

施来弥补其对菊花品质的影响。

在福田河镇菊花的生产上,为提高菊花的产量和品质,应多施有机肥,合理施用氮肥,增施钾肥和磷肥,并适当补施微肥。同时在福田河菊花种植基地,可采用覆盖黑地膜栽培以增进田间土壤保水保肥能力,提早菊花花期,减少菊花末期花受霜冻的损失,从而来提高菊花的产量和经济效益。但在采用覆盖地膜栽培时,其应同较低的氮肥配比和硫酸钾为钾肥肥源的高钾有机-无机复混肥进行配合使用,以利增加菊花产量的同时也提高菊花的内在品质。

参考文献:

- [1] 陈科力,李 鹏,叶从进,等.福田河白菊与其它菊花栽培品种 HPLC 指纹特征研究[J].中草药,2004,35(9):1050-

1053.

- [2] 中国药典[S].一部.2005.
[3] Stafford H A. *Flavonoids Metabolism* [M]. Boca Raton: CRC Press, 1990.
[4] 欧阳光察,薛应龙.植物苯丙烷类代谢的生理意义及其调控[J].植物生理学通讯,1988,24(3):9-16.
[5] 程水源,顾曼如,束怀瑞.银杏叶黄酮研究进展[J].林业科学,2000,36(6):110-115.
[6] Faust M. Physiology of anthocyanin development in McIntosh apple. Relationship between protein synthesis and anthocyanin development [J]. *J Am Soc Hortic Sci*, 1965, 87: 10-20.
[7] Margna U, Margna E, Vainjarv T. Influence of nitrogen on the utilization of L-phenylalanine for building flavonoids in buckwheat seedling tissues [J]. *J Plant Physiol*, 1989, 134: 697-702.
[8] Muzika R M. Terpenes and phenolics in response to nitrogen fertilization: A test of the carbon/nutrient balance hypothesis [J]. *Chemoecology*, 1993, 4(1): 3-7.
[9] 刘大会,杨特武,朱端卫,等.不同钾肥用量对福田河白菊产量和质量的影响[J].中草药,2007,38(1):120-124.
[10] 刘大会,刘 伟,朱端卫,等.钾肥品种对菊花产量、活性成分及抗氧化活性的影响[J].中草药,2007,38(增刊):218-222.

不同产地麦冬¹H NMR 模式识别研究

谭小燕,罗乔奇,马郑红,黄 静*,唐 敏,钟雪梅*

(四川大学华西药学院,四川 成都 610041)

摘 要:目的 建立一种基于氢核磁共振-模式识别的不同产地麦冬鉴别新方法。方法 以¹H-NMR 技术测定样品的全成分信息,并转化成数据矩阵,采用模式识别法中的主成分分析(PCA)、偏最小二乘法-判别分析(PLS-DA)以及聚类分析(HCA)进行识别分析。结果 氢核磁共振-模式识别法能有效地鉴别不同产地的麦冬样本。结论 氢核磁共振-模式识别法是一种有效的药材分类鉴别方法,可作为药材质量控制的手段之一。

关键词:麦冬;¹H-NMR;模式识别(PR);主成分分析(PCA);偏最小二乘法-判别分析(PLS-DA);聚类分析(HCA)

中图分类号:R282.7 **文献标识码:**A **文章编号:**0253-2670(2009)05-0792-06

Based on ¹H NMR-PR to establish an identification method of *Ophiopogonis japonicus* from different habitats

TAN Xiao-yan, LUO Qiao-qi, MA Zheng-hong, HUANG Jing, TANG Min, ZHONG Xue-mei

(West China School of Pharmacy, Sichuan University, Chengdu 610041, China)

Abstract: **Objective** To establish a new identification method of *Ophiopogonis japonicus* from different habitats. **Methods** Using ¹H-NMR to get the all component information on *O. japonicus*, and using pattern recognitions, such as principal component analysis (PCA), partial least squares-discriiminate analysis (PLS-DA), and hierarchical cluster analysis (HCA) to analyze the data from the ¹H-NMR spectra. **Results** The ¹H-NMR-pattern recognition (PR) method could identify the samples of *O. japonicus* from different habitats successively. **Conclusion** The ¹H-NMR-PR is an useful method for identification of *O. japonicus* from different habitats and could be used for the quality control of traditional Chinese medicinal materials.

