

編號：CCMP92-RD-043

# 本土中草藥選種育種及有機栽培研究

陳世雄

中興大學

## 摘要

本研究探討馬藍之有機及 GAP 栽培，進行引種選種及育種工作，並進行組織培養，以及成分分析。藉以選育適合平地栽培品種，並建立中草藥有機栽培及 GAP 模式，以供未來台灣發展中草藥栽培之標準作業模式。第一年試驗結果已搜集馬藍、長穗馬藍、曲莖馬藍，以及蓼藍和菘藍數個品種，分別在中興大學校區農場，及北溝農場進行試種，同時也進行組織培養。

今年就生產基地之灌溉水質及土壤之重金屬量分別檢測，(檢測項目包括砷、鎘、鉻、銅、鎳、鉛、鋅及酸鹼度、電導度)，結果顯示不論是灌溉水質及土壤之重金屬量均符合有機農業之容許量標準。

本試驗收集馬藍 (*Strobilanthes cusia*)、曲莖馬藍 (*S. flexicaulis*)、長穗馬藍 (*S. longespicata*) 與蘭嵌馬藍 (*S. rankanensis*) 等進行無性繁殖試驗。結果顯示在夏日即使 60-70% 網室遮陰，扦插仍無法成功。但在  $30 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  有效光合光量， $26^\circ\text{C}$ ，密閉保濕的扦插苗存活率 50% 以上，而且生長良好。野外採集的馬藍必需經過室內的前處理培養約 30-40 日後，才可降低無菌扦插的污染率。當消毒處理降低至 1/3 強度，蘭嵌馬藍未熟種子仍未受到污染。

本試驗可發展出馬藍快速大量扦插法，此外，由於試管內馬藍種子污染率極低，可用於逆境篩選，因為逆境處理植株不會因病蟲害而死亡，可以增加篩選機會，但種子取得有賴人工栽培為宜。

初步化學成份分析顯示，南、北板藍即菘藍和馬藍，在根部及葉部之甲醇萃取物之高極性成份與低極性成份的 HPLC/UV 指紋全圖譜差異比較，及已知抗發炎及抗癌的活性成分包括色胺酮及靛玉紅的定性分析偵測。

**關鍵詞：**菘藍、馬藍、液相層析質譜儀、組織培養、有機農業、優良農業操作、色胺酮、靛玉紅

CCMP92-RD-043

# Research on selection, breeding and organic farming for medical herbs

Shih Shiung Chen

National Chung Hsing University

## ABSTRACT

This research aimed to search, select, and breed *Strobilanthes cusia* for organic and good agricultural practices (GAP) cultivation. Some varieties of *S. cusia*, *Olygonum tinctorium* Ait. and *Isatis tinctoria* L. were collected and planted in the farm of both on campus and experimental station of National Chung Hsing University(NCHU). Organic farming and GAP were conducted. Tissue culture and breeding procedures were also conducted in laboratory.

To avoid the contamination of soil and irrigation water by heavy metals or residues of other chemicals, the content of As, Cd, Cr, Cu, Ni, Pb, and Zn and the pH were tested for soil and irrigation water of experimental station of NCHU, respectively. All data comply with the GAP requirement.

Four *Strobilanthes* species, such as *S. cusia*, *S. flexicaulis*, *S. longespicata* and *S. rankanensis*, were collected for asexual propagation. Experimental results indicated that survival rate of cutting is near zero under 60-70% shading in summer. The survival rate of the enclosed cuttings was over 50% under the condition of 30  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  PPF and the growth of cuttings was better. Since the enclosed cuttings were kept in a high humidity condition. To reduce the contamination of cuttings, the indoor pretreatment of collected plants should be conducted for 30-40 days or more before the sterilization process of cuttings was implemented. Although the dis-infection rate was reduced to 1/3, the immatured seeds of *S. rankanensis* were still not be contaminated.

Accordingly, quick and mass production for seedlings of *Strobilanthes* derived

from cutting may be developed by means of the modified protocols. In addition, it is possible to use seed culture *in vitro* of *Strobilanthes* in stress adaptation selection because of no unexpected death of treated plants due to microorganism and insects infections. For ready acquirement of vigorous seeds, it is suitable to collect seeds from the cultured plants.

The comparison of the HPLC/UV chromatographs of the methanol extract of the root and stem parts of *Isatis indigotica* and *Strobilanthes cusia* were shown. The active components including indirubin and tryptanthrin were detected in high amount in leaves but low in the root parts on both plants.

**Keywords:** *Isatis indigotica*, *Strobilanthes cusia*, tissue culture, organic cultivation, GAP, indirubin, tryptanthrin

## 壹、前言

### 一、本土中草藥南板藍根之繁殖與篩選

臺灣所用板藍根藥材以臺灣本土植物馬藍等為主，馬藍對鎮痛、抗炎、解熱及由不同藥物誘發肝損傷之治療作用方面，皆具有一定之效果。臺灣未生產大陸北板藍根及大青葉，應可將馬藍開發成為一新的藥物（何，2001）。就農藝觀點而言，收穫根部的農作物改良難度高於收穫種子植物，因為根部不易隨時看見，田間取樣費時耗力，但將種子無菌播種試管內則可隨時觀察又不傷及材料，例如西洋草藥紫錐菊，無菌播種之試管苗，根部表皮可區分不同顏色。

### 二、板藍根有機栽培及優良農業操作模式之建立

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，植物總類相當豐富。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。

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、鳳梨釋迦、有機玉米以及有機蔬菜等。為完全使用有機栽培的農場。未來擬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、中藥板藍根的品質管制

文獻報導在南、北板藍之化學成分上均含色胺酮及靛玉紅〔1〕，其中靛玉紅為一種抗癌的有效成分，對小鼠血管瘤有抑制效果，對小鼠肺癌與慢性粒細胞白血病的有效率在 90% 以上〔2〕，而由國外文獻報導，色胺酮則為抗發炎的主要活性成份，其對 COX-2 (cyclooxygenase-2) 酵素，具強烈的抑制效果 ( $IC_{50} = 64 \text{ nM}$ ) 〔3〕並能抑制 prostaglandin and leukotriene 的合成〔4〕。

由於板藍根的來源植物非常複雜，有十字花科的菘藍及爵床科的馬藍，而馬藍在台灣又有數種，如馬藍 (*Strobilanthes cusia*)、台灣馬藍 (*S. formosanus*)、

長穗馬藍 (*S.longespicatus*)、曲莖馬藍 (*S.flexicaulis*) 等等，因此將各種來源植物之化學成分，做成指紋圖譜，或比較其活性成分，如色胺酮及靛玉紅的含量，來建立各種源不同之處，以作為化學分析上的基原鑑定之用，並作為選種之依據。

