

网络出版时间:2014-06-21 18:03

DOI:10.13207/j.cnki.jnwafu.2014.07.021

网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/doi/10.13207/j.cnki.jnwafu.2014.07.021.html>

人参根系分泌物的提取及鉴定

张爱华¹, 彭洪利², 雷锋杰¹, 张连学¹

(1 吉林农业大学 中药材学院, 吉林 长春 130118; 2 天津市医药集团有限公司, 天津 300204)

[摘要] 【目的】鉴定人参根系分泌物中的化学物质, 为研究人参化感作用的发生及其连作障碍提供科学依据。【方法】采用灭菌复合基质复配无土栽培人参, 对人参根系分泌物进行原位收集, 依次用蒸馏水和乙醇提取人参根系分泌物, 合并后用有机溶剂萃取, 获得水层及有机相石油醚层和乙酸乙酯层, 用 HPLC 和 GC-MS 检测水层和 2 层有机相的物质组成。【结果】人参根系分泌物石油醚层中含有 1,3-二氧戊环, 4-甲基, 4-乙基-2-十五烷、乙基柠檬酸、棕榈酸乙酯和二十五烷等 20 种化合物, 其中, 烷烃类物质占 46.56%, 有机酸酯类物质占 22.75%, 酚酸类物质占 13.78%, 烷烃衍生物占 3.59%, 吡喃类物质占 5.39%。乙酸乙酯层中含有丁基柠檬酸、邻苯二甲酸二丁酯和单(2-乙基己基)邻苯二甲酸酯等 9 种化合物, 其中, 烷烃类物质占 22.77%, 有机酸酯类物质占 63.71%, 酚酸类物质占 13.52%。人参根系分泌物水层中含有微量人参皂苷。【结论】采用无土栽培基质可避免人参栽培中微生物的干扰, 能很好地培养收集人参根系分泌物, 人参根系分泌物中含有人参皂苷及烷烃类物质、有机酸酯类物质和酚酸类物质。

[关键词] 人参; 根系分泌物; 人参皂苷; HPLC; GC-MS

[中图分类号] S567.5⁺1

[文献标志码] A

[文章编号] 1671-9387(2014)07-0191-06

Extraction and identification of ginseng root exudates

ZHANG Ai-hua¹, PENG Hong-li², LEI Feng-jie¹, ZHANG Lian-xue¹

(1 College of Chinese Medicinal Materials, Jilin Agricultural University, Changchun, Jilin 130118, China;

2 Tianjin Pharmaceutical Holdings Co., Ltd., Tianjin 300204, China)

Abstract: 【Objective】 This study aimed to investigate the components in ginseng root exudates to provide scientific basis for investigation of allelopathy and soil sickness of ginseng. 【Method】 Root exudates were collected in situ from ginseng cultivated with complex sterile matrix substrate. The exudates were extracted with water and ethanol before being extracted by organic solvent to obtain water extract, petroleum ether extract and ethyl acetate extract. HPLC and GC-MS were used to identify the water extract and organic extracts, respectively. 【Result】 The petroleum ether extract was consisted of 20 compounds, including 1,3-dioxolan-4-methyl-, 4-ethyl-2-pentadecanoic, citric acid ethyl, ethyl palmitate and pentacosane. Hydrocarbons organic acids and esters, phenolic acids, alkane derivatives and pyran accounted for 46.56%, 22.75%, 13.78%, 3.59%, and 5.39%, respectively. Nine compounds were identified in the ethyl acetate extract, including butyl citric acid, 1,2-benzenedicarboxylic acid bis (2-methylpropyl), and mono (2-ethylhexyl) phthalate. Hydrocarbons, organic acids and esters, and phenolic acids accounted for 22.77%, 63.71%, and 13.52%, respectively. Trace amounts of ginsenosides were detected in ginseng root exudates as well. 【Conclusion】 In ginseng cultivation, ginseng root exudates could be collected using soilless media without the interference of soil microorganisms. Ginseng root exudates are composed of ginsenosides, hydrocarbons,

[收稿日期] 2013-05-18

[基金项目] 国家自然科学基金项目(31100239, 31200224); 吉林省科技发展计划项目(20110926, 20130206030YY, 20140520159JH)

[作者简介] 张爱华(1978-), 女, 吉林长春人, 副教授, 硕士生导师, 主要从事药用植物资源学研究。E-mail: fengjie_lei@163.com

[通信作者] 张连学(1955-), 男, 吉林长春人, 教授, 博士生导师, 主要从事药用植物研究。E-mail: zlx863@163.com

organic acids and esters,and phenolic acids.