Key words: *Ophiopogonis japonicus* (Thunb.) Ker-Gawl.; ¹H-NMR; pattern recognition (PR); principal component analysis (PCA); partial least squares-discriiminate analysis (PLS-DA); hierarchical cluster analysis (HCA)

* 收稿日期:2008-08-15

作者简介:谭小燕(1984—),女,重庆开县,天然药物化学专业硕士研究生,主要研究方向为天然产物 NMR 化学计量研究。

E-mail:txyscu@163.com

*通讯作者 黄 静 Tel:(028)85503045 E-mail:huangj_pharm@scu.edu.cn

麦冬(麦门冬)始载于《神农本草经》,被列为上品。具有养阴润肺、益胃生津、清心除烦、益气润肠等功效;用于肺燥干咳、津伤口渴、心烦失眠、内热消渴、肠燥便秘、咽白喉等症^[1]。据统计全国各地作为麦冬使用的品种多达 16 种^[2]。《中国药典》2005 年版中仅收录了百合科沿阶草属麦冬 *Ophiopogon japonicus* (Thunb.) Ker-Gawl. 作为正品麦冬使用。同时《中国药典》中还收录了山麦冬,主要来源为百合科湖北麦冬 *Liriope spicata* (Thunb.) Lour. var. *prolifera* Y. T. Ma 或短萼山麦冬 *L. muscari* (Decne.) Bailey。在临床使用中经常将其作为同科植物麦冬混淆使用。但据文献报道^[3],山麦冬与沿阶草属麦冬的化学成分和药理作用存在很大差异,如沿阶草属的麦冬含有一类生物活性很强的成分——高异黄酮类^[4],而山麦冬属麦冬中至今尚未发现含有此类成分,因此,山麦冬和麦冬的功用完全不相同。

作为麦冬主流商品的沿阶草属麦冬,其主产区为四川和江浙地区,分别称为川麦冬和杭麦冬,其原植物均为麦冬 *O. japonicus*。但在长年的人工选育栽培过程中,品种有可能发生了一定的变异,加之一些同属的混淆品流入市场,对麦冬品质产生了不良影响。麦冬的鉴别方法,除现有的《中国药典》方法外,也有人尝试建立傅里叶变换红外光谱法^[5]、HPLC 指纹图谱法^[6]等。但上述方法并不能完全达到区别不同来源药材的目的。本实验以麦冬的全成分为对象,首次采用¹H-NMR 结合模式识别(PR)的方法对川麦冬、杭麦冬及野生麦冬样本,以标准麦冬样本为对照,进行了分析研究,结果显示¹H-NMR-PR 法能有效地鉴别不同来源的麦冬样本。说明¹H-NMR-PR 法是一种可靠的、有效的、可用于中药质量控制的新方法。

1 仪器、材料与方法

1.1 仪器和材料:Sartorius BS 224s 电子天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司);SENCOR—201 旋转蒸发器;W201D 恒温水浴锅(上海申顺生物科技有限公司);Bruker AV II—600 核磁共振仪;DM-SO-*d*₆ (ARMAR chemicals);甲醇(分析纯)。麦冬对照药材购于中国药品生物制品检定所。

数据分析软件:Excel、Mestre-C、SIMCA-P 11.0、SPSS 11.5。

1.2 麦冬样品来源:本试验的麦冬样品的产地(来源)见表 1。

目前市场上川麦冬的流通品主要有绵麦冬和涪

表 1 麦冬样品的产地(来源)

Table 1 Sample sources of *O. japonicus*

样品	产地(来源)	样品编号
川麦冬(涪麦冬)	四川绵阳	Fm1、Fm2、Fm3、Fm4、Fm5
川麦冬(绵麦冬)	四川绵阳	Mm1、Mm2、Mm3、Mm4、Mm5
麦冬对照品	中国药品生物制品检定所	Bm1、Bm2、Bm3、Bm4
野生麦冬	重庆城口	Ys1、Ys2、Ys3、Ys4、Ys5
杭麦冬	江苏无锡	Wm1、Wm2、Wm3、Wm4、Wm5
杭麦冬	江苏苏州	Sm1、Sm2、Sm3、Sm4、Sm5
杭麦冬	浙江慈溪	Cx1、Cx2、Cx3、Cx4、Cx5