為了發展本土中草藥南板藍是否有藥用價值，本計劃主要在做菘藍與馬藍的指紋圖譜及有效活性成份的分析，將各種不同種原之馬藍的根與葉，區別他們的化學成份，以期找出與北板藍具相似成份的種原，以利開發新的本土中藥。

本研究將藉由液相層析或液相層析質譜儀，來解決中藥在定性與定量分析上的問題，期望建立一個簡單快速之分析方法，來準確且精確的將中藥藥材定位一個化學分析上的依據。

第一年度計畫主要為進行北板藍菘藍及南板藍馬藍之 HPLC 指紋圖譜以及其低極性部分之有效活性成分的偵測。

## 貳、材料與方法

### 一、本土中草藥南板藍根之繁殖與篩選

蒐集馬藍基原植物及鑑別，進行無菌苗之建立與初步栽培試驗及性狀調查。

#### (一) 馬藍材料：

臺灣地區市場所售板藍根藥材以馬藍 (*Strobilanthes cusia*) 為主，此外尚有曲莖馬藍 (*S. flexicaulis*)。本年度以收集馬藍為主，其他種附帶蒐集菘藍、蓼藍品種，分別於中興大學校區及北溝農場進行有機栽培及 GAP 操作。臺灣地區野生馬藍類植物，依據農委會印行之台灣維管束植物簡誌，共有 6 種，分別為：

1. 馬藍 *S. cusia* BREMEK.
2. 臺灣馬藍 *S. formosanus* (MOORE) HSIEH & HUANG
3. 腺萼馬藍 *S. penstemonoides* NESS
4. 曲莖馬藍 *S. flexicaulis* (HAYATA) HSIEH & HUANG
5. 蘭嵌馬藍 *S. rankanensis* (HAYATA) BREMEK.
6. 長穗馬藍 *S. longespicata* (HAYATA) HSIEH & HUANG

## (二) 將採集的材料進行下列試驗：

1. 無菌苗扦插：將馬藍植株切成每一段至少一個節位之培植體，以清潔劑輕輕擦洗後，以 2.5% NaOCl 消毒 10 分鐘，再以 1.25% NaOCl 消毒 10 分鐘，再以無菌水沖洗 3-5 次後，扦插於含不同生長調節劑之催芽 MS 培養基。擬使用的生長調節劑為 0.1 - 1 mg/l NAA (或 2,4-D) 與 0.5 - 2.0 BA (或 kinetin) 的組合培養基。維持芽體並誘導其繼續生長，若遇褐化現象或生長遲滯，則每週繼代培養 1 次以維持其存活至穩定為止，並讓其生長至株高約 0.5-1.0 公分，再做繼代培養或初步增殖。
2. 無菌播種：將馬藍種子以 70% 酒精表面消毒 1 分鐘後，以 2.5% NaOCl 消毒 10 分鐘，再以 1.25% NaOCl 消毒 10 分鐘，再以無菌水沖洗 3-5 次後，播於無生長調節劑之 MS 培養基。觀察其發芽情形。預定發芽 3 日後，移入不同逆境觀察之。

## 二、板藍根有機栽培及優良農業操作模式之建立

本計畫以中興大學農業試驗場為基地，以馬藍為例，擬就栽培環境、田間操作以及採收後處理方式等進行研究，期能建立國內中草藥 GAP 生產的示範區。本研究參考國外 GAP 規範，建立馬藍 GAP 栽培規範，以供國內相關工作人員參考。今年建立水質與土壤檢驗的標準與程序，及建立田間設施需求與規範。

## 三、中藥板藍根的品質管制

### (一) 標準樣品部分：

1. 靛藍 (indigo)。
2. 靛玉紅 (indirubin)。
3. 色胺酮 (tryptanthrin)。

標準品 indigo 及 tryptanthrin 均可購得，唯有 indirubin 必須自行單離。

### (二) 樣品的製備與萃取：

本實驗進行 HPLC/UV 偵測時，所使用之濃度較高，一般為 1g / 1ml。即將所獲得的各種菘藍、馬藍藥材之根部或葉部，秤取 50g，置於試管中，之後添加 200mL 之 100% methanol，利用超音波震盪萃取 30 分鐘，取其上層澄清液，連續萃取三次，經濃縮後再添加 methanol 定量至 50mL，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 HPLC/MS 實驗分析時，則再將母液稀釋 40 倍，再以 0.22μm 孔洞大小 (pore size) 之注

射針過濾膜 (syringe Filter) 過濾，即可進行分析。

(三) 儀器與設備：

1. 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：LCQ<sup>TM</sup>，配備 ESI 及 APCI 兩種離子源介面，Thermo Finnigan MAT，由國科會貴儀支援。

(四) 液相層析儀 (HPLC/UV) 之實驗部分：

所使用之層析系統均有添加 0.005% 三氟醋酸，共有兩種。(A) 為偵測北板藍菘藍及南板藍馬藍之 HPLC 指紋全圖譜所用，沖提條件為在五十分鐘內從 2% ACN 到 98% ACN (acetonitrile) 沖提，而其低極性部分，包括有效活性成分之色胺酮、靛藍、靛玉紅等偵測所使用之層析條件則採用 (B) 0-10 分由 20% 到 50%ACN，10-30 分維持 50%，30-35 分升至 100% ACN，35-40 分維持 100%，40-43 分由 100% 降至 20% ACN，流速均為每分鐘 0.4 毫升，使用管柱為 Luna (250 mm x3.0 mm id) 5  $\mu$ m，且其滯留時間分別為 24.9 分鐘、29.1 分鐘及 33.3 分鐘。

(五) 液相層析質譜儀 (HPLC/MS) 之實驗部分：

1. 質譜方面以大氣壓化學游離法正離子模式分析最合適，所採用之方法為選擇離子監視模式即 (SIM)，得標準品色胺酮的偵測離子為質量電荷比 (m/z) 為 249，而靛藍、靛玉紅，由於是同分異構物，故偵測離子相同，為 m/z 263 之偵測，所得質譜條件最佳化參數如下：sheath gas 40 units，discharge current 3.5  $\mu$ A，vaporize temp. 500°C，capillary temp. 250°C，capillary voltage 10V。
2. HPLC 層析條件選擇為：  
50 % ACN 之動相組成，動相中添加三氟醋酸 0.005%，使用相同管柱，流速仍為每分鐘 400  $\mu$ L。