Key words: ginseng; root exudates; ginsenosides; HPLC; GC-MS

植物在逆境胁迫下,可通过向环境释放化学物质提高自身的生存竞争力,即通过化感作用应对环境条件的改变^[1]。根系分泌物是植物发生化感作用的主要物质来源之一,它们进入土壤后会对受体植物产生化感作用,即使是微量的化学物质也能显著影响植物对营养物质的吸收及周围微环境,从而影响植物的生长^[2-3]。人参是我国药用植物中连作障碍最严重的药材之一^[4]。近年来,有研究表明:人参根系分泌物对药用植物大黄、水飞蓟、白花草木犀和牛蒡具有不同程度的化感作用^[5],还可抑制人参和西洋参种子的萌发和 α -淀粉酶活性^[6],对人参根愈合伤组织生长也具有抑制作用^[7],部分人参根系分泌物还可抑制人参种子胚根和胚轴的生长^[8],低浓度人参根系分泌物可促进人参致病菌的生长^[9-11]。但目前,关于人参根系分泌物中主成分和化感物质种类的研究却鲜有报道,而根系分泌物的提取分离和鉴定及其生物活性的检测是研究植物根系化感作用的基础^[12]。因此,本研究采用灭菌复合基质复配无土栽培人参,收集人参根系分泌物中的化学物质,采用 HPLC 和 GC-MS 联用方法对人参根系分泌物的化学成分进行分析和鉴定,以期为研究人参根系化感作用的发生机制提供科学依据,也为阐明人参

连作障碍提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

以 3 年生人参(*Panax ginseng* C. A. Mey.)农家品种“大马牙”为材料,材料经吉林农业大学张连学教授鉴定。选取根系发达、须根多、健康壮实的“大马牙”人参,首先用自来水将人参根部粘连的泥土冲洗干净,防止因所带土壤对试验结果产生误差;然后用 500 倍多菌灵溶液快速消毒 10 min,再用蒸馏水洗涤 3 次。在清洗过程中一定要减少对人参根部的伤害,如果处理完的人参不能及时栽培,应该用灭菌纱布保湿、备用。

1.2 栽培容器及基质

无土栽培容器为 60 cm×40 cm×20 cm(长×宽×高)下部带有排水孔的消毒方盒,可盛装 36 L 基质。基质处理方法:首先用自来水将沙子洗至泥土和可溶性物质全部除去,洗液呈现清澈为止;然后将质地较轻的珍珠岩装在编织袋中用自来水冲洗干净;两者各自阴干后分别干热灭菌(160 ℃、2 h),冷却后以体积比 3∶2 复配成无土栽培基质,无土栽培基质的理化性质见表 1。

表 1 人参无土栽培基质的理化性质
Table 1 Soilless cultivation media of ginseng

成分 Material	体积质量/ (g·cm ⁻³) Bulk density	粒度/mm Granularity	总孔隙度/% Total porosity	通气孔隙度/% Air-filled porosity	持水孔隙度/% Water retention gap	气水比 Gas-water ratio	pH
细沙 Sand	1.42	<1 (10%) 1~2.6(75%) 2.7~5(15%)	30.5	99.5	1.0	1∶0.03	5.5~6.5
珍珠岩 Perlite	0.145	1~2.5	93	53.0	40.2	1∶0.76	6.5~7.5

1.3 人参的种植及栽培管理

盆栽试验于 2009-04-26 在吉林农业大学药植园人参栽培栏遮阴棚中进行。将处理好的人参以 45°斜栽于基质中,种植行距 15 cm,株距 8 cm,每盆种植 30 株,共 5 个平行。基质表面用薄薄的脱脂棉覆盖,以防杂质落入基质中,人参栽培之后浇灌全新配制的 1/2 MS 培养液,生长过程中每周交替浇灌蒸馏水和营养液 1 次。在此过程中密切观察人参的长势,每周定期给人参栽培栏定期消毒 1 次,防止病虫害的侵害。观察发现,到 05-02 有 80%的人参出苗,05-06 全部出苗,至 05-18 全部展叶,05-25 开始现蕾,06-03 陆续开花,06-08 进入绿果期。

1.4 人参根系分泌物的收集及提取

1.4.1 根系分泌物的收集 9 月中旬将人参植株拔出后收集其栽培基质,采用水提取法提取基质中的根系分泌物。按基质与蒸馏水体积比 1∶5 浸提基质,再用体积分数 95%的乙醇洗涤基质,提取 3 次,过滤合并滤液,用超声波 20 ℃超声 5 min,高速离心机 4 000 r/min 离心 5 min,收集上清液,真空抽滤,滤液在 50 ℃减压浓缩至 250 mL,即得人参根系分泌物。