麦冬,故分别选作样本;杭麦冬则选以 3 个产地作为样本;另以重庆城口的野生麦冬和购自中国药品生物制品检定所的麦冬对照药材作为对照样本。所有试验样品经过四川绵阳疾病预防控制中心张文锦副主任药师鉴定。

1.3 总特征物的提取方法:本试验的对象是麦冬的整体成分,麦冬主要含甾体皂苷类、糖类和高异黄酮等 3 类成分^[7],因此选取甲醇和乙醇作为试验提取溶剂。同时,对提取时间和提取方式也进行了考察。以各种条件下提取物的¹H-NMR 谱中信号多且分辨率良好作为判定依据,最终确定本试验样本的提取方式为:称取麦冬碎片(约 5 mm)样品 2 g,加入甲醇(每次 20 mL),50℃水浴温浸提取 3 次,每次 1 h;合并滤液,减压浓缩至无液体,再真空干燥 30 min。称取 0.05 g 提取物,用 0.05 mL DM-SO-*d*₆ 溶解,制得供¹H-NMR 谱测定样品溶液。

1.4 ¹H-NMR 图谱的测定条件:恒温在 296 K,以 DMSO-*d*₆ 作为内锁,扫描 64 次,采样时间域为 64 k,谱宽为 12 335.526 Hz,采样时间为 2.66 s,脉冲间隔 D1 为 3.00 s,采用标准的预饱和脉冲序列(zgpr)压制水峰信号,CPMG 脉冲序列抑制大分子信号。

1.5 ¹H-NMR 图谱处理^[8]:将 1.4 测定获得的各样品¹H-NMR 自由衰减(FID)信号,导入 MestRe-C 软件,分别进行傅里叶(FT)转换、象限调整、基线校正及以 TMS 峰作内标调整化学位移值,即获得各样品相应的¹H-NMR 图谱。为了获得最佳分类效果,将图谱分别按每 0.04、0.05、0.08 及 0.1 化学位移值单位进行分段、积分,并进行 PCA 试分析,结果显示按每 0.05 化学位移值单位进行分段的效果最好。故最终确定各样品的¹H-NMR 图谱处理方式:以每 0.05 化学位移值单位对各样品¹H-NMR 图谱进行分段,并分别进行积分,即得到每个样本的各化学位移值段与相对应的信号峰面积积分值(每张图谱共有 200 积分值)。本试验共有 34 个样本,

即构成 34×200 数据矩阵,供模式识别分析。

1.6 分析方法的考察:参照《中国药典》2005年版一部附录 A 中药质量标准分析方法验证指导原则的要求,结合本实验的实际情况,对样品的制备、 $^1\text{H-NMR}$ 图谱测定以及数据获得过程的重现性和稳定性进行了考察。本试验采用夹角余弦^[9]作为判断指标。

1.6.1 样品制备方法重现性考察:取浙江慈溪产地的杭麦冬5份,按1.3和1.4项分别制备5份供试液,测定 $^1\text{H-NMR}$ 图谱,并按1.5项下方法处理图谱,得到5组积分值数据。以第一份样品的数据为对照,计算5份样品之间的夹角余弦值分别为1.000、0.999 6、0.999 1、0.998 9、0.999 3。计算值均为0.998以上,说明该实验所用样品制备方法具有良好的重现性。

1.6.2 核磁共振仪稳定性及图谱处理方法重现性考察:取浙江慈溪的杭麦冬样品1份,按1.3项下方法制备供试液,按1.4项的测定条件连续测定5次;然后按1.5项下方法处理图谱,得到5组数据。以第一组测定数据为对照,计算5组数据之间的夹角余弦值分别为1.000、0.999 5、0.999 3、0.999 0、0.999 7。计算值均在0.999以上,说明该实验所用核磁共振仪稳定性以及图谱处理方法重现性均良好。

2 数据分析

模式识别的方法能够从复杂的数据中最大限度地提取简化后的信息以供分析。本实验选用了模式识别法中的主要成分分析(PCA)、聚类分析(HCA)和偏最小二乘法-判别分析(PLS-DA)3种分析方法从不同角度进行分析,以相互验证分析结果的可靠性。