## 參、結果

### 一、本土中草藥馬藍（南板藍根）及菘藍（北板藍根）之繁殖與篩選

#### （一）材料收集：

半年內收集情形為：首先在大雪山林道尋獲曲莖馬藍與蘭嵌馬藍、於台中市科博館植物園找到長穗馬藍（感謝陳忠川教授）、由種苗商購得200株馬藍，及採集自鹿谷及杉林溪馬藍與蓼藍植株等多種。此外，也積極收集菘藍種子及種苗。兩種板藍根之種子來自中國大陸，品種未明，其中一種來自皖北。並由藥之鄉公司贈送三個品種板藍根植株，將用為育種材料，並做為基因研究之材料。

#### （二）扦插試驗：

92年夏季開始採集，扦插試驗結果如下：

- 1.曲莖馬藍：採自大雪山區，無法在平地夏日（7月與8月）遮陰扦插成功。此後相關試驗改用生長箱為主。
- 2.長穗馬藍：採自科博館區，在 $15-30 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ，26°C條件，扦插苗生長良好。由表2知10分鐘浸泡切口處理的差異不顯著，但整體扦插成功率在47-100%。結果表示環境條件對扦插成功比藥劑處理可能更重要。
- 3.蘭嵌馬藍：在 $15-30 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ，26°C條件，扦插苗生長良好（圖5）。
- 4.馬藍：在 $15-30 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ，26°C條件，扦插苗生長良好（圖1與圖3）

#### （三）無菌扦插試驗：

野外採集之4種馬藍均無法立即獲得無菌材料，需經過前處理約30-40日後，取其頂芽與側芽進行無菌扦插。前處理方式為每週噴灑1,000倍的benlate殺菌劑等並培養於室內減少灰塵。結果顯示前處理兩次後，污染率有下降之趨勢，而且較容易獲得正常生長之培植體（圖1）。但馬藍培植體極易形成愈合組織（表1），有待盡快繼代培養或更換培養基以克服之。

#### （四）無菌播種

由於野生馬藍開花期在10月後才陸續開花，種子來源極為有限，僅能利用大雪山區較易覓得之蘭嵌馬藍種子做先期試驗。結果顯示果莢未裂開前，取出飽滿種子發芽率高達75%，並可順利長成小苗（圖5）。進一步，取出未熟種子（成熟種子易彈出）進行無菌播種，未熟種子本身非常潔淨，降低消毒劑濃度與消毒時間後仍不易有污染（表3）。部分種子開始有發芽現象（圖6），

白色未熟種子，無菌播種呈白色外囊有圓形白色胚狀物，較飽滿種子播種後可順利發芽。

### （五）戶外播種與扦插

目前已收集到二個馬藍及二個板藍根品種之種子：

1. 長穗馬藍 (*S. longespicata*)。
2. 馬藍 (山蘭) (*S. cusia* (Nees) Kuntze)。

成功的發芽後，已種植於遮陰之網室中，觀察其生長情形；待開花後，收集其種子，將再進行大量實生苗之耐熱性篩選。

本試驗以扦插在海拔 500 公尺松柏嶺，以 50% 遮光條件下，嫩莖帶葉片者發芽率可以達到 100%，成活率極佳。老莖則發芽率極低。利用 IAA 等發根劑對發芽率並無太大助益。在強烈日照下，葉片極易黃化，生育不良。

## 二、馬藍有機栽培及優良農業操作模式之建立

今年就生產基地之灌溉水質及土壤之重金屬量分別檢測，(檢測項目包括砷、鎘、鉻、銅、鎳、鉛、鋅及酸鹼度、電導度) 其檢驗結果，結果顯示不論是灌溉水質及土壤之重金屬，均符合有機農業之容許量標準 (表 4)。

## 三、中藥馬藍的品質管制

我們由 HPLC 圖譜與標準品比對之結果，得知北板藍的乾燥根部及葉部之甲醇抽出物，在低極性部分含有色胺酮 (tryptanthrin) 及靛玉紅 (indirubin) 的成分，此二種化合物為已知的有效活性成份，分別具有抗發炎及抗癌活性報導，實驗結果顯示它們在根部中的量遠少於在葉部的量 (Fig.7a, 7b)，由於其在根部含量甚微難以偵測，我們改用 LC/MS 方法，除可偵測微量有效成分之滯留時間外，尚可由標準品之特有萃取離子之質量，可再次認證是否為目標物 (Fig.8) 並可進行積分作為定量的依據。

由以上數據因此推測北板藍在根部可能另有其它活性成分，再由其在高極性部分之 HPLC 圖譜 (Fig.7a)，可見多種化合物但尚未知曉其為何物，必須一分離出純化合物才能知曉，此事工程浩大，需時甚巨，本實驗未來將嘗試去單離出其所含之純化合物。

南板藍部分，我們在它的甲醇抽出物的 HPLC/UV 全圖譜中，可發現在葉部的萃取物中，色胺酮 (tryptanthrin) 及靛玉紅 (indirubin) 的成分相當高，而在根部的萃取物中，則與北板藍根相似，即兩者含量均甚低 (見 Fig.9a, 9b)，

再由沖提系統 (B) 所得之 HPLC 圖譜 (Fig.10a, 10b; Fig.11a, 11b)，比較南北板藍葉部所含之有效活性成分，可得知南板藍比北板藍含有較多量之色胺酮，預期將來可進行多項藥理實驗，以開發出其為具潛力之新藥。

以上是南、北板藍化學成分的定性分析，由於靛玉紅 (indirubin) 目前無法購得，必須自行單離出來，因而定量分析方得以進行。

## 肆、討論

在材料收集方面，採集與調查發現，野生馬藍植物需光性約在 40~60% 日照以下。例如大雪山曲莖馬藍生長於林蔭下，科博館朝向走道生長的長穗馬藍向陽面，生長勢明顯不如朝向內側者。此點有利於馬藍量化栽培時，朝向較有機栽培傾向的方式，例如與其他作物進行間作 (intercropping) 栽培等，以降低日射量與遮陰成本，有待進一步釐清栽培法對成分之影響。馬藍植物開花期明顯偏向秋冬季，觀察曲莖馬藍、蘭嵌馬藍與長穗馬藍均如此。惟本年氣候可能有異，因為據鹿谷地區馬藍栽培者魏先生表示，去年約在 10-11 月間，栽種的馬藍陸續開花，但今年 12 月才見少數開花。

扦插試驗方面顯示，發根劑對馬藍扦插之作用不大，主要限制因子為環境條件，例如當環境許可時，長穗馬藍對照組扦插存活率亦達 54% 以上 (表 2)。有時，扦插苗地上部葉片嚴重脫落，但落葉個體在保持介質濕潤 40 日後，仍可長出新芽 (圖 2)，因此預期扦插成功率可望更高。另由採集地與實際扦插繁殖試驗結果均顯示，馬藍生長不需全日照而且難耐平地高溫，本試驗在北溝農場設置遮陰網，馬藍生長尚佳。

