinense* DC.) 的乾燥根莖收錄為正品柴胡。根據文獻記載有不同基原的植物被用作柴胡的代用品，如狹葉柴胡 *B. scozonerifolium*、竹葉柴胡 *B. marginatum*、小葉黑柴胡 *B. smithii* var. *parvifolium*、大葉柴胡 *B. longiradiatum*、高氏柴胡 *Bupleurum kanoi* 等的根莖均普遍被當作為其代用品。而中藥材特別講求其正品基原，因此必須栽培北柴胡才能獲得正品的柴胡藥材。

目前本研究已收集的柴胡種原分別為：(1) 農業試驗所陳威臣博士提供高氏柴胡 (*Bupleurum kanoi*)、(2) 由中草藥專家百草谷藥用植物園林德保先生處購得台灣高氏柴胡、(3) 自中國河北引種北

柴胡 (*Bupleurum chinense* DC.)、(4) 由中草藥專家何富順先生處購得之3年生北柴胡40株。以上蒐集的相關柴胡種原，將可進一步進行基原鑑定研究。

3.種源繁殖

(1) 直播栽培

柴胡種子播種方法可以採用點播(dibbling)或條播(drilling)。柴胡種子萌發適溫為 15~20°C，一般播後 20~30 天幼苗即可出土。播種以冬播和春播為主，台灣冬播在 11 月上旬，春播在 2 月上旬。春播應儘早播種以免影響產量。一般採冬播，冬播在立冬前後；春播在立春（二月上旬）前後。播種需選擇飽滿、去雜質的種子，播種前用水漂洗 24 小時，拌以 2 倍過篩的培養土拌勻播種，每分地種子用量約 1-1.2 公斤。種植前將土地深耕 30-50 公分，施有機肥 4,000 公斤、磷肥 80 Kg/ha P₂O₅ 與鉀肥 80 Kg/ha K₂O 做為基肥，耕犁混合，整平作畦，畦面 90 公分，溝寬 25 公分左右，深 25~30 公分。四周開排水溝，以利排水，畦面按行株距 30*20 公分開深 6 公分左右的淺溝，將種子均勻撒入溝內，播種後覆土 1 公分。柴胡播種後不宜灌溉，若久旱不雨宜用噴灌設施噴水補濕，噴水量以播種層濕透為宜。

(2) 柴胡健康種苗育苗技術：

柴胡採用育苗方式 (Seeding) 栽培，可以減少種子播種數量及日後田間栽培疏苗工作。將柴胡種子以流水漂洗 24 小時後，以 1~2% 次氯酸鈉消毒 3 分鐘後以無菌水進行清洗，再播種於 35 孔之育苗穴盤中，每穴 10~15 粒種子，柴胡種子發芽溫度為 15~18°C (約每年 10 月~2 月)，種子於播種 2~3 週後陸續發芽，發芽 3~4 週後每週施用 N:P:K:20-20-20 之 1000 倍液肥，以促進幼苗生長，約播種 2~3 個月後，再假植到 50~72 孔的穴盤中 (每穴 1 株) 健化 1.5 個月後，再移植到田間定植。

4.整地與作畦

整地(Soil preparation)為作物栽培前應行的重要作業，因農地經過長期栽培後，土壤已逐漸硬結，不宜作物生長的狀態。故栽培前，先將農地加以耕犁、鎮壓、作畦..等作業，使土壤達到適宜作物生長的良好狀態，此作業稱為整地。

柴胡根長，入土極深，整地時應採深耕，耕犁深度為 30~40cm，深耕的優點為：1.使根系生長領域擴大，並可吸收深層

土壤之水份與養分。2.調節土壤水份，多雨時，可將雨水滲透至地中，旱害時，可由土壤的毛細管作用，將地下水運至土表，以供作物吸收。台灣氣候多雨，一般作物均採畦作(Preparation of seed bed)栽培，畦作栽培灌溉與排水管理方便，畦土物理性質良好，但較費勞力。柴胡栽培建議，宜採平畦栽培(Hill culture，畦高 20-25cm)，畦作方向最好選擇以南北向為宜。

6.水份管理

柴胡田間水份管理，水質必需符合有機農業灌溉水質之重屬容許量標準，並依據栽培環境不同採用溝灌、噴灌、滴灌、人工噴灌..等方式，但需注意田間排水與雜草管理等問題。

一般採用溝灌方式較為簡便，可運用在大面積栽培，但用水量大，並容易滋生雜草，於雨季時田間容易積水造成柴胡根部腐爛。噴灌與滴灌可以避免田間積水問題，但需較高的設備成本。而噴灌會滋生雜草，滴灌則可以有效控制雜草，並減少用水量。人工噴灌僅適合小面積精緻化栽培，其可以避免田間積水問題，亦可以有效控制雜草，減少用水量，但最大缺點為需花費較多的人力成本。柴胡耐旱，忌積水，積水會引起根部腐爛。一般柴胡水分管理可使用噴灌，於久旱不雨時，可以每 4-5 天噴灌 30-45 分鐘，柴胡噴灌不宜在晴天中午進行，以免溫差過大造成爛根。

7.肥料管理

施肥原則需以營養均衡觀點，交替使用不同有機質肥料，並配合土壤監控，在不同期作更換使用有機肥種類（含配方），以避免某些養分長期使用而產生過度累積現象，可以減少有機肥料投入成本。各種禽畜堆肥經充分發酵腐熟後都可利用，菜粕籽氮含量高，可作追肥使用。

柴胡栽培，宜以有機肥 4,000 Kg/ha、磷肥 120 Kg/ha P_2O_5 與鉀肥 120 Kg/ha K_2O 做為基肥，於整地時耕犁入土。栽培 4~5 個月後進行追肥，追施氮肥 40~50 Kg/ha、磷肥 40 Kg/ha 及鉀肥 60~120 Kg/ha，混合撒入行間。柴胡栽培宜多施磷、鉀肥，才能獲得高產。

8.中耕除草與疏苗管理

柴胡生育期間須進行間苗定苗（Thinning）、中耕除草（Cultivation）、培土、打苔及追肥..等工作。柴胡間苗為拔去密生作物的一部，予以各作物間適當間隔的作業。柴胡疏苗作業應

於苗高 8-10 公分時，進行間苗，拔除弱小與病株。株高 12-15cm，按株距 10cm 在間苗一次，對於缺株，宜帶土補植。

中耕為作物生育期中，淺耕株間與畦間的表土及粉碎土塊，使土壤疏鬆的作業。中耕可以使土壤物理性狀良好，促進土壤微生物的繁殖，使雨水易被土壤吸收，並使其所含養分易被有效利用，於旱季時，可以阻斷表土毛細作用，防止水份蒸發。柴胡中耕作業應於天雨灌溉後，配合除草進行中耕鬆土，中耕宜淺避免妨害根系，中耕除草通常每 3~4 週進行一次。

培土是為了促進柴胡根部發育良好，到生長中期，配合中割除草，向根部培土。經幾次培土後逐漸變成高壟，不僅利於根部發育且可以防止植株倒伏。

柴胡開花結果會影響柴胡根的產量與品質，為了獲得優良高產的根，對不留種地區，應實施打苔作業，打苔越早越好，一般在抽苔初期。

9. 雜草管理

雜草為田間栽培目的以外的植物，雜草會妨害作物生育，影響收穫物品質，為病蟲害傳播媒介，因此雜草防制為作物栽培重點作業。

雜草為台灣柴胡田間栽培重要問題，常見雜草有：野萵、紫背草、龍葵、青葙、狗牙根、牛筋草、小葉灰藿、香附子、牽牛花、馬唐...等等。一般而言，除草劑是最省錢的除草方法，因為除草效率大幅提高，除草成本也大幅降低，但隨著環保意識抬頭，使用除草劑雖然可省時省工，但造成環境及水源污染，土壤硬化且破壞生態體系影響甚鉅，值得重視。

在人類未使用化學除草劑之前，已發展出除草和降低雜草為害的方法。目前常用非農藥雜草防治方法：

- a. 人工除草：以人工於雜草苗期進行除草作業。
- b. 農業機械：以曳引機或中耕機在作物栽培前，進行整地作業以及在生育期間進行中耕除草。
- c. 輪作方式：水旱田輪作對某些旱田雜草如香附子以及某些水生雜草防治效果不錯。
- d. 敷蓋：利用無生命物質鋪於田面或畦面稱為敷蓋。敷蓋材料有銀黑色塑膠布、雜草抑制蓆、稻殼、花生殼粉、作物收穫後殘餘物如稻桿、尚未結種子之枯死雜草。