2.1 主成分分析(PCA):PCA方法是最简单、最常用且比较有效的无监督方法,其原理是通过线性变换,将原来的多变量组合成相互独立的少数几个能充分反映原有变量信息的新变量,从而在不丢掉主要信息的前提下避开了变量间共线性的问题,便于结果做进一步的分析^[10]。

将1.5项中获得的34个样本的 34×200 数据矩阵,导入SIMCA-P软件,首先提取主成分,各主成分(PCs)的贡献率和累积贡献率见图1。

从图1中可知,前6个主成分的累计贡献率达到85%以上,即表示前6个主成分能够解释原变量信息的85%以上。以前6个主成分分别进行得分散点图的绘制,并对各图中各样本的得分散点的分布情况进行比较分析。结果显示,以主成分1(PC1)和主成分3(PC3)为基础获得的得分散点图(图2)

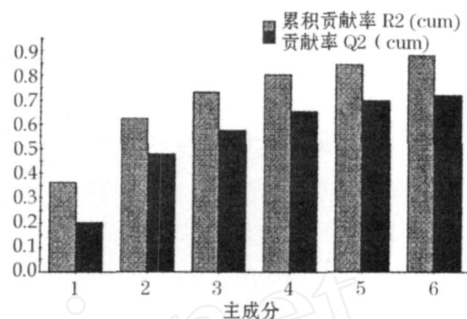


图1 主成分累积贡献率图

Fig. 1 Overview plots of PCs through PCA

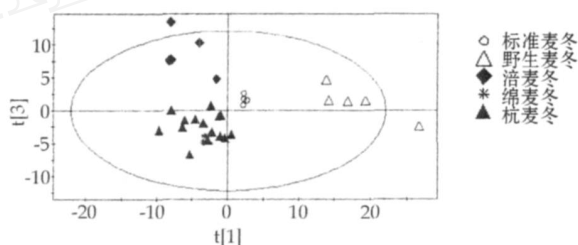


图2 主成分1对主成分3的主成分得分散点图

Fig. 2 Score scatter plot of PC1/PC3 through PCA

对各样品有明显的区分效果。

2.1.1 野生麦冬样本与栽培麦冬样品间的主成分分析^[11]:从图2中可以看出,杭麦冬、川麦冬(绵麦冬和涪麦冬)以及麦冬对照品多聚集在t[1]坐标(PC1的得分值)的中心和负值区域,而野生麦冬样本则聚集在t[1]坐标的正值区域,说明野生麦冬样本的整体成分与栽培麦冬样品之间存在比较明显的差异。

为了了解野生麦冬样本与其他麦冬样本之间的化学成分类型的差异,以PC1进行载荷分析(图3)。载荷图是一种主成分还原的方式,即可通过载荷图转换后的数据还原在 $^1\text{H-NMR}$ 谱图,反映出化学位移值的变化情况。载荷图上的纵坐标表示PC1的载荷重,正值越大表明对得分图中t[1]的正值区域的样本影响越大;而负值越大则表明对得分图中t[1]的负值区域的样本影响越大^[12]。

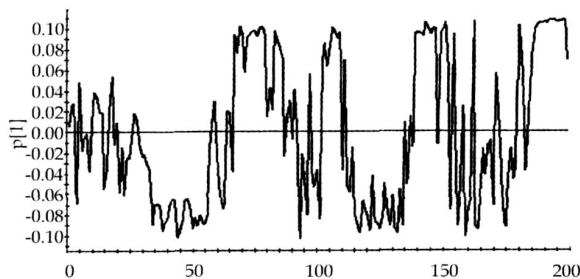


图3 主成分1的线形载荷图

Fig. 3 Loading line plot of PC1 through PCA

图 3 显示载荷正值较大的变量主要来自化学位移为 $\delta 7.00 \sim 5.75$ 、 $5.00 \sim 4.50$ 、 $3.00 \sim 2.15$ 等区间,载荷负值较大的变量主要来自化学位移为 $\delta 8.50 \sim 7.25$ 、 $5.50 \sim 5.25$ 、 $4.25 \sim 3.25$ 、 $2.25 \sim 1.75$ 等区间。根据上述化学位移区间所对应的化合物类别特征,可以推测野生麦冬与其他麦冬之间的差异主要体现在高异黄酮类化合物的量上。