因此，預期馬藍不易在平地進行周年扦插繁殖。扦插繁殖結果顯示，低光度有其必要，在  $15-30 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ， $26^\circ\text{C}$  條件，扦插苗仍生長良好。從圖 3 結果發現套袋保濕 14-21 日，對基部以外的節位長根非常有效，藉此可能發展一套快速大量的扦插方法。

無菌扦插方面，前處理兩次後，污染率有下降之趨勢，而且較容易獲得正常生長之培植體 (圖 1)。但馬藍培植體極易形成癒合組織 (表 1)，有待盡快繼代培養或更換培養基予以克服。由於材料污染率高與取得不易，樣品數不易有效擴大。有待自行事先種植大量材料，才易於探討如何處理最有效。另，無

菌扦插後，馬藍 (*S. cusia*) 培植體很容易出現藍色滲出物（圖 1），此點可供判定鑑別馬藍植株。

無菌播種方面，馬藍植物果莢成熟後，種子彈出果莢可達數公尺外，野外種子採集困難。有待自行事先種植大量材料，才易於探討試驗處理，此點可能成為進一步育種改良困難之處。

另由於葉片汁液是否有藍色反應為鑑別馬藍植株方法之一，在鹼性條件與有氧化劑下，馬藍葉片汁液有藍色反應，只要再加酒精溶出葉綠素，將更易於判別（圖 4）。長穗馬藍出現頗深之黃色（圖 4），是否富含如類黃酮素等，有待進一步分析。

## 伍、結論與建議

- (一) 馬藍類的植株扦插成功條件，以環境控制，如溫度與光照度，比發根劑處理更重要。
- (二) 馬藍類的植物果莢成熟後，種子彈出果莢可達數公尺外，野外種子採集困難，有待自行事先種植大量材料，才易於探討試驗處理。
- (三) 試驗結果顯示，曲莖馬藍與長穗馬藍均無靛藍反應，今後宜集中力量以馬藍 (*S. cusia*) 一種為試驗對象，以現有農家栽培的種為主，下年度將擴及野生種之搜集與育種。
- (四) 本研究進行中藥板藍根所採用之藥材，包括菘藍、馬藍之根部與葉部，來進行化學成分分析，結果顯示菘藍葉部中所含之有效成分為含較多之靛玉紅與略少量之色胺酮，而馬藍則含較多之色胺酮與較少之靛玉紅。未來將進行 HPLC 及 LC/MS 的定量分析。
- (五) 另除台灣馬藍外，我們也進行採集到的曲莖馬藍與長穗馬藍的分析，結果均未檢試到這些有效成分。

## 附錄、參考文獻

中國醫學科學院血液學研究所。1979。靛玉紅治療慢性粒細胞白血病的臨床實驗研究。中華內科雜誌。18：83。

何玉鈴。2001。板藍根、大青葉及青黛之生藥學及藥理學研究。中國醫藥學院中醫藥研究所。

Danz H, S. Stoyanova, O. Thomet, H.U. Simon, G. Dannhardt, H. Ulbrich, M. Hamburger. 2002. Inhibitory activity of tryptanthrin on prostaglandin and leukotriene synthesis. *Planta Med.* 68:875-80.

Henning D., S. Stoyanova, P. Wippich, A. Brattstrom, M. Hamburger. 2001. Identification and isolation of the cyclooxygenase-2 inhibitory principle in *Isatis tinctoria*, *Planta Med.* 67:411-416.

## 柒、圖表

表 1. 馬藍 (*S. cusia*) 枝條無菌扦插之反應

培養基	前處理	污染率	癒合組織 形成率	芽體正常 生長率
H74: 1/2 MS + 3 mg/l BA	1st 2nd	10/13 7/22	3/13 14/22	0/13 1/22
E16: 1/2 MS + 1 mg/l BA	1st 2nd	10/12 4/15	1/12 9/15	1/12 2/15

表 2. 短時間 NAA 處理扦插苗切口對長穗馬藍 (*S. longespicata*) 扦插存活之影響

NAA (mg/l)	枝條部位	平均個體數/重複	存活率%
0	上	25	68.93 ± 24.82
	下	11	54.27 ± 23.50
200	上	12	57.54 ± 35.32
	下	7	47.92 ± 14.58
400	上	13	100.00 ± 0.00
	下	8	73.21 ± 1.79

表 3. 不同消毒流程對蘭嵌馬藍 (*S. rankanensis*) 未裂莢種子之影響

處 理	污染率	
	膨大種子	未膨大種子
A: 2% NaOCl, 10 min → 1% NaOCl, 10 min.	0/12	0/14
B: 1% NaOCl, 10 min → 0.5% NaOCl, 10 min.	0/13	0/24
C: 1% NaOCl, 6 min → 0.5% NaOCl, 6 min.	0/25	0/65

表4 灌溉水質及土壤之重金屬量

	水質	土壤
砷 As	0.001 (mg/l)	4.41 (mg/kg)
鎘 Cd	<0.001 (mg/l)	0.06 (mg/kg)
鉻 Cr	0.002 (mg/l)	0.25 (mg/kg)
銅 Cu	0.001 (mg/l)	2.21 (mg/kg)
鎳 Ni	0.002 (mg/l)	0.74 (mg/kg)
鉛 Pb	0.001 (mg/l)	4.33 (mg/kg)
鋅 Zn	0.001 (mg/l)	8.61 (mg/kg)
酸鹼度	7.0	6.5
電導度	0.41 (ds/m)	0.71



圖1. 用於無菌扦插之馬藍 (*S. cusia*)。左圖為盆栽用於進行室內栽培30日後取芽，中圖為無菌狀態下培植體褐化仍可見藍色滲出物，右圖為建立之無菌個體。



圖2. 長穗馬藍 (*S. longespicata*) 扦插試驗。將取自科博館之長穗馬藍扦插後可獲得植株(圖左)，落葉個體在保持介質濕潤40日後，仍可長出新芽(圖右)。

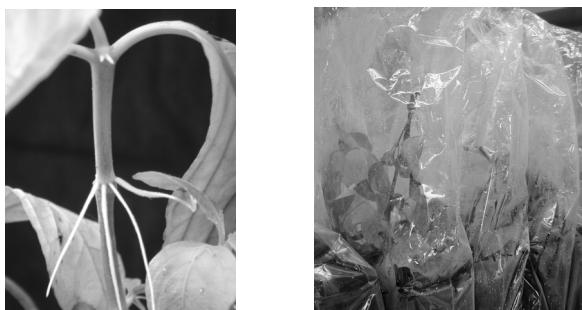


圖 3. 套袋保濕並溫控可提高馬藍 (*S. cusia*) 扦插純活率。自 6 月起多次扦插試驗，遮光網室內材料均不耐高溫相繼死亡，8 月試驗發現套袋保濕並控溫 26°C 可提高扦插純活率。