1.4.2 根系分泌物的萃取分离 人参根系分泌物收集之后,需要进一步纯化,才能进行有效分析。在分离纯化过程中,根据溶剂极性不同,对根系分泌物

依次用石油醚、乙酸乙酯进行萃取,在萃取过程中防止乳化现象的发生。萃取完成后,将所有的萃取液置于蒸发皿内,在水浴锅中于 40 ℃水浴蒸干,依次根据不同萃取溶剂分别标记为 C(石油醚层)、B(乙酸乙酯层)和 A(水层)。

1.5 水层萃取物的 HPLC 分析

分别取少量水层萃取物样品用色谱甲醇溶解,过 0.45 μm 微孔滤膜,应用高效液相色谱仪(美国 Agilent 1200 型高效液相色谱仪)分析。色谱条件:色谱柱为 ODS 色谱柱;流动相为乙腈-水梯度等速洗脱。梯度洗脱程序为:0~32 min,V(乙腈):V(水)=19:81;33~50 min,V(乙腈):V(水)=29:71;51~68 min,V(乙腈):V(水)=40:60;69~75 min,V(乙腈):V(水)=90:10;76~80 min,V(乙腈):V(水)=19:81。检测波长 203 nm,流速 1.0 mL/min,进样量 20 μL,柱温 25 ℃。

称取人参皂苷对照品(购自吉林省生物制品研究所),加入甲醇,制成每 mL 中含 0.5 mg 对照品的混合溶液,摇匀,即得人参皂苷标准液,用于分析萃取液中人参皂苷成分。

1.6 乙酸乙酯层和石油醚层萃取物的 GC-MS 分析

分别取少量乙酸乙酯层及石油醚层萃取物样品于 1.5 mL 塑料离心管中,加入足量无水 CaCl₂ 于 60 ℃放置 1 h,使样品彻底干燥。每份样品中加入 250 μL 硅烷化试剂(BSTFA,SU2PELCO),75 ℃衍生化 1.5 h 后进行 GC-MS 分析。气相色谱-质谱联用仪为 AGILENT 5975/6890N 型,毛细管柱为 HP-35 ms (30.0 m×0.25 mm×0.25 μm);载气为 He,流速为 1 mL/min;进样量为 1 μL。测试条件:进样口温度 280 ℃,柱温 60 ℃,保持 1 min;10 ℃/min 升温至 180 ℃,保持 1 min;再以 20 ℃/min 升温至 280 ℃,保持 5 min。质谱条件:电子轰击

(EI)源,电压 70 eV;扫描范围 20~800 amu,质谱数据库 N IST05 结合标准化合物用于根系分泌物中乙酸乙酯层和石油醚层萃取物中主成分分析,忽略未检出物质的峰面积。

2 结果与分析

2.1 人参根系分泌物水层的皂苷种类和含量

HPLC 分析结果(表 2)显示:人参根系分泌物水层中含有 5 种人参皂苷,分别为人参皂苷 Re、Rg2、Rb1、Rc、Rd,其中 Re 所占比例最高,为 56.55%,Rg2 亦被检测到,其含量仅次于 Re,所占比例为 17.39%。人参根系分泌物中的皂苷种类和含量与植株体内存在差别,如人参皂苷 Rg1 和 Rb2 在人参植株体普遍存在,但在根系分泌物中未检测到。

表 2 人参根系分泌物的 HPLC 分析
Table 2 HPLC analysis of ginseng root exudates

人参皂苷 Ginsenosides	保留时间/min Retention time	含量/(μg·g ⁻¹) Concentration	所占比例/% Percentage
Re	37.81	159.51	56.55
Rg2	61.50	49.05	17.39
Rb1	62.23	19.16	6.79
Rc	64.26	47.59	16.87
Rd	70.01	6.78	2.40

2.2 人参根系分泌物乙酸乙酯层和石油醚层的物质种类和含量

由表 3 和图 1 可以看出,在人参根系分泌物石油醚层中,GC 色谱分离得到 30 个峰,经 MS 计算机检索和人工分析,鉴定了其中的 20 种化合物,分别为 11 种烷烃类物质(46.56%,所占比例,下同)、6 种有机酸酯类物质(22.75%)、1 种酚酸(13.78%)、1 种烷烃衍生物(3.59%)和 1 种吡喃类物质(5.39%);其余色谱峰未经标准品鉴定。由此可见,石油醚层中人参根系分泌物主要化合物分子结构简单,分子质量小。