2.1.2 栽培麦冬样品间的主成分分析:图 2 还显示,在栽培麦冬样品之间,涪麦冬样本基本聚集在 $t[3]$ 座标的正值区域,而杭麦冬、绵麦冬以及麦冬对照品则处于 $t[3]$ 座标的中心和负值区域,表明涪麦冬样本与其他几种麦冬样本在 PC3 水平上有明显差异。而杭麦冬、绵麦冬以及麦冬对照品的分布相对集中,说明这些样本在 PC1、PC2 和 PC3 水平上基本一致。为了进一步了解涪麦冬样本与其他麦冬样本之间的化学成分类型的差异,以 PC3 进行载荷分析(图 4)。

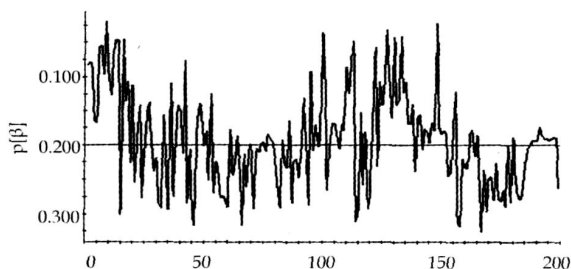


图 4 主成分 3 的线形载荷图

Fig. 4 Loading line plot of PC3 through PCA

图 4 显示载荷正值较大的变量主要来自化学位移为 $\delta 8.00 \sim 7.75$ 、 $5.00 \sim 4.75$ 、 $4.50 \sim 4.25$ 、 $3.75 \sim 3.25$ 、 $2.75 \sim 2.50$ 等区间,载荷负值较大的变量主要来自化学位移为 $\delta 7.75 \sim 7.50$ 、 $4.30 \sim 4.00$ 、 $2.25 \sim 2.00$ 等区间。这些化学位移值区间反映涪麦冬样本与杭麦冬、绵麦冬以及麦冬对照品之间的差异仍然属于高异黄酮类成分量的差异。由于是 PC3 水平上的差异,故差异程度小于麦冬野生品与栽培品之间的差异。

2.2 聚类分析(HCA):聚类分析是一种根据数据间的相关性对分析对象进行分类分析的方法,属于模式识别中的非监督法。本实验 1.5 项中获得的 34 个麦冬样本的 34×200 数据矩阵,导入 SPSS 11.5 软件,对其做聚类分析,得树状分类图(图 5)。

图 5 显示绵麦冬样本与麦冬对照品之间最相似,示对照品麦冬可能来自绵麦冬。3 个产地的杭麦冬之间也很相似,说明虽然来自不同产地,但差异

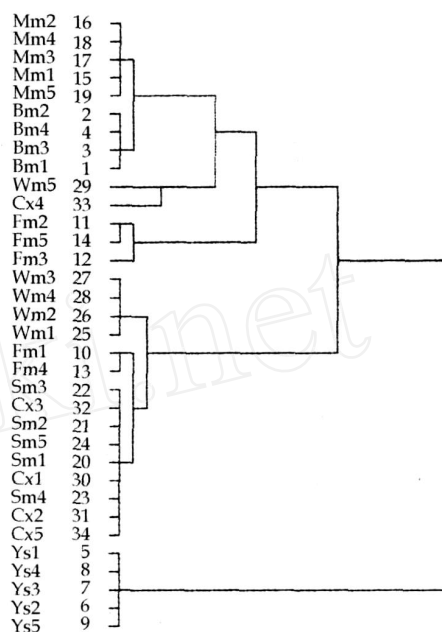


图 5 麦冬样品的聚类树状图

Fig. 5 Cluster analysis dendrogram samples of *O. japonicus*

相对很小。而涪麦冬与绵麦冬、麦冬对照品、杭麦冬之间区别较明显,说明涪麦冬与绵麦冬、麦冬对照品、杭麦冬之间存在较明显差异。野生麦冬样本与培植麦冬样本之间差异最大,培植麦冬样本之间也存在明显差异。

2.3 偏最小二乘法-判别分析(PLS-DA)