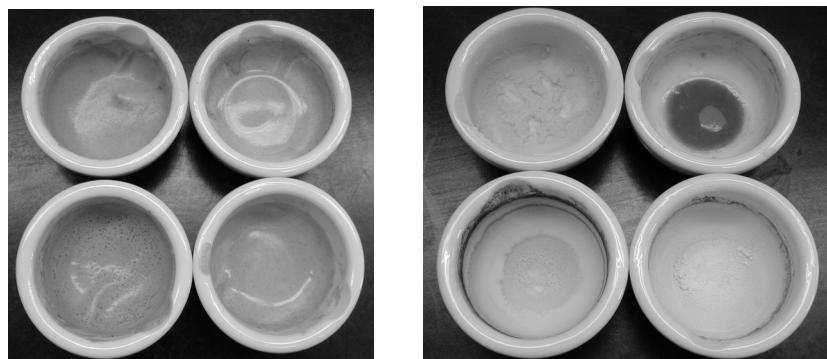


圖 4. 馬藍葉片顏色反應。將 1g 新鮮葉片加 1 ml 30%  $H_2O_2$  與 0.5 ml 2N NaOH 研磨後，如左圖；左上為長穗馬藍，左下為蘭嵌馬藍，右上為馬藍，右下為長穗馬藍並多加 2N NaOH 液。0.5 小時後，以 95% 酒精洗之，逐漸乾燥呈色如右圖。



圖 5. 蘭嵌馬藍 (*S. rankanensis*) 植株與種子發芽。左上為採自大雪山區林道之蘭嵌馬藍植株，果莢未裂開前，飽滿種子發芽率高達 75%，並可順利長成小苗，如中圖與右圖。

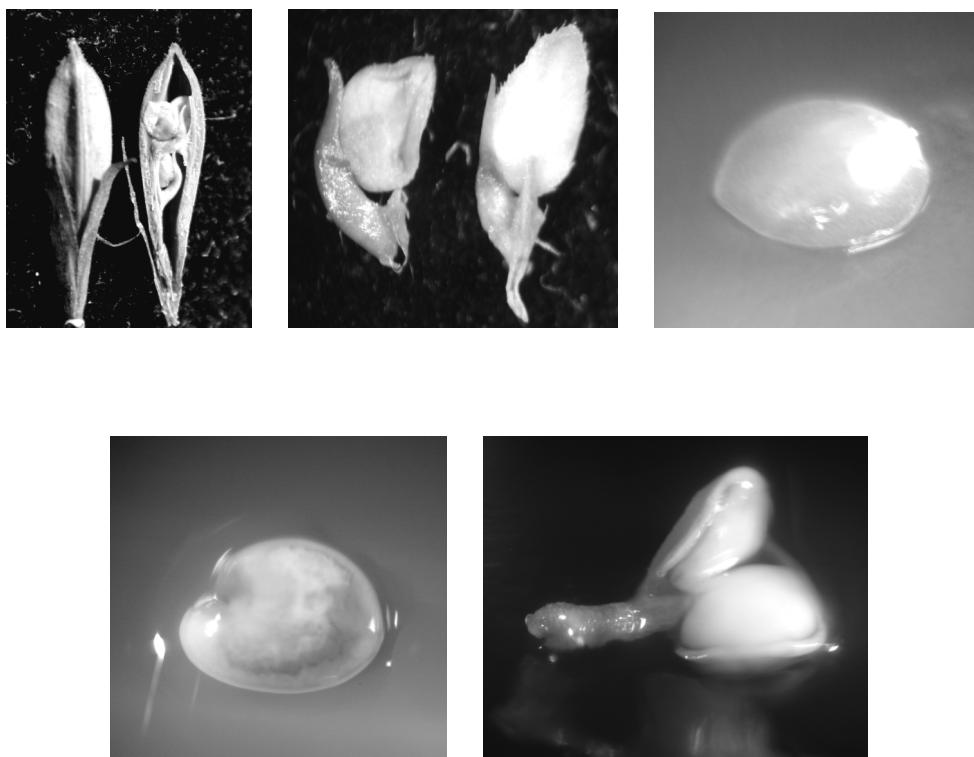
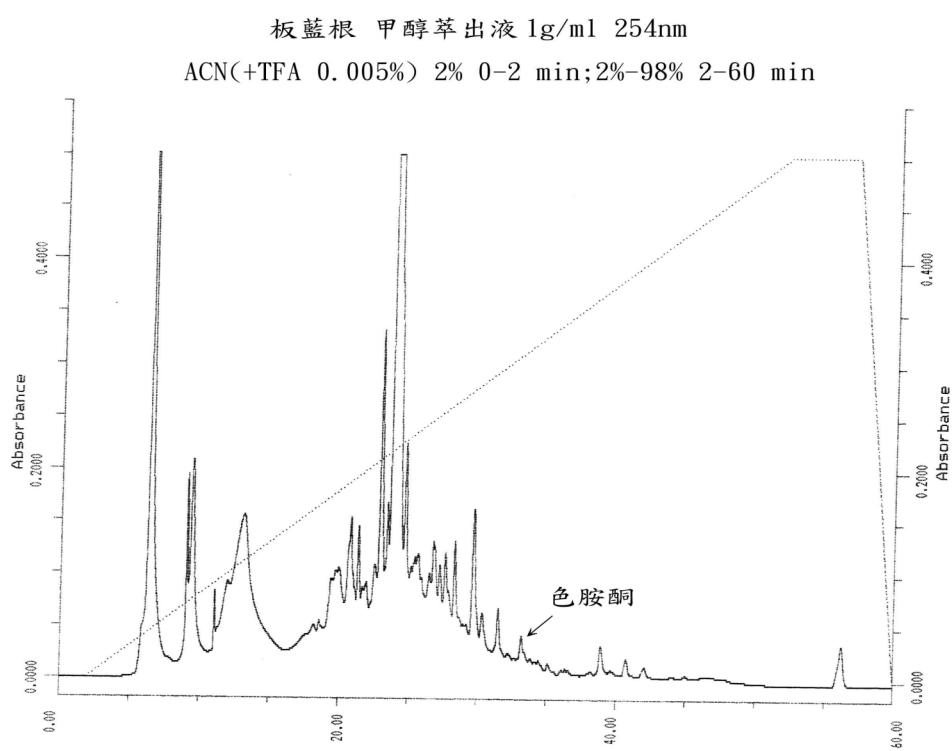