- e.滴灌：僅灌溉栽植作物之土壤，未栽植作物土壤因未灌溉可以避免或減少雜草種子萌發。
- f.生物防治法：即利用天敵如昆蟲、病原菌及其他草食動物等防治雜草。

10.病蟲害及其防治

台灣柴胡栽培常見的主要病害有露菌病（*Peronospora isatidis*）、根腐病（*Fusarium solami*）、等，主要危害根部。主要蟲害為介殼蟲等，而相關病蟲害並不嚴重，因此不需要過多的化學藥劑防制，此外，栽培時勿過度密植，避免病害發生蔓延。

建議柴胡病蟲害可以採用綜合防治：(1)適地適作。(2)輪作。(3)調整種植時期及合理密植。(4)多施磷、鉀肥，並控制氮肥。(5)注重田間衛生，即時清除病株。(6)病害防治預防勝於治療(劉、林和張，2002)。(7)鱗翅目害蟲可以施用蘇力菌防治。(8)畦面覆蓋 PE 銀黑色塑膠布，可以驅蟲及避免土壤中之細菌，因下雨飛濺而附著於葉面上造成病菌感染。若需使用化學藥劑進行病蟲害管理，化學藥劑必須符合「衛署食字第 0940409059 號令-殘留農藥安全容許量」及避免使用禁用農藥，此外有部份藥劑為「得免訂定容許量之農藥」。

11.柴胡採收、加工方法

根據本研究結果建議，延長柴胡栽培時間可以增加根莖產量，一般生長 2-3 年即可採挖。

柴胡採收時宜選晴天進行，先在畦的一端深挖 40~60 公分深溝，然後順溝採收，因柴胡的根較深，要深挖約 50 公分，防止將根拔斷或掘斷，降低質量。柴胡根洗淨去土（清洗用水水質應符合環保署因用水質標準）後，直接曬乾或烘乾，烘乾溫度為 50~55℃，乾燥時間約為 48-72 小時。一年生高氏柴胡約可採收 900~1100 Kg/ha 新鮮柴胡根，乾燥柴胡根約為 300~320 Kg/ha 乾根。

12.包裝與儲藏

柴胡包裝儲藏的目的在防止藥材因病菌、蟲蛀以及藥材本身的生理化學變化，而引起的變質、氧化與敗壞。目前大陸進口許多中藥材多因包裝與儲藏不良而發霉，而且為防止蟲蛀，使用硫磺燻蒸。因此需有良好的包裝與儲藏，才有優質的藥材。包裝材料必須防潮及低透氣性，並兼具環保功能，在包裝上必須標示品

名、重量、製造日期、有效期間、廠商名稱、地址及生產單位與產地。可應用之菘藍藥材儲藏方式為：1.真空儲藏 2.常溫儲藏 3.低溫儲藏。

本研究之半夏與柴胡栽培試驗區已完成土壤與灌溉用水水質之重金屬檢測，符合有機農業法規之標準 (Table 13.)。

六、高液相層析法 (HPLC) 進行中藥材之成分分析

本試驗中以不同鉀肥濃度試驗及不同介質栽培之高氏柴胡進行高液相層析法 (HPLC) 成分分析，由表 14 定量結果顯示柴胡指標成分 Saikosaponin A，葉部較多，Saikosaponin D 則不論在葉部或根部都沒有太大差異。在不同鉀肥試驗中，鉀肥用量不影響高氏柴胡地下部植株指標成分含量，而地上部植株的含量以施用 240kg/ha~360kg/ha 之處理組含量較高。在不同栽培介質之試驗中，地下部的指標成份含量並沒有差異，地上部則以砂土 (Sa) 栽培含量較高。(圖 15~18)

由分析結果可知，以砂質土種植，施用 240kg/ha~360kg/ha 鉀肥，植株地上部所含指標成分較高。

肆、討論

一、半夏

邱等 (1973) 指出台灣為半夏之原生地之一 (行政院衛生署中醫藥委員會，台灣藥用植物圖鑑 (III)，2006)。在半夏種原蒐集方面，由清境台大梅峰山地農場之台灣原生半夏與中國河南引種之半夏，由順天堂必安研究所植物組織石臘切片法與薄層層析法 (TLC) 鑑定後，確定為台灣傳統藥典所載之正品基原半夏 (*Pinellia ternate* (Thunb.) Breit.)。根據前人研究顯示 (邱，1973；許，2002)，半夏植物花期為5~7月，果期6~9月，台大山地農場採集半夏之開花期屬於全年開花，不具休眠性，而引種自中國之半夏則具有休眠性，於96年12月播種的中國半夏塊莖，直到97年4月份才陸續抽出新芽。此外台大山地農場海拔2100公尺為溫帶性氣候，(採集當天日溫19°C)，而移植馴化栽培地點南投名間八卦山台地海拔400公尺為亞熱帶氣候區，造成兩地氣溫相差10.2°C (海拔每上升100m，氣溫下降0.6°C)。因此，對台灣半夏生理時鐘與生長週期之影響仍須進一步調查。

台灣半夏栽培之肥培管理，宜混合施用有機肥4000 Kg/ha與鉀肥50 kg/ha可以獲得高產，單獨施用有機肥亦可獲得高產，若單獨施用化學肥料則產量較低。

半夏組織培養方面，根據Nalawade (2003)等學者之研究建議，半夏之培養基添加1-15 mg/l BA 與0.0 - 0.2 mg/l NAA即可進行增殖與繼代培養。本研究顯示，將半夏接種於1/2MS+1 mg/l BA培養基中，培養6-7週即可完成1個繼代世代。因此，未來可將此技術應用在大量繁殖無病毒之半夏種苗上。

二、柴胡

在柴胡種原蒐集上，因野生高氏柴胡已經相當稀少甚至絕跡（劉等，1995），僅能蒐集到零星高氏柴胡之種苗與種子。因此，高氏柴胡種原之繁殖極為重要。另外，由中國引種之河北北柴胡（*Bupleurum chinense* DC.）種子，進行病原菌檢疫發現，種子帶有大量之病原菌，且於播種、育苗時感染種子，嚴重影響柴胡種子之發芽。因此，於試驗栽培中國引種材料時，必須進行材料滅菌消毒。

高氏柴胡栽培試驗，高氏柴胡於4月初，定植於田間後，隨即抽苔開花，並於七月份開始結實，結實後枝條隨即枯萎。高氏柴胡於七月初開始自基部長出新梢，可能進行二次抽苔。此與前人研究之柴胡花期8~9月，果期9~10月並不相符。因此，未來在高氏柴胡栽培試驗上，仍需進一步研究調查柴胡之營養生長與花期管理，以免影響柴胡產量與成分質量。

高氏柴胡之栽培土壤以紅壤最為適宜，其次為砂土與坩土。柴胡耐旱，忌水，栽培時須注意田間排水，避免積水造成根部腐爛。高氏柴胡之肥培管理，宜施用有機肥4000 Kg/ha 與鉀肥120-240 kg/ha 可獲得高產。柴胡栽培時間以2~3年為宜。

伍、 結論與建議

1. 生長激素 BA 對於半夏微體增殖再生率效果最佳，而生長激素 TDZ 對於半夏微體增殖不定芽及芽體產生效果最好。半夏大量繁殖之培養基可添加 1-15 mg/l BA 與 0.0 - 0.2 mg/l NAA 進行增殖與繼代培養，約 6-7 週即可增殖一個世代。
2. 半夏乾品可由 CTAB 法萃取出 DNA，並將加以純化與進行 PCR 反應。執行中草藥乾品鑑定時，亦可由天南星科來做對照鑑定結果，以提高試驗之準確性。
3. 半夏栽培需特別注意光照、溫度與水分問題，遮光對於半夏之生長影響極大，宜全日照栽培。半夏花期對於塊莖之生長有很大之影響，因此半夏栽培需減少開花或剪除花苞。半夏塊莖大小差異極大，於

- 栽培與生產時，需進行種球分級，以利集團化之速成栽培。
4. 台灣半夏栽培之肥培管理，宜混合施用有機肥 4000 Kg/ha 與鉀肥 50 kg/ha 可以獲得高產，單獨施用有機肥亦可獲得高產，若單獨施用化學肥料則產量較低。
 5. 高氏柴胡之栽培土壤以紅壤最為適宜，其次為砂土與坩土，惟地上部植株指標成分分析以砂土栽培之植株含量較高。柴胡耐旱，忌水，栽培時須注意田間排水，避免積水造成根部腐爛。高氏柴胡之肥培管理，宜施用有機肥 4000 Kg/ha 與鉀肥 120-240 kg/ha 可獲得高產，地上部指標成分含量則以施用鉀肥 240-360kg/ha 較高。柴胡栽培時間以 2~3 年為宜，本試驗數據為一年生高氏柴胡之栽培研究結果，數據期供相關研究輔導單位之參考。
 6. 過去台灣進行柴胡研究之品種多為高氏柴胡與三島柴胡，以北柴胡之引種與栽培研究甚少。而目前栽植之四年生北柴胡種原生長良好已開花結實，下年度將可擴大栽培試驗北柴胡之選種與 GAP 栽培研究。