2.3.1 野生麦冬样本与栽培麦冬样品间的 PLS-DA 分析:PLS-DA 是一种有监督的模式识别方法,是在主成分分析的基础上,增加了一个隐性变量(Y),使自变量(X)向 Y 回归的程度达到最大。

将 1.5 项中获得的 34 个麦冬样本的 34×200 数据矩阵,导入 SIMCA-P 软件进行 PLS-DA 分析。首先提取主成分,各主成分(PCs)的贡献率和累积贡献率见图 6。

图 6 中显示前 6 个主成分的累积贡献率(Y 变量相关的 X 变量的提取率) $R^2 Y(\text{cum})$ 已达到 90%,已超过一般要求的累积贡献率(85%),可以进行分析。以前 6 个主成分为基础进行得分散点图绘制,并对各图中各样本的分布情况进行比较分析。结果显示,以主成分 1(PC1)和主成分 3(PC3)获得的得分散点图(图 7)对各样品有良好的区分效果。

从图 7 中可以看出,3 种杭麦冬、川麦冬(绵麦冬和涪麦冬)以及麦冬对照品样本多聚集在 PC1 的得分值 $t[1]$ 坐标的中心和负值区域,而野生麦冬样本则聚集在 $t[1]$ 座标的正值区域,说明野生麦冬样

本的整体成分与栽培麦冬样品之间存在比较明显的差异。进一步以 PC1 进行载荷分析(图 8)。载荷图显示结果与 2.1.1 主成分分析结果一致。

2.3.2 栽培麦冬样品间的 PLS-DA 分析:图 7 中显示在几种栽培麦冬样品之间,涪麦冬样本基本聚集在 $t[3]$ 坐标的负值区域,而杭麦冬、绵麦冬以及麦冬对照品则处于 $t[3]$ 坐标的中心和正值区域,表明涪麦冬样本的整体成分与其他几种麦冬有较明显的差异。杭麦冬、绵麦冬以及麦冬对照品的样本分布相对集中,说明杭麦冬和绵麦冬样本与麦冬对照品的整体化学成分基本一致。进一步以 PC3 进行载荷分析(图 9)。

图 9 显示载荷正值较大的变量主要来自化学位移为 $\delta 7.75 \sim 7.50$ 、 $7.25 \sim 6.50$ 、 $5.50 \sim 5.25$ 、 $4.25 \sim 3.75$ 、 $2.25 \sim 2.00$ 等区间,载荷负值较大的