圖 6. 蘭嵌馬藍 (*S. rankanensis*) 茢果用於無菌播種試驗。果莢如左上圖，白色未熟種子如上中圖，無菌播種呈白色外囊有圓形白色胚狀物如右上圖，較飽滿種子播種後可順利發芽如右上圖與左下圖。

(a)



(b)

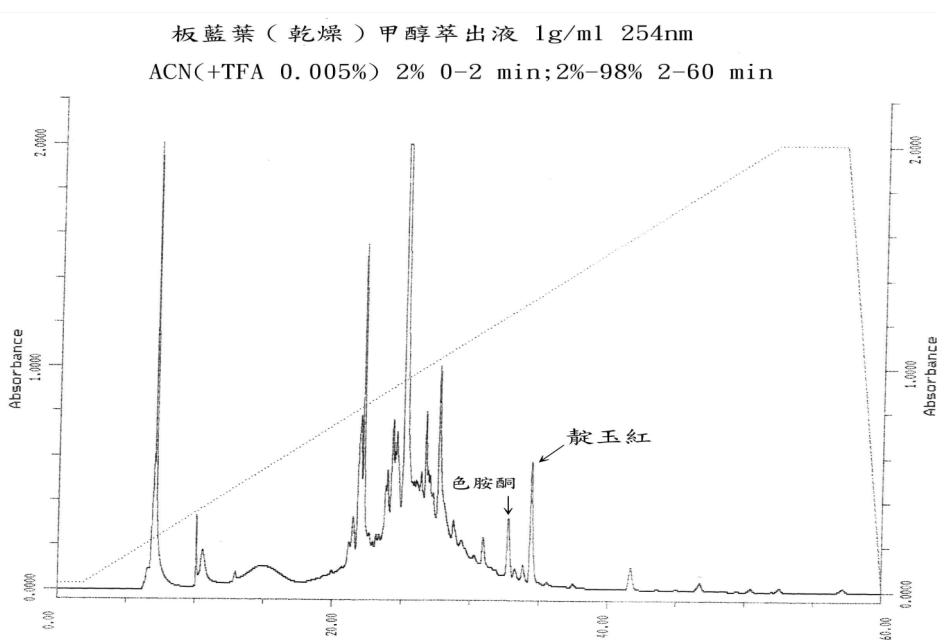


Fig.7. The HPLC chromatograph of the methanol extract from the root part(a) and the leaves part(b) of *Isatis indigotica* ( Note: the absorbance scale is different on both figures )

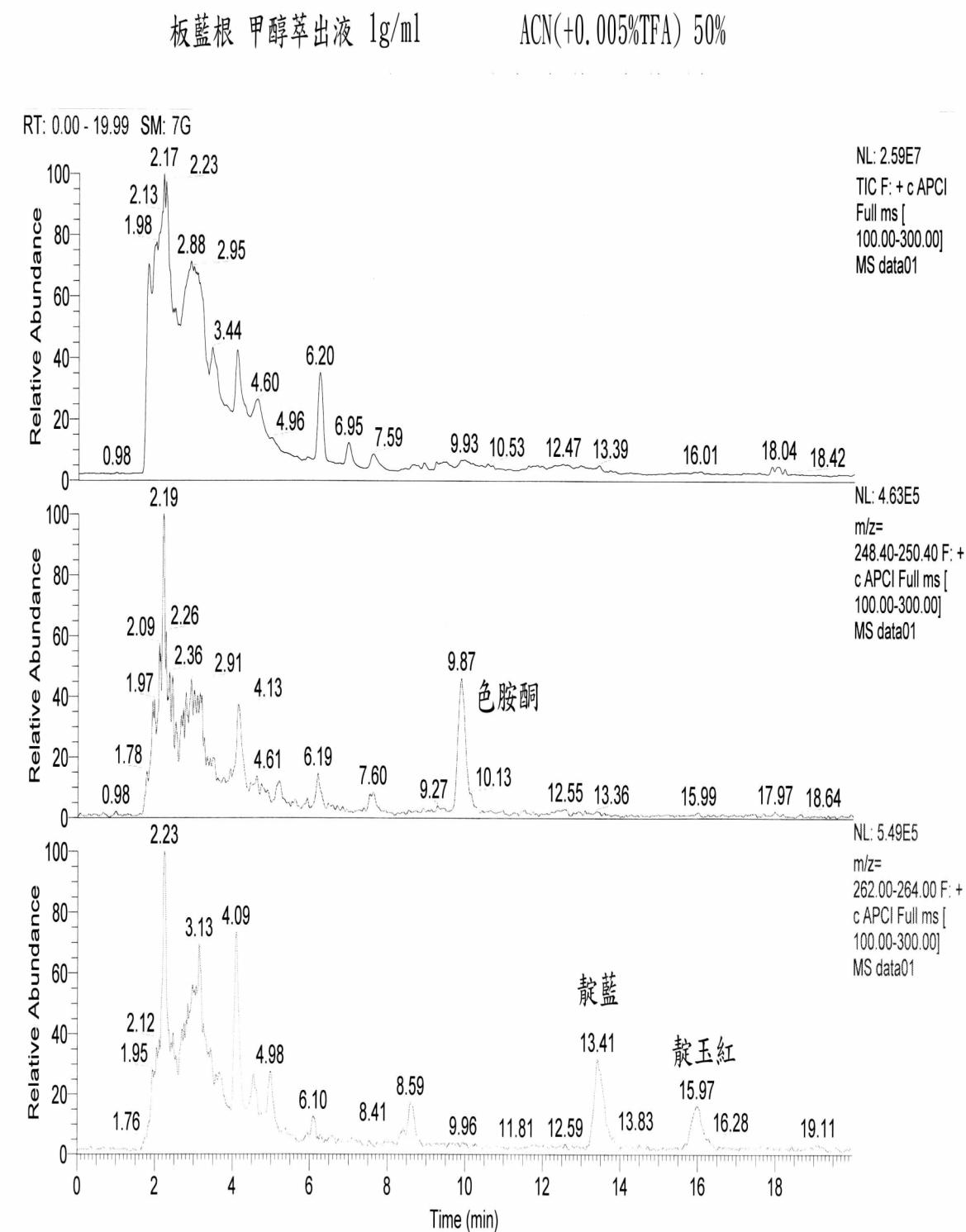
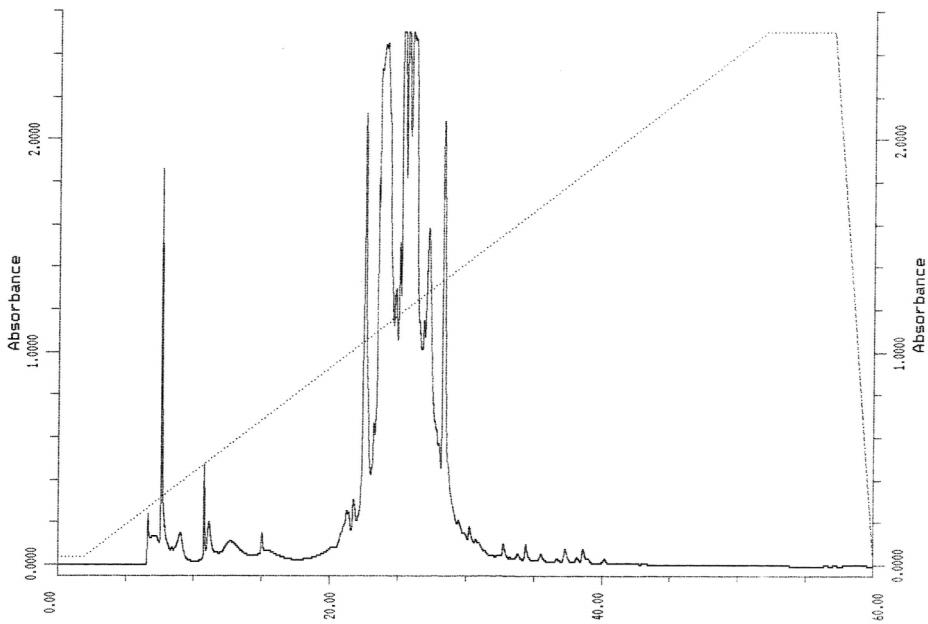