誌謝

本研究計畫承蒙行政院衛生署中醫藥委員會(CCMP97-RD-102)提供經費贊助，本計畫得以順利完成，特此誌謝。

陸、參考文獻

- [1] 丁自勉、王玉平、郝學景、孫群、孫寶啟、張旭。2005。北柴胡(*Bupleurum chinese*)花序分化進程研究。植物學通報，22(6)：692~696。
- [2] 甘偉松。1993。藥用植物學，國立中國醫藥研究所。臺北。pp.618-9。
- [3] 中華民國行政院農業委員會。2003。有機農業法規。行政院農業委員會。台灣。台北。pp.1。
- [4] 中華民國衛生署中醫藥委員會。1999。中藥材品質管制組織型態學鑑定。行政院衛生署中醫藥委員會。台灣。台北。pp.259-260,376-377。
- [5] 中華民國衛生署藥物食品檢驗局。2006。易混淆及誤用藥材之鑑別(I)。行政院衛生署藥物食品檢驗局。台灣。台北。pp.1-30；298-299。

- [6] 中華民國衛生署藥物食品檢驗局。2006。易混淆及誤用藥材之鑑別 (II)。行政院衛生署藥物食品檢驗局。台灣。台北。pp.241-247。
- [7] 中華民國衛生署中醫藥委員會。2004。中藥對照指標成分物理化學資料彙編。行政院衛生署中醫藥委員會。台灣。台北。pp.97-99、263-266。
- [8] 中華民國衛生署中醫藥委員會。2004。台灣中醫藥防治 SARS 關鍵成果報告彙編 (一)。行政院衛生署中醫藥委員會。台灣。台北。pp.88-94,120-127。
- [9] 中華民國衛生署中醫藥委員會。2004。中華中藥典。行政院衛生署中醫藥委員會。台灣。台北。pp.46-47,126-128。
- [10] 中華民國衛生署中醫藥委員會。2002。台灣常用藥用植物圖鑑第三冊。行政院衛生署中醫藥委員會。台灣。台北。pp.174、352、389~391、395。
- [11] 王曉萱。2005。基因重組聚木醣酵素之生化特性探討。靜宜大學食品營養研究所。台中，台灣。
- [12] 李秋梅、黃敏展。2003。銀葉桉組織培養之建立。中國園藝 49(4):353-360。
- [13] 邱年永。1973。藥用植物栽培法，大學圖書出版社。台北。pp.204-209、381-383。
- [14] 胡敏夫、黃漢津、劉新裕。1987。不同採收期與貯藏法對柴胡種子發芽勢之影響。中華農業研究 36:267-275。
- [15] 胡肇東。2007。影響台灣中草藥業國際競爭力之因素。大同大學事業經營研究所碩士論文。臺北市。
- [16] 高木敬次郎。1992。和漢藥物學，國立中國醫藥研究所。台北。pp.63-68,243-246。
- [17] 陳玉玲 2005。紅楠與大葉楠兩近源種之粒線體基因譜系。中國文化大學生物科技研究所。臺北市。
- [18] 黃漢津、劉新裕。1987。柴胡種子發芽勢之改良研究。中華農業研究 36:258-266。
- [19] 陳威臣、葉茂生、蔡新聲。2004。臺灣原生藥用植物—高氏柴胡腋芽培養之大量繁殖研究，中華農業研究。53：27-38。
- [20] 黃明星。1989。半夏藥效成分的定量研究與方劑中藥效成分之探討。國立台灣師範大學化學研究所。臺北市。

- [21] 黃錦源。2000。紅檜與台灣扁柏族群粒線體 DNA 遺傳變異與分化。中國文化大學生物科技研究所。臺北市。
- [22] 許博文。2002。藥用植物動物之栽培與飼養，九州圖書文物有限公司。台北。pp.130-132,346-350。
- [23] 張淑華、何政坤、蔡錦瑩。1996。台灣紅豆杉癒合組織之誘導、培養與紫杉醇生產。台灣林業科學 11(4):445-453。
- [24] 張淑華、何政坤、蔡錦瑩。2002。牛樟之組織培養。台灣林業科學 17(4)491-501。
- [25] 童承福、何玉玲、蔡輝彥、張永勳。1999。台灣市售易誤用、混用中藥品種之調查，中國醫藥學院雜誌。台中；8 (1): 35-46。
- [26] 蔡淑華。1975。植物組織切片技術綱要，茂昌圖書有限公司。台北。pp.30-46。
- [27] 鄒岳廷。2003。彩色海芋癒合組織之誘導。國立中興大學生命科學院碩士論文。臺中市。
- [28] 廖淑櫻。2001。台灣市售半夏類藥材之鑑別與止咳作用之研究，中國醫藥學院中國醫藥研究所。臺中市。
- [29] 鄭弘馳。2002。微電泳分離晶片在半夏中藥成份分析的應用。私立輔仁大學化學研究所。臺北縣。
- [30] 劉新裕、林俊義、張成國。2002。藥用植物專輯，行政院農委會農業試驗所。台中。pp. 93、129-133。
- [31] 劉新裕、王昭月、劉慧瑛、宋麗梅。1995。不同海拔與採收期對本省柴胡性狀、產量與成分之影響。中華農業研究 44:258-278。
- [32] 劉新裕、林俊義、林宜信、謝伯舟。2005 藥用植物資源之開發與利用，行政院農委會農業試驗所。台中。pp.80-82。蔡謹予。2004。牛樟癒合組織誘導及懸浮培養之研究。南台科技大學生物科技研究所碩士學位論文。臺南縣。
- [33] Akihiro Tada, Ryoji Kasai, Tamotsu Saitoh, and Junzo Shoji, 1980. Studies on the Constituents of *Ophiopogonis tuber*. V. Isolation of a Novel Class of Homoisoflavonoids and determination of their Structures. Chem Pharm Bull, 28(5), 1477-1484.
- [34] Antonios S. Mellidis and Vassilios P. Papageorgiou., 1987, Lipids from Roots of *Onosma Heterophylla*. Phytochemistry. 26 (3) : 842-843。

- [35] Bollmark, M. and Eliasson, L. 1986. Effect of exogenous cytokinins on root formation in pea cuttings, *Physiol. Plant.* 68: 662-666.
- [36] Bo-Yang Yu, Yasuaki Hirai, Junzo Shoji, and Guo-jun Xu, 1990. Comparative Studies on the Constituents of *Ophiopogonis tuber* and Its Congeners. VI. Studies on the Constituents of the Subterranean Part of *Liriope spicata* var. *prolifera* and *L. muscari*. *Chem Pharm Bull*, 38 (7), 1931-1935.
- [37] Cho, D. Y. and Soh, W. Y. 1989. Effect of endogenous IAA transport on adventitious root formation in *Phaseolus vulgaris* hypocotyl cuttings. *Korean J. Bot.* 32:323-330.
- [38] Drew, R. A., Simpson, B. W. and Osborne, W. J. 1991. Degradation of exogenous indole-3-butyric acid and riboflavin and their influence of rooting response of papaya *in vitro*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 26: 29-34.
- [39] Fabijan, D., Taylor, J. S. and Reid, D. M. 1981. Adventitious rooting in hypocotyls of sunflower (*Helianthus annuus*) seedlings II. Action of gibberellins, cytokinins, auxins and ethylene. *Physiol. Plant.* 53: 589-597.
- [40] Fang XC., Yu BY, Xiang BR, and An DK., 1990. Application of pyrolysis-high-resolution gaschromatography-pattern recognition to the identification of the Chinese traditional medicine Mai Dong. *Journal of Chromatography.* 514 (2) ,287-92。
- [41] George, E. F. 1993, 1996. Plant propagation by tissue culture:Part 2 In Practice. Exegetics Limited p. 318, 642-649.
- [42] Kuehnle, A. R., Chen, F. C. and Sugii, N. 1992. Somatic embryogenesis and plant regeneration in *Anthurium andraeanum* hybrids. *Plant Cell Reports* 11: 438-422.
- [43] Malamug, J. J. F., Inden, H., Yazawa, S. and Asahira, T. 1992. Callus formation and multiplication in taro. *J. Japan, Soc. Hort. Sci.* 60(4): 927-933.
- [44] Murashige, T. 1977. Manipulation of orange initiation in plant tissue culture. *Bot. Bull. Acad. Sin.*18: 1-24.
- [45] Nalawade S. M. and H. S. Tsay. 2004. In vitro propagation of