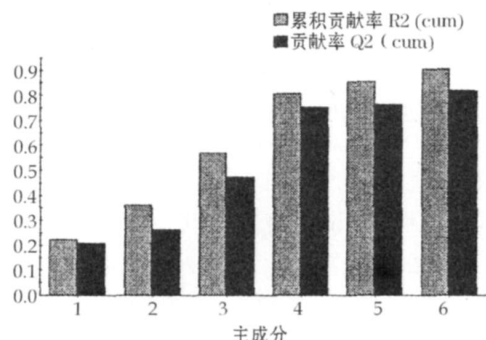


图 6 PLS-DA 分析的主成分累计贡献率图

Fig. 6 Overview plot of PCs through PLS-DA

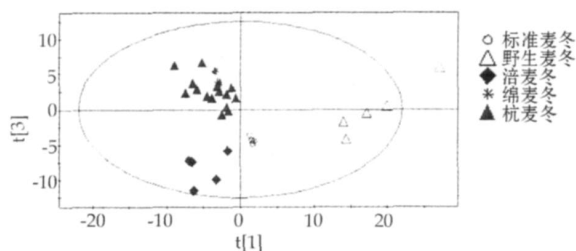


图 7 PLS-DA 得分散点图

Fig. 7 Score scatter plot of PC1/PC3 through PLS-DA

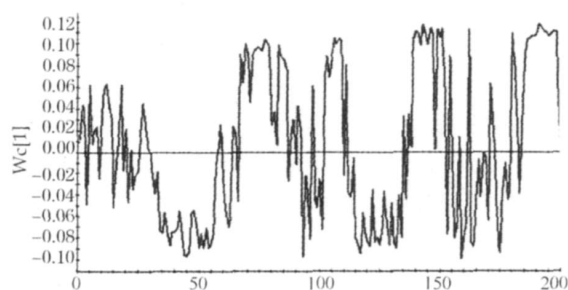


图 8 PLS-DA 的主成分 1 的线形载荷图

Fig. 8 Loading line plot of PC1 through PLS-DA

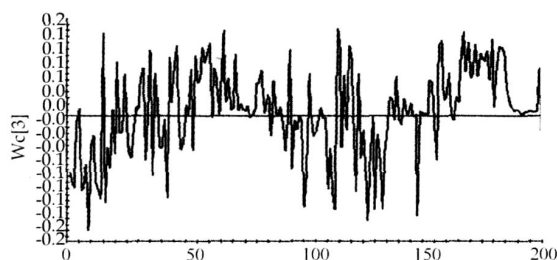


图 9 PLS-DA 的主成分 3 的线形载荷图

Fig. 9 Loading line plot of PC3 through PLS-DA

变量主要来自化学位移为 $\delta 8.00 \sim 7.75$ 、 $5.10 \sim 4.90$ 、 $4.50 \sim 4.25$ 、 $4.00 \sim 3.25$ 、 $2.75 \sim 2.50$ 等区间。这些化学位移值反映涪麦冬含有较丰富的高异黄酮类化合物,是与杭麦冬、绵麦冬以及麦冬对照品区分的关键。此结果与 2.1.2 的分析结果一致。

3 结果与讨论

3.1 应用氢核磁共振结合 3 处模式识别分析(主成分分析、聚类分析和偏最小二乘法-判别分析)对不同来源的麦冬样品进行分析,均得到一致结果,说明该方法具有良好的可靠性。

3.2 3 种模式识别分析的结果显示野生麦冬样本与栽培麦冬样本之间具有明显区别(在 PC1 水平上的区别);在此基础上进行数据还原分析(载荷分析)可知野生麦冬样本与栽培麦冬样本之间的差异体现在高异黄酮类、糖类以及甾体类成分上。

3.3 在栽培麦冬样本中,涪麦冬样本与其他样本有明显区别(在 PC3 水平上的区别);在此基础上进行数据还原分析(载荷分析)可知涪麦冬样本与其他栽培麦冬样本之间的差异体现在高异黄酮类成分上。

3.4 涪麦冬是川麦冬的传统品种,但由于根茎颗粒细小而产量小,现已逐渐退出主流市场而成为礼品。历代中医药典籍中均认为川麦冬(涪麦冬)较杭麦冬质次,本研究的结果也显示涪麦冬在整体成分上确实与杭麦冬有所差异,也许这就是其物质基础所在。

3.5 目前川麦冬的主流商品为绵麦冬,是在栽培过程中选育出的品种。本研究结果显示绵麦冬与麦冬对照品非常相似,与杭麦冬也很相似,说明目前市场上流通的川麦冬(绵麦冬)与杭麦冬之间已经不存在明显的差别。

3.6 氢核磁共振-模式识别法是基于药材的全成分的分析法,其结果更能真实地反映药材的状况,是较现有方法更为理想的鉴别方法。

参考文献:

- [1] 王书林,李应军.药用植物川麦冬营养缺素的初步研究[J].中药研究与信息,2004,6(1):15-17.
- [2] 柯文彬.麦冬与常见伪品的鉴别[J].福建中医药,1993,24