Fig.8. The Mass ion chromatographs of the methanol extract of the root part of *Isatis indigotica*. Channel(b) shows the presence of tryptanthrin ( $[M+H]^+=249$ ) and channel(c) shows the existence of indigo and indirubin ( $[M+H]^+=263$ )

(a)

馬藍根 甲醇萃出液 1g/ml 254nm

ACN(+TFA 0.005%) 2% 0-2 min; 2%-98% 2-60 min



(b)

馬藍葉 甲醇萃出液 1g/ml 254nm

ACN(+TFA 0.005%) 2% 0-2 min; 2%-98% 2-60 min

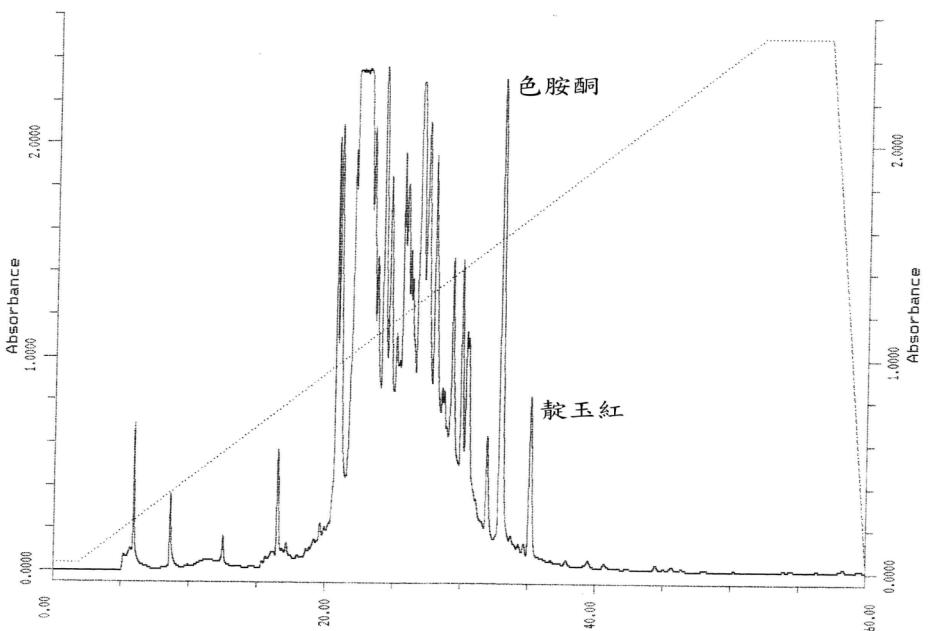
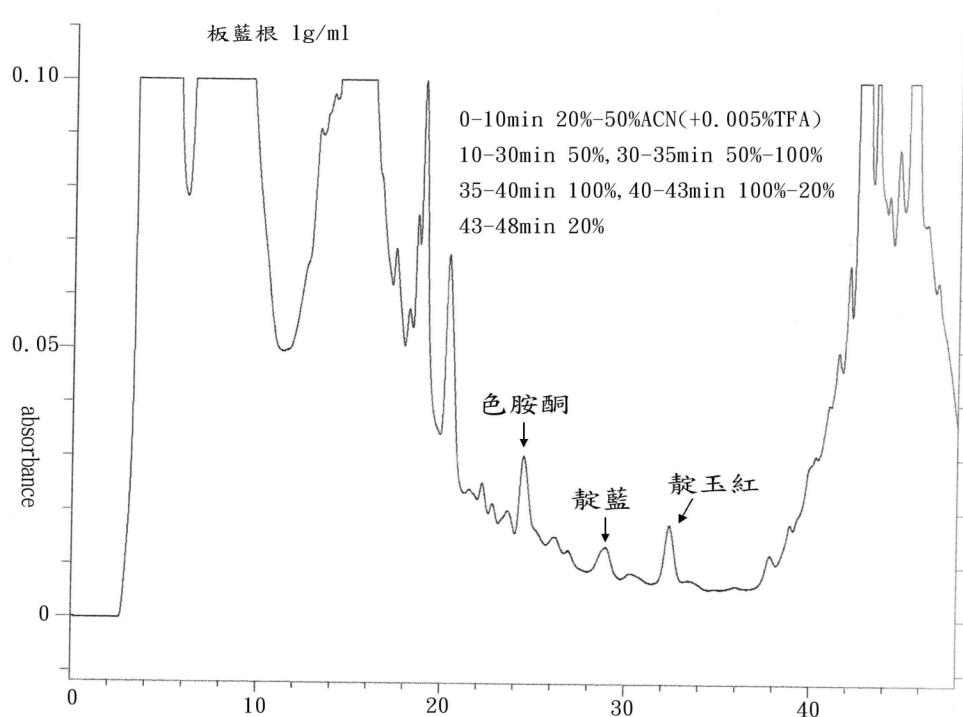


Fig.9. The HPLC chromatograph of the methanol extract from the root part(a) and the leaves part(b) of *Strobilanthes cusia* (Note: the absorbance scale is different on both figures)

(a)



(b)