- some important Chinese medicinal plants and their sustainable usage. *In vitro* cell. Dept. Biol.-Plant 40:143-154.
- [46] Nalawade S. M., A. P. Sagare, C. Y. Lee, C. L. Kao and H. S. Tsay. 2003. Studies on tissue culture of Chinese medicinal plant resources in Taiwan and their sustainable utilization. *Bot. Bull. Acad. Sin.* 45:143-147.
- [47] Pan, M. J. and J. van Staden. 1998. The use of charcoal in *in vitro* culture- A review. *Plant Growth Regul.* 26:155-163.
- [48] Pan, M. J. and J. van Staden. 1998. The use of charcoal in *in vitro* culture- A review. *Plant Growth Regul.* 26:155-163.
- [49] Takayuki. A., Tetsuya M, Yasuaki H, and Junzo S., 1993. Comparative Studies on Constituents of Ophiopogonis Tuber and Its Congeners. VII. Studies on the Homoisoflavonoids of the Subterranean Part of Ophiopogon japonicus KER-GAWLER cv. Nanus. (1) .*Chem. Pharm. Bull.* 41 (2) , 391-3.
- [50] Takayuki. A., Tetsuya M. , Yasuaki H. and Junzo S., 1993. Comparative Studies on Constituents of Ophiopogonis Tuber and Its Congeners. VIII. Studies on the Glycosides of the Subterranean Part of Ophiopogon japonicus KER-GAWLER cv. Nanus. (2) .*Chem. Pharm. Bull.* 41 (3) ,566-70.
- [51] Wanke, S., M. A. Jaramillo, T. Borsch, Marie-Stéphanie Samain,D. Quandt, and C. Neinhuis. 2007. Evolution of Piperales—*matK* gene and *trnK* intron sequencedata reveal lineage specific resolution contrast. *Molecular Phylogenetics and Evolution.* 42: 477-497.
- [52] Wilson, C. A. 2004. Phylogeny of Iris based on chloroplast *matK* gene and *trnK* intron sequence data. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 33: 402-412.
- [53] Yoshiaki W., Shuichi S, Yoshiteru I, and Junzo S., 1983. Comparative Studies on the Constituents of Ophiopogonis tuber and Its Congeners. I. Studies on the Constituents of the Subterranean Part of Liriope Platyphylla Wang et Tang. *Chem Pharm Bull*, 31 (6), 1980-1990.
- [54] Yoshitama., K. Kawasoe T, and Ishikura N, 1993. Isolation of a

New Flavonol Glycoside and Its Effects on the Blue Color of Seed Coats of *Ophiopogon jaburan*. *Journal of Plant Research*.106 (1083) ,223-7.

- [55] Yu BY., Qiu SX, Zaw K, Xu GJ, Hirai Y, Shoji J, Fong HH, and Kinghorn AD. 1996. Steroidal Glycosides from the subterranean parts of *Liriope spicata* var. *prolifera*. *Phytochemistry*. 43 (1) ,201-6.

表 1、生長調節劑 0.1 mg/L NAA 組合不同濃度 BA、Kinetin、TDZ 及 2ip 對半夏微體增殖再生率及不定芽發生率之影響。

Cytokins conc. (mg/L)	Regeneration(%)		*Multiplication (No./explant)		
	Stem fragment	Leaf disc	Stem fragment	Leaf disc	
BA	0.5	100	89.8	3.7	3.7
	1	96.3	90.7	5.4	4.5
	2	93.5	92.6	11.4	5.5
	S.D.	3.25	1.41	0.23	0.15
Kinetin	0.5	75.0	91.7	0.2	3.0
	1	80.6	87.0	4.9	2.8
	2	90.7	81.5	6.5	3.8
	S.D.	7.97	5.09	1.01	0.40
TDZ	0.5	96.3	88.0	7.1	6.2
	1	97.2	72.2	5.8	6.8
	2	83.3	85.2	11.9	14.5
	S.D.	7.76	8.39	1.61	0.98
2ip	0.5	88.0	94.5	3.7	2.3
	1	85.1	65.7	4.1	3.1
	2	77.8	83.3	6.7	4.4
	S.D.	5.26	14.46	—	0.58

* 不定芽發生在此定義為>3mm

表 2、有機肥料施用量與栽培時間對半夏塊莖莖長與莖寬之影響。

有機肥處理	kg/ha	7 月齡		13 月齡	
		莖長(cm)	莖寬(cm)	莖長(cm)	莖寬(cm)
化學肥	0	1.66	1.49	1.76	1.57
有機肥	4000	1.71	1.54	1.92	1.66
	8000	1.77	1.59	1.82	1.63
	12000	1.67	1.51	1.89	1.63

表 3、有機肥料施用量與栽培時間對半夏塊莖增質數量及乾物重百分率之影響。

有機肥處理	kg/ha	增殖數量 (顆)		乾物重百分率 (%)	
		7 月齡	13 月齡	7 月齡	13 月齡
化學肥	0	15.6	25.9	26.3	25.2
有機肥	4000	17.4	27.3	27.5	26.3
	8000	15.1	28.3	28.4	28.5
	12000	17.9	29.6	28.3	28.4

表 4、有機肥料施用量與栽培時間對半夏塊莖鮮重與乾重之影響。

有機肥處理 kg/ha	7 月齡		13 月齡	
	鮮重	乾重	鮮重	乾重
	(g/顆)	(g/顆)	(g/顆)	(g/顆)
化學肥 0	2.48	0.65	3.18	0.80
有機肥 4000	2.65	0.73	3.76	0.99
8000	2.90	0.82	3.34	0.95
12000	2.49	0.70	3.47	0.98

表 4、有機肥料施用量與栽培時間對半夏塊莖鮮重與乾重之影響。

有機肥處理 kg/ha	7 月齡		13 月齡	
	鮮重	乾重	鮮重	乾重
	(g/顆)	(g/顆)	(g/顆)	(g/顆)
化學肥 0	2.48	0.65	3.18	0.80
有機肥 4000	2.65	0.73	3.76	0.99
8000	2.90	0.82	3.34	0.95
12000	2.49	0.70	3.47	0.98

表 5、有機肥料施用量與栽培時間對半夏塊莖鮮重產量及乾重產量之影響。

有機肥處理 kg/ha	7 月齡		13 月齡	
	鮮重	乾重	鮮重	乾重
	(kg/ha)	(kg/ha)	(kg/ha)	(kg/ha)
化學肥 0	6762	1779	8673	2187
有機肥 4000	6926	1904	9809	2584
8000	6949	1973	8016	2284
12000	6504	1839	9052	2568

表 6、不同基肥及鉀肥用量對半夏塊莖鮮重與乾重產量之影響。

基肥	鉀肥處理 kg/ha	塊莖 (g/顆)		塊莖 (kg/ha)		含水百 分率 (%)	乾物重百 分率 (%)
		鮮重	乾重	鮮重	乾重		
有機肥	50	4.2a	1.2a	10823a	2974a	72.5	27.5
	250	3.8ab	1.0ab	9890ab	2565ab	74.1	25.9
	450	3.3ab	0.8b	8618ab	2033b	76.4	23.6b
化學肥	50	3.6ab	0.8b	9171ab	2144b	76.6	23.4
	250	3.2b	0.8b	8234b	1989b	75.8	24.2
	450	2.2c	0.5c	5709c	1243c	78.2	21.8

表 7、鉀肥對高氏柴胡農藝性狀之影響。

鉀肥處理 (kg/ha)	株高 (cm)	分蘗數 (個)	葉長 (cm)	葉寬 (cm)	莖粗 (cm)	根粗 (cm)	根長 (cm)
0	60.5	7.8	9.5	0.70	0.83	0.43	30.1
120	65.3	10.7	9.4	0.73	0.92	0.50	30.5
240	61.0	14.2	10.2	0.75	0.91	0.48	35.0
360	62.2	10.5	9.1	0.69	0.81	0.50	30.1

表 8、鉀肥對高氏柴胡植株鮮重及乾重之影響。

鉀肥處理 (kg/ha)	地上部		地下部		地上部乾物重 百分率(%)	地下部乾物重 百分率(%)
	鮮重 (g)	乾重 (g)	鮮重 (g)	乾重 (g)		
0	13.5	5.6	6.6	2.3	40.8	34.9
120	17.1	7.0	9.5	2.8	40.9	30.1
240	20.5	8.1	8.8	3.5	39.6	40.2
360	17.9	8.5	8.6	2.7	39.5	32.6

表 9、鉀肥對高氏柴胡植株產量之影響。

鉀肥處理 (kg/ha)	地上部		地下部	
	鮮重 (kg/ha)	乾重 (kg/ha)	鮮重 (kg/ha)	乾重 (kg/ha)
0	1353	563	660	230
120	1713	697	947	280
240	2047	810	880	347
360	1793	850	865	270

表 10、栽培土壤對高氏柴胡農藝性狀之影響

Table 10. Effect of soil on agricultural character of *Bupleurum kaoi* Liu.