- (4): 43.
- [3] 刘晓民, 孙红祥. 聚类分析法在麦冬类药材化学分类中的应用 [J]. 中国中药杂志, 1993, 18(10): 585-587.
- [4] 江洪波, 黄静, 郭明娟, 等. 天然高异黄酮的研究进展 [J]. 药学学报, 2007, 42(2): 118-126.
- [5] 程存归, 孙翠荣, 潘远江. 统计学区别鉴定麦冬及其伪品的研究 [J]. 光谱学与光谱分析, 2004, 24(9): 1055-1059.
- [6] 白晶, 于治国. 麦冬的 HPLC 指纹图谱分析方法研究 [J]. 中成药, 2007, 29(1): 12-13.
- [7] 李水福, 朱筏芬. 三种麦冬主流商品的理化鉴别 [J]. 中药材, 1993, 16(1): 22-25.
- [8] Ward J L, Harris C, Lewis J, et al. Assesment of ¹H-NMR spectroscopy and multivariate analysis as a technique for metabolite fingerprinting of *Arabidopsis thaliana* [J]. *Phytochemistry*, 2003, 62(6): 949-957.
- [9] 王龙星, 肖红斌, 梁鑫森, 等. 一种评价中药色谱指纹图谱相似性的新方法: 向量夹角法 [J]. 药学学报, 2002, 37(9): 713-717.
- [10] 陈波, 张巍, 康海宁, 等. 茶叶的 ¹H-NMR 指纹图谱研究 [J]. 波谱学杂志, 2006, 23(2): 169-180.
- [11] Le Gall G, Colquhoun I J, Defernez M. Metabolite profiling using ¹H-NMR spectroscopy for quality assessment of green tea, *Camellia sinensis* (L.) [J]. *J Agric Food Chem*, 2004, 52(4): 692-700.
- [12] Lindon J C, Holmes E, Nicholson J K. Pattern recognition methods and applications in biomedical magnetic resonance [J]. *Prog Nuc Mag Res Spec*, 2000, 139: 1-40.

土壤细菌对地黄试管苗和盆栽苗生长的影响

王学翠^{1,2}, 温学森^{1*}, 杨德奎^{2*}

(1. 山东大学药学院, 山东 济南 250012; 2. 山东师范大学生命科学学院, 山东 济南 250014)

摘要:目的 探讨地黄连作障碍的原因和筛选可能具有缓解作用的有益菌。方法 将已分离纯化的土壤细菌菌株接种到试管苗和盆栽苗基部, 分别于 30 d 和 60 d 后收获, 测量苗质量等指标。结果 组培试验表明 48 个菌株中, 有 11 个对地黄生长具有显著促进作用, 另外 11 个具有抑制或致死作用; 盆栽试验揭示 16 个菌株对地黄苗具有促进作用, 13 个菌株具有抑制或致死作用。结论 土壤细菌对地黄苗的生长具有显著影响。地黄种植可能导致根际细菌菌群失衡, 施用有益细菌可能是解决地黄连作障碍的有效措施。

关键词: 地黄; 土壤细菌; 连作障碍; 有益细菌

中图分类号: R282.2

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2009)05-0797-04

Effects of inoculation with soil bacteria on growth of *Rehmannia glutinosa* in tube and potted plantlets

WANG Xue-cui^{1,2}, WEN Xue-sen¹, YANG De-kui²

(1. School of Pharmaceutical Science, Shandong University, Jinan 250012, China; 2. School of Life Science, Shandong Normal University, Jinan 250014, China)

Abstract: **Objective** To investigate the cause of continuous cropping obstacle of *Rehmannia glutinosa* and screen beneficial bacteria. **Methods** *In vitro* cultured plantlets and potted plants were inoculated with different isolated soil bacteria. The plants were harvested and weighted in 30 and 60 d, respectively. **Results** In the *in vitro* culture experiment, 11 out of 48 strains displayed promoting action on the growth of plantlets, and 11 other strains showed inhibitory or lethal action. In the potted test, 16 strains showed promoting action and 13 strains showed suppressing or lethal action. **Conclusion** Soil bacteria influence the growth of *R. glutinosa* significantly. The flora of rhizosphere bacteria may be disturbed by the cultivation of *R. glutinosa* and inoculation of beneficial bacteria might be effective on the resolution of continuous cropping obstacle of *R. glutinosa*.

Key words: *Rehmannia glutinosa* Libosch.; soil bacteria; continuous cropping obstacle; beneficial bacteria

地黄 *Rehmannia glutinosa* Libosch. 是玄参科 (Scrophulariaceae) 地黄属多年生草本植物, 是我国栽培历史最悠久、用量最大的药用植物之一。连作

障碍是影响地黄产量和质量的主要因素之一, 早在明代的《本草乘雅半偈》中就有记载。为了揭示导致连作障碍的原因, 本实验室从地黄适宜产区未种植

* 收稿日期: 2008-08-22

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30572326); 国家“十一五”支撑计划项目 (2006BA109B03)

* 通讯作者 温学森 Tel: (0531) 88382028 E-mail: x. s. wen@163.com