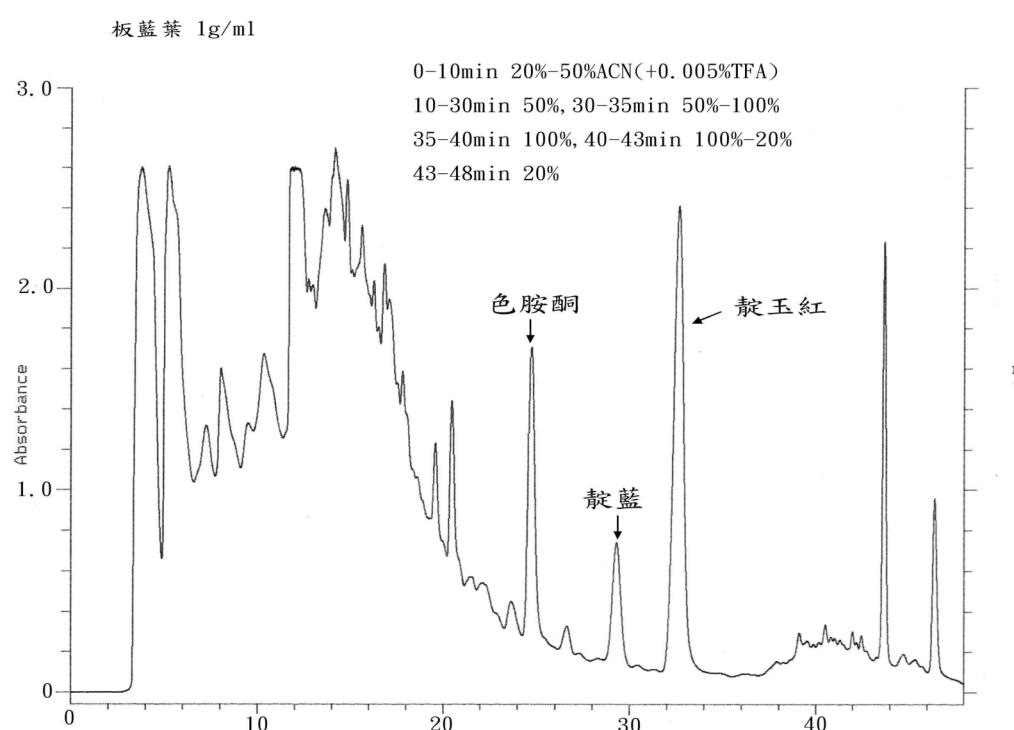


Fig.10. The HPLC chromatograph of the methanol extract from the root part(a) and the leaves part(b) of *Isatis indigotica* ( Note: the absorbance scale is different on both figures )

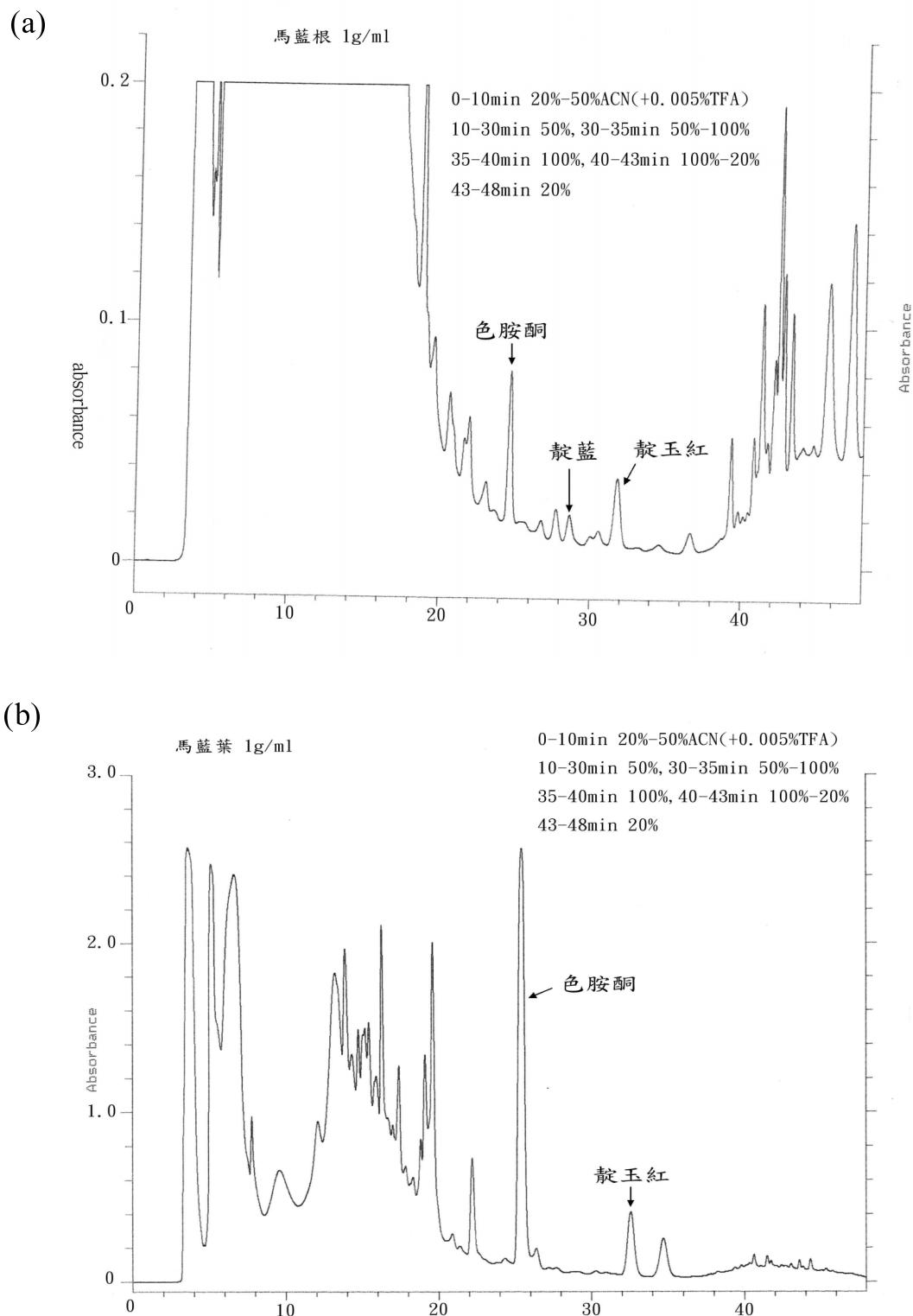


Fig.11. The HPLC chromatograph of the methanol extract from the root part(a)and the leaves part(b)of *Strobilanthes cusia* ( Note: the absorbance scale is different on both figures )