土壤	株高 cm	分蘗數 個	葉長 cm	葉寬 cm	莖粗 cm	根粗 cm	根長 cm
砂土 (Sa)	62.8	11.3	9.5	0.7	0.8	0.5	25.8
坩土 (Si)	58.9	10.3	9.4	0.7	1.0	0.5	27.3
紅壤 (La)	61.5	12.8	9.2	0.7	0.9	0.5	32.7

表 11、栽培土壤對高氏柴胡植株鮮重及乾重之影響

Table 11. Effect of soil on plant fresh and dry weight of *Bupleurum kaoi* Liu.

土壤	地上部		地下部		地上部 乾物重 百分率 (%)	地下部 乾物重 百分率 (%)
	鮮重 (g)	乾重 (g)	鮮重 (g)	乾重 (g)		
砂土 (Sa)	20.5a	8.3a	8.7b	2.6a	40.5a	30.7a
坩土 (Si)	18.7a	7.5a	8.5b	2.7a	39.6a	31.3a
紅壤 (La)	20.7a	8.5a	11.1a	3.2a	40.9a	28.7a

表 12、栽培土壤對高氏柴胡植株產量之影響

Table 12. Effect of soil on plant fresh and dry weight yield of *Bupleurum kaoi* Liu.

土壤	地上部		地下部	
	鮮重 (kg/ha)	乾重 (kg/ha)	鮮重 (kg/ha)	乾重 (kg/ha)
砂土 (Sa)	2050	830	867	263
坩土 (Si)	1867	747	850	267
紅壤 (La)	2070	850	1107	320

表 13、柴胡與半夏田間栽培試驗區之土壤暨水質檢驗結果

(檢驗單位：農業藥物毒物試驗所)

檢測項目	土壤重金屬		灌溉水質	
	----mg/kg----		----mg/kg----	
	容許量	檢出含量	容許量	檢出含量
砷 (As)	<15	10.1	<0.05	ND
鎘(Cd)	<0.39	ND	<0.01	ND
鉻(Cr)	<10	0.47	<0.1	ND
銅(Cu)	<20	2.55	<0.2	ND
汞(Hg)	<0.39	ND	<0.002	ND
鎳(Ni)	<10	ND	<0.2	ND
鉛(Pb)	<15	4.21	<0.1	ND
鋅(Zn)	<25	12.7	<2.0	0.07
鐵(Fe)		--	<5	--
錳(Mn)		--	<2	--
pH 值		--	6.0-9.0	--
(dS/m)		--	<0.75	--

表 14、柴胡指標成分 Saikosaponin A 與 Saikosaponin D 定量結果，如表所示。

樣品名稱	部位		Saikosaponin A (mg/g)	Saikosaponin D (mg/g)
北柴胡	葉		44.19	0.24
乾品	根		1.48	1.17
高氏柴胡	地下部	La 根	3.94	2.41
不同介質		Sa 根	2.89	2.42
		Si 根	3.83	3.06
高氏柴胡	地下部	K1 根	3.83	2.38
不同鉀肥		K2 根	3.03	2.56
		K3 根	3.04	2.32
		K4 根	4.42	2.88
高氏柴胡	地上部	La 葉	32.61	3.55
不同介質		Sa 葉	47.74	4.03
		Si 葉	32.67	1.60
高氏柴胡	地上部	K1 葉	38.64	3.09
不同鉀肥		K2 葉	34.59	2.60
		K3 葉	46.37	4.33
		K4 葉	46.07	5.85

註：因柴胡標準品 Saikosaponin A 在 UV 中並無特殊吸收波長，而實驗結果是依其 HPLC 分析圖譜之積分面積來換算樣品濃度，故柴胡葉中的 Saikosaponin A 是否有其他物質的干擾，依目前的圖譜資料無法斷定。



圖1. a. 台灣原生半夏塊莖種球；b. 中國河南引種之半夏塊莖種球。

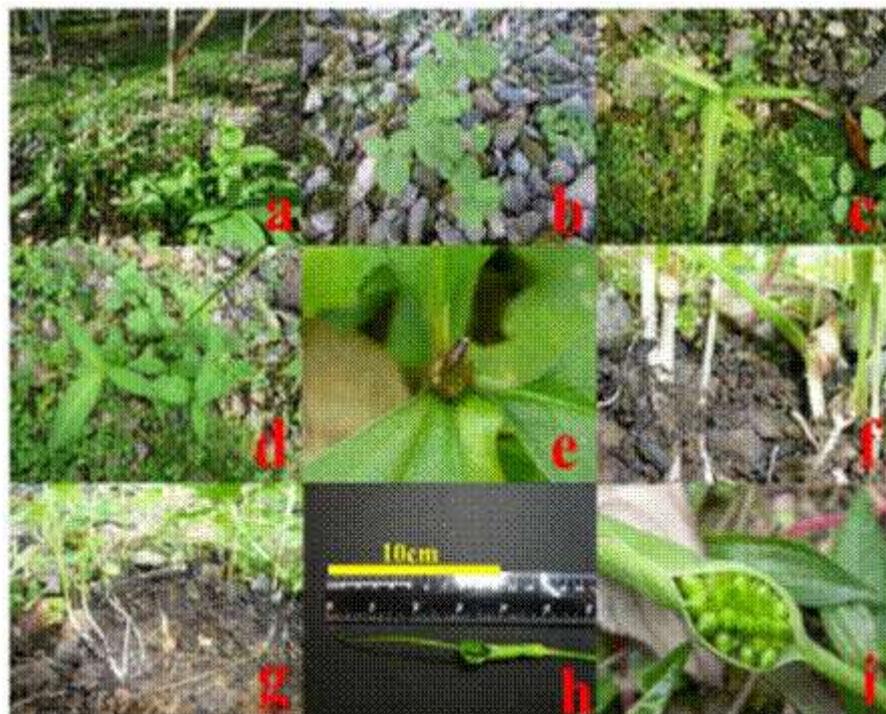


圖2. 半夏植物型態：a. 半夏原生族群；b.~d. 半夏不同葉片型態；e. 葉片上之珠芽；f. 葉柄基部之珠芽；g. 根系與塊莖；h. 花器-佛焰苞；j. 漿果。

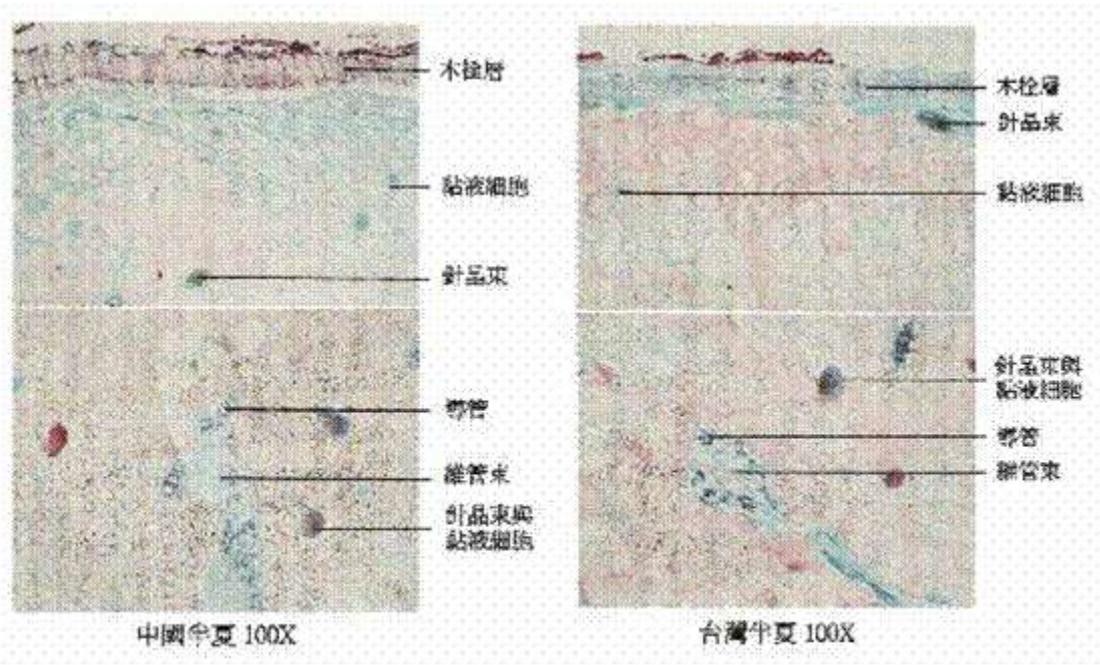
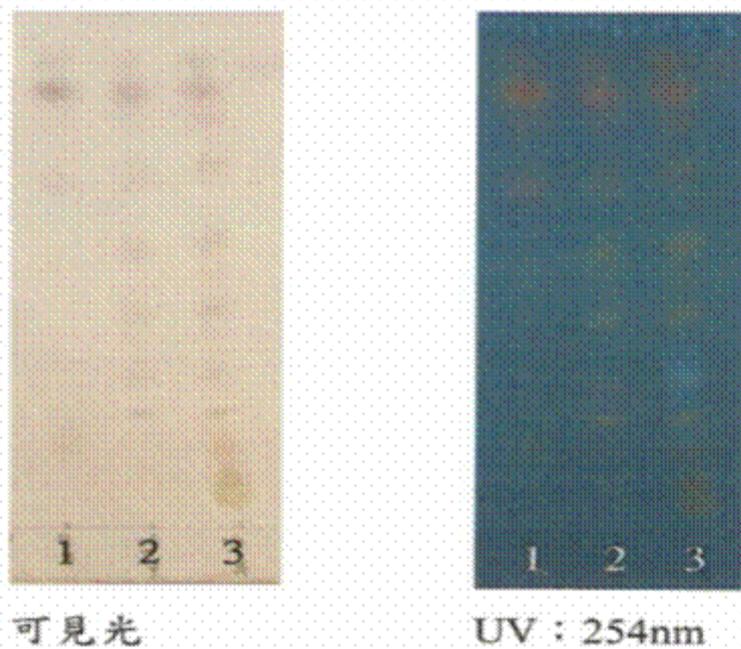


圖 3. 中國半夏與台灣半夏之組織切片。



1: 半夏生品; 2: 台灣半夏; 3: 中國半夏

圖 4. 中國半夏與台灣半夏之薄層層析 (TLC)



圖 5.半夏組培苗馴化：a.半夏組培材料；b.馴化3個月之半夏；c.馴化3個月之半夏根系；定植2個月後之半夏植株。

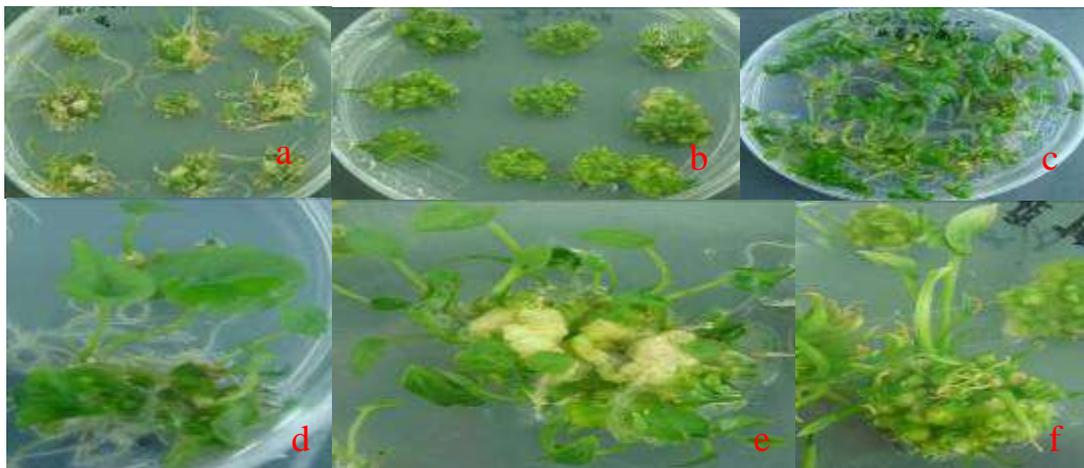


圖 6.半夏組織培養。a.為 N01B 的莖段及莖段由於放置時間過於長久，造成不定芽及芽體褐化 b.為 N01T05 的莖段其再生率、不定芽及芽體發生率皆相當良好，但增進微體發根部分則是為最差。c.為 N012ip 葉面照，其葉面生長比莖段良好，芽體都已成型。d.為 N01B05 葉面照其生長情形同 2ip 也是葉面優於莖段，但再生率則為生長激素 BA 最好。e.為 N01B 葉面照，其癒傷組織發育良好。f. 為 N01T2 莖段照，與 N01B 一樣已有褐化現象。



圖 7. 柴胡健康種苗育苗技術：a. 柴胡種子；b. 流水漂洗；c. 漂洗後播種於穴盤；
d. 播種 20 天幼苗播種；e. 60 天幼苗；f. 假植 30 天之幼苗；g. 田間定植 30
天後之幼苗。

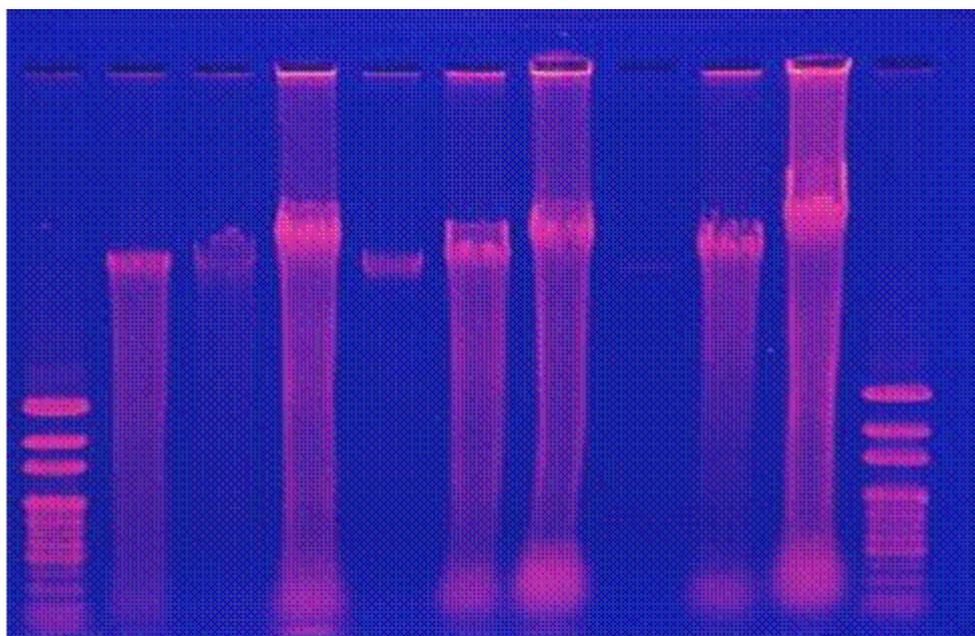


圖 8. 半夏乾品與鮮品 DNA 萃取產物電泳圖。M 為 100bp
ladder marker，lane 1~5 為半夏乾品；lane 6~9 為半夏
鮮品。

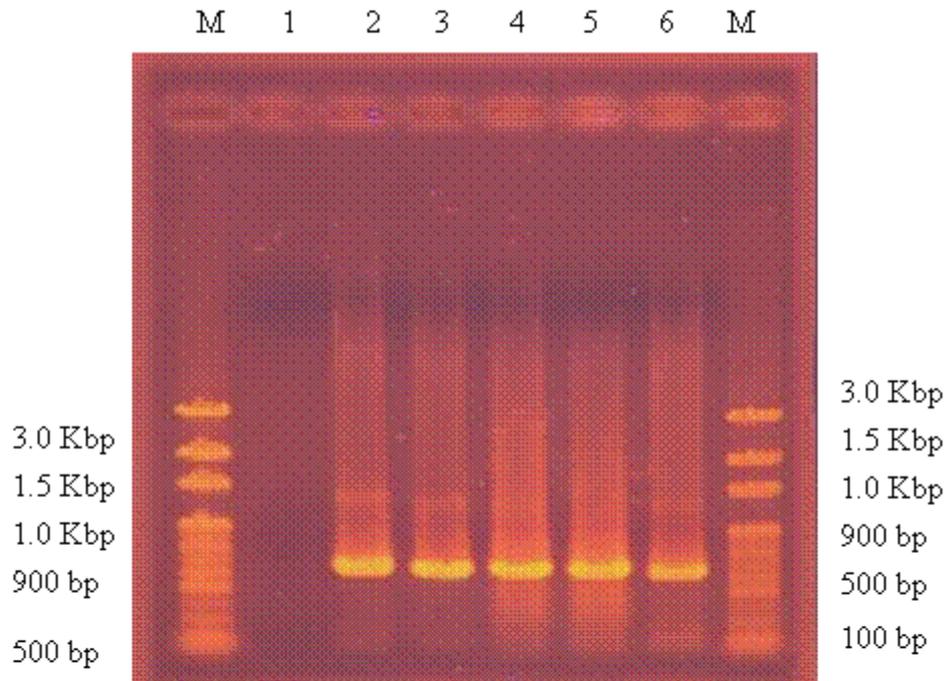


圖 9.半夏鮮品與乾品經 PCR 放大 *matK* 基因產物電泳圖。M 為 100bp ladder marker，lane1 為純水，lane2、3 為天南星科，lane4、5 為半夏乾品，lane6 為半夏鮮品。



圖 10. 半夏不同有機肥施用量試驗：a.栽培情形；b.採收後之塊莖；c.去皮後之半夏塊莖。



圖 11.半夏蟲害防治：a.銀條斜線天蛾幼蟲危害；b.銀條斜線天蛾；
c.扁蝸牛危害；d.苦茶粕防治蝸牛之危害。



圖 12.高氏柴胡不同鉀肥施用量試驗：a.2008/04/08 田間定植；b.定植 30 天後；c.定植 72 天後；d.定植 210 天後。



圖 13. 高氏柴胡不同有鉀肥施用量試驗：a. 0 K_2O kg/ha；
b. 120 K_2O kg/ha；c. 240 K_2O kg/ha；360 K_2O kg/ha。



圖 14. 高氏柴胡不同栽培土壤試驗：Sa 砂土；Si 坩土；c. La 紅壤。

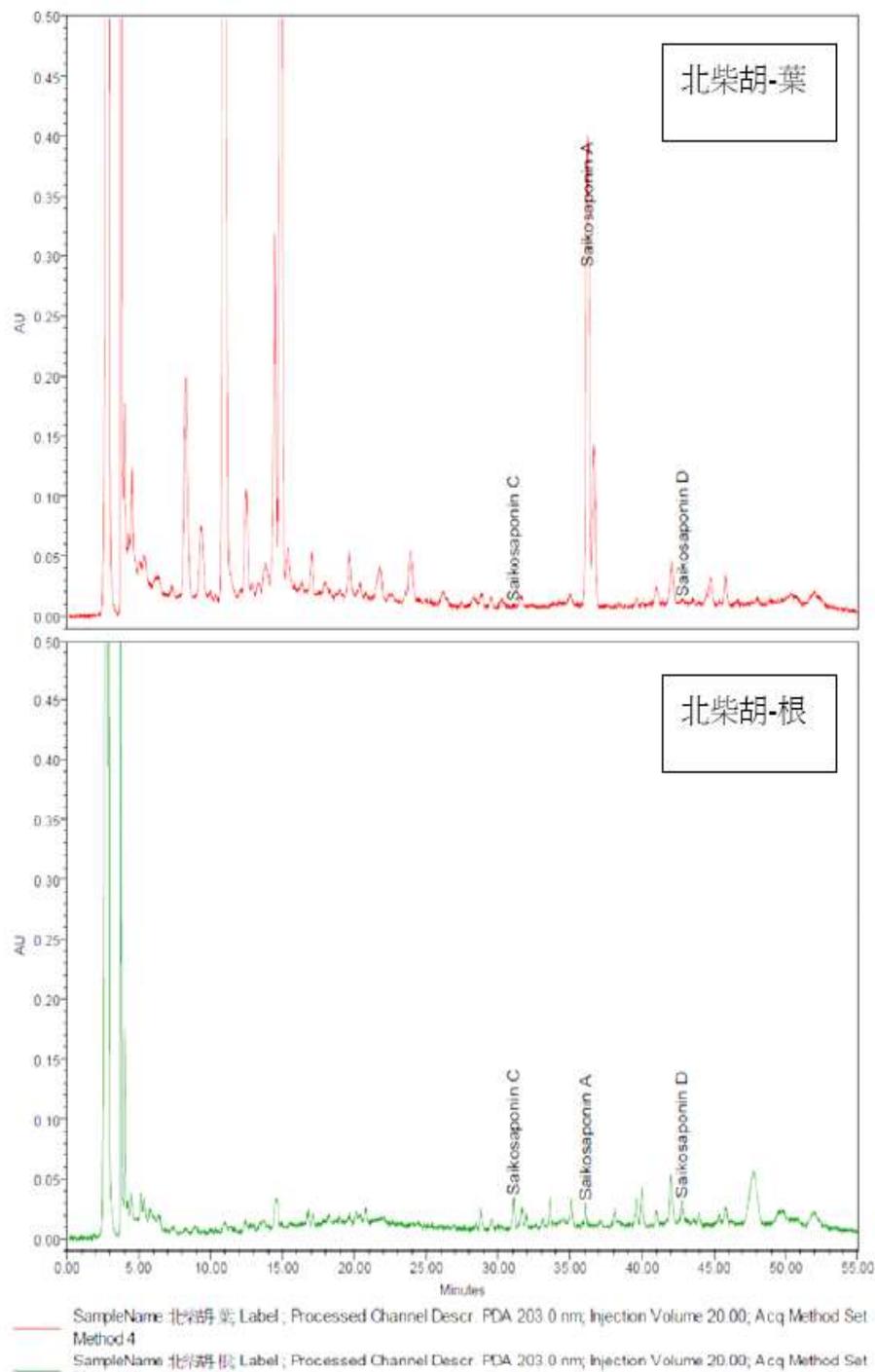


圖 15. 柴胡樣品利用 HPLC 分析圖譜。圖為北柴胡根、葉分析圖譜。

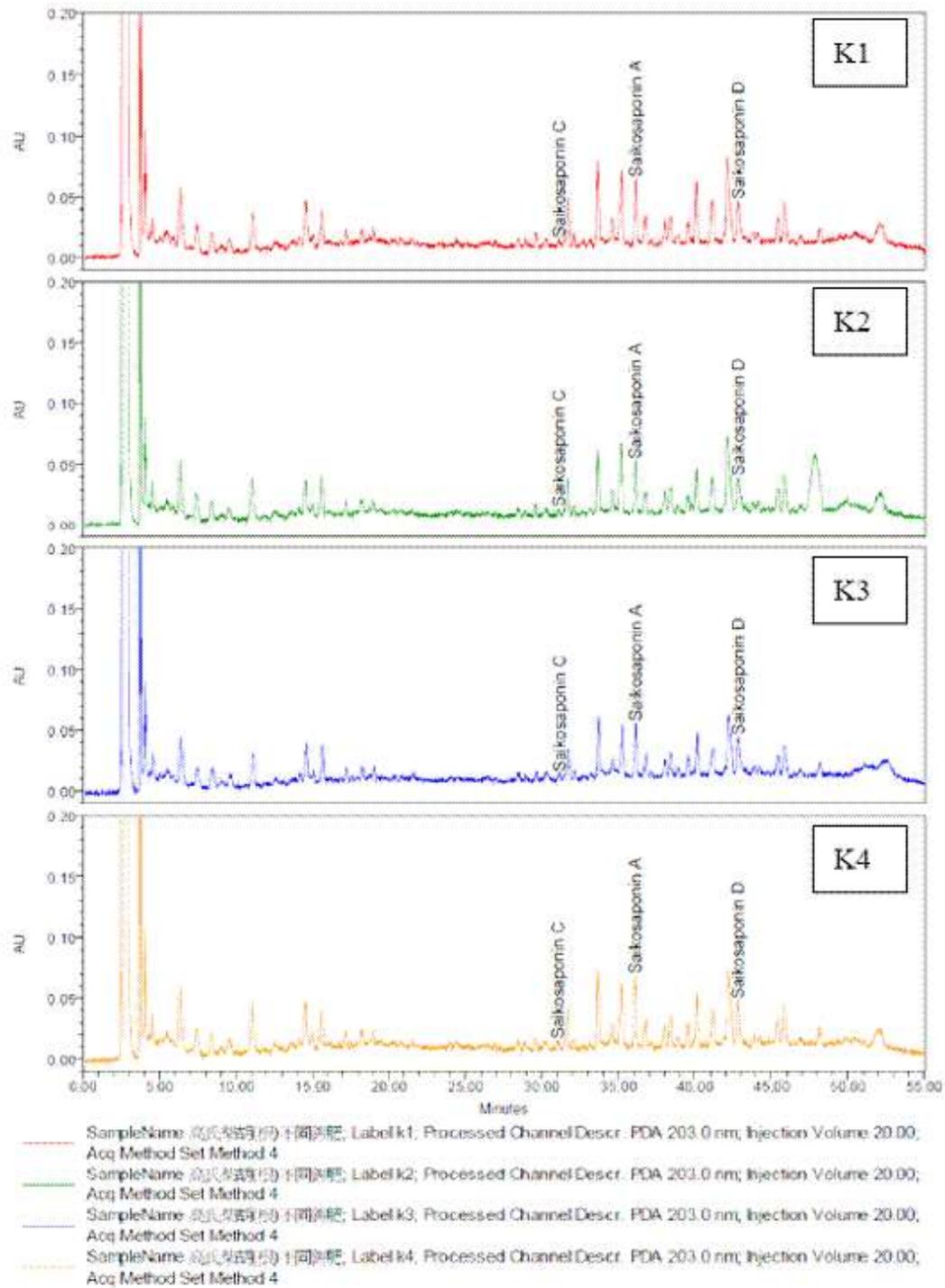


圖 16.不同鉀肥濃度施用對高氏柴胡根部的分析圖譜。

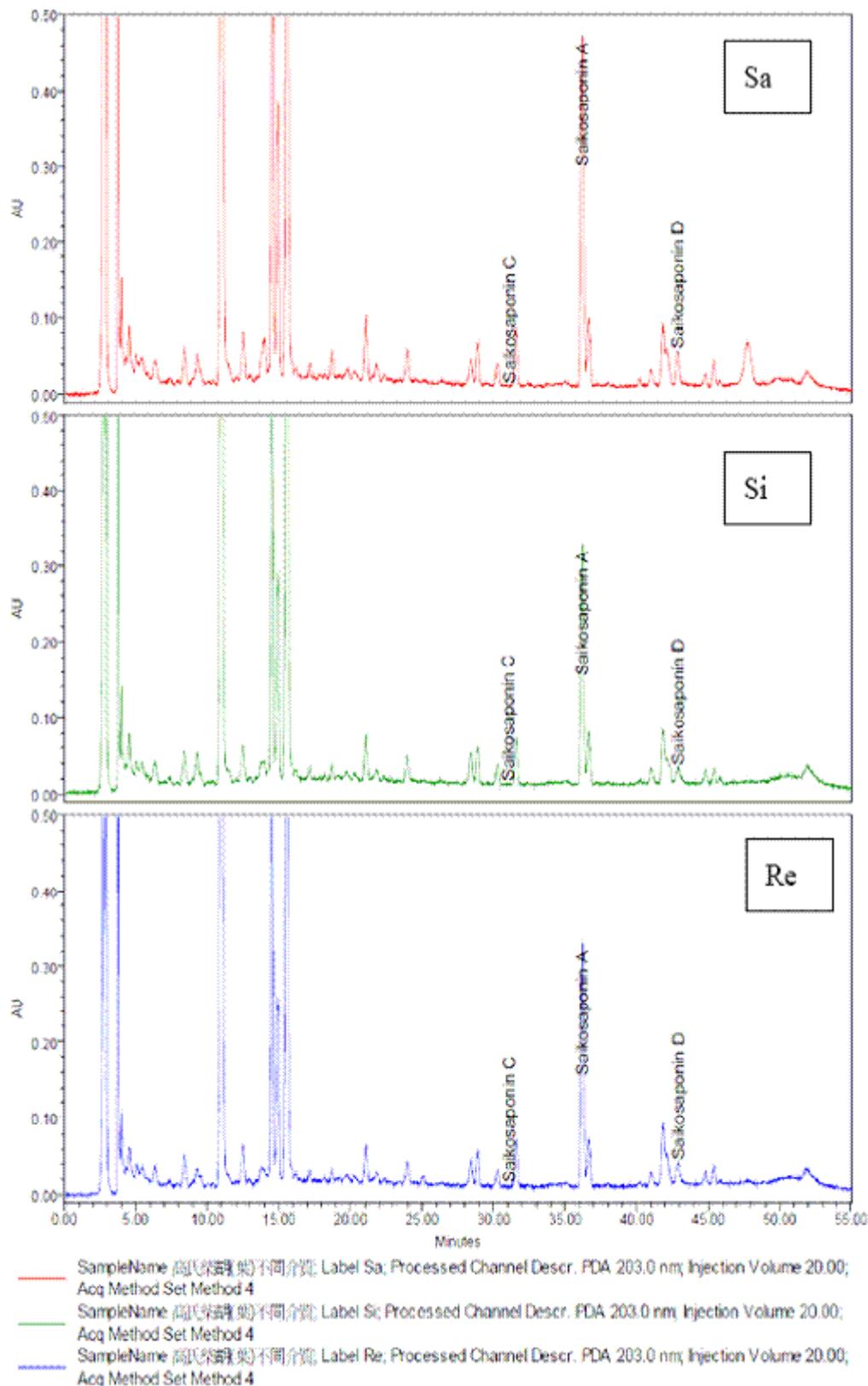


圖 17.不同介質栽培的高氏柴胡分析圖譜。

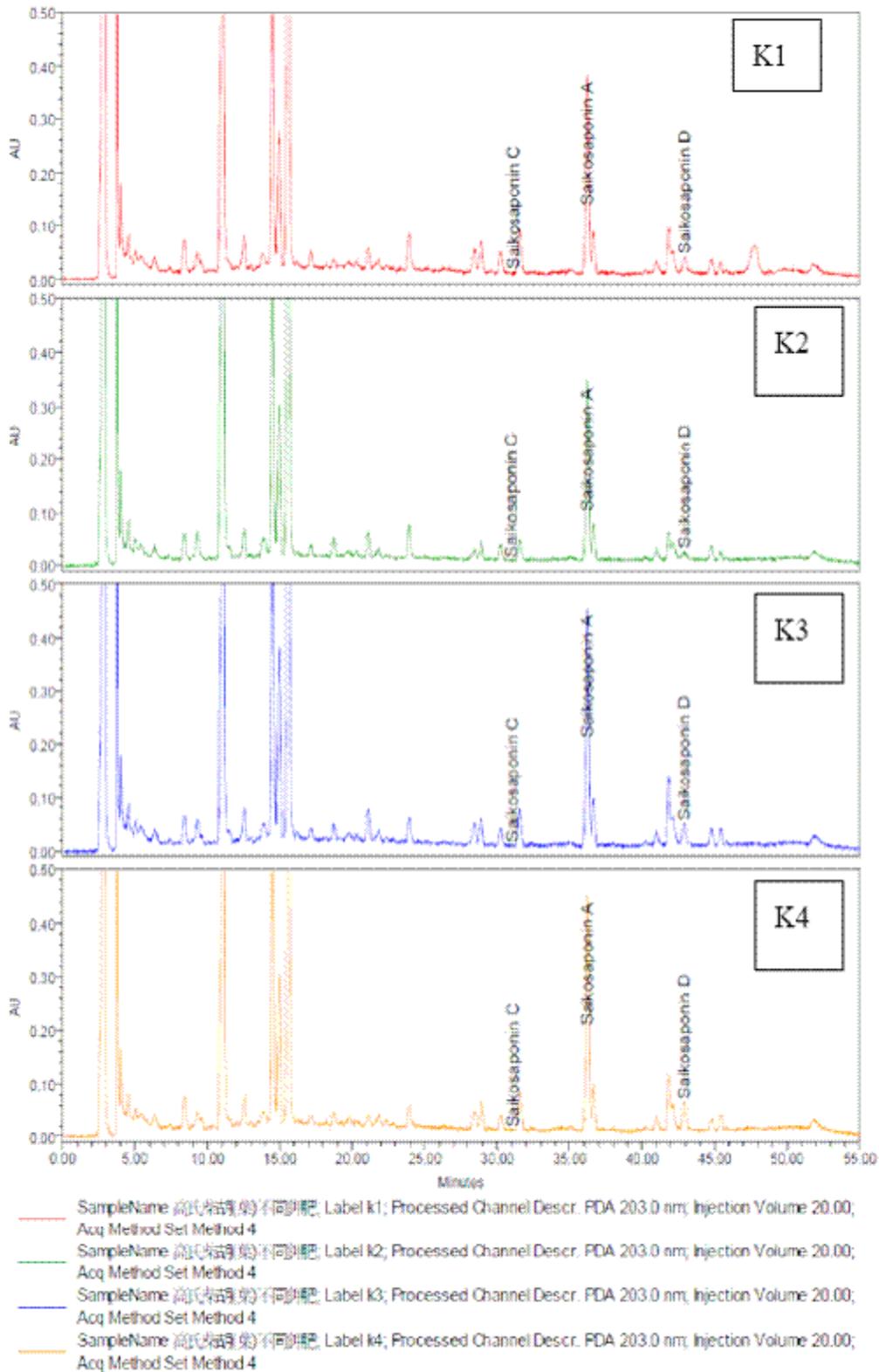


圖 18.不同鉀肥濃度之高氏柴胡葉部成份分析圖譜。