表 3 人参根系分泌物的 GC-MS 分析
Table 3 GC-MS analysis of ginseng root exudates

萃取物 Extract	峰编号 Peak	保留时间/min Retention time	化合物 Compound	物质种类 Compound	分子式 Molecular formula	峰面积 Peak area
石油醚层 Petroleum ether extracts	1	19.726	7-乙基-二十烷 7-ethyl-eicosane	烷烃类 Alkanes	C ₂₆ H ₅₄	0.835
	2	19.813	1,3-二氧戊环,4-甲基,4-乙基-2-十五烷 1,3-dioxolan-4-methyl-, 4-ethyl-2-pentadecanoic	烷烃类 Alkanes	C ₂₁ H ₄₂ O ₂	3.507
	3	20.474	乙基柠檬酸 Citric acid ethyl	酚酸类 Phenolic acids	C ₁₂ H ₂₀ O ₇	0.857
	4	21.162	1-环戊基-十二烷 Dodecane, 1-cyclopentyl-4-(3-cycio-pentylpropyl)	烷烃类 Alkanes	C ₂₅ H ₄₈	3.162

续表 3 Continued table 3

萃取物 Extract	峰编号 Peak	保留时间/min Retention time	化合物 Compound	物质种类 Compound	分子式 Molecular formula	峰面积 Peak area
石油醚层 Petroleum ether extracts	5	21.258	3,4-二乙基,1,1'-联苯 3,4-diethyl 1,1'-biphenyl	烷烃类 Alkanes	C ₁₆ H ₁₈	1.554
	6	21.554	十四酸 Myristate	有机酸酯类 Organic acids and esters	C ₁₄ H ₂₈ O ₂	1.721
	7	21.894	棕榈酸乙酯 Ethyl palmitate	有机酸酯类 Organic acids and esters	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	0.922
	8	21.964	9-辛基-十七烷 9-helsinki-heptadecanoyl	有机酸酯类 Organic acids and esters	C ₂₅ H ₅₂	3.009
	9	22.469	6,10,14-三甲基-2-十五酮 2-pentadecanone,6,10,14-trimethyl	烷烃类 Alkanes	C ₁₈ H ₃₆ O	1.624
	10	22.565	油酸 Oleic acid	有机酸酯类 Organic acids and esters	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	1.095
	11	22.991	十九烷 Nonadecane	烷烃类 Alkanes	C ₁₉ H ₄₀	4.021
	12	23.287	3,5,5,8-五甲基-6,7,8,8-四氢-5H-苯并[b]吡喃 3,5,5,8-pentamethyl-6,7,8,8-tetrahydro-5H-benzo [b] pyran	吡喃类 Pyran	C ₁₄ H ₂₂ O ₂	5.393
	13	23.644	正十六酸 n-hexadecane acid	有机酸酯类 Organic acids and esters	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	11.198
	14	23.984	二十烷 Eicosane	烷烃类 Alkanes	C ₂₀ H ₄₂	5.424
	15	24.533	Tert-十六烷硫醇 Tert-hexadecanethiol	烷烃衍生物 Alkane derivatives	C ₁₆ H ₃₄ S	3.586
	16	24.925	二十一烷 Heneicosanoic	烷烃类 Alkanes	C ₂₁ H ₄₄	8.115
	17	25.778	硬脂酸乙酯 Ethyl stearate	有机酸酯类 Organic acids and esters	C ₂₀ H ₄₀ O ₂	2.800
	18	25.822	二十二烷 Docosanoic	烷烃类 Alkanes	C ₂₂ H ₄₆	8.403
	19	27.650	四十四烷 Four-tetradecane	烷烃类 Alkanes	C ₄₄ H ₉₀	6.602
	20	28.669	二十五烷 Pentacosane	烷烃类 Alkanes	C ₂₅ H ₅₂	7.653
乙酸乙酯层 Ethyl acetate extracts	1	19.013	E-11,13-二烯十四醇 E-11,13-dien-14 alcohols	烷烃类 Alkanes	C ₁₄ H ₂₈ O	14.080
	2	20.468	乙基柠檬酸 Ethyl citrate	酚酸类 Phenolic acids	C ₁₂ H ₂₀ O ₇	13.519
	3	21.548	2-甲基-正十六(烷)醇 2-methyl-n-hexadecane (n) mercaptan	烷烃类 Alkanes	C ₁₆ H ₃₆ O	8.687
	4	22.819	二(2-甲基丙基),1,2 苯二甲酸酯 Bis (2-methylpropyl)-,1,2 terephthalate	有机酸酯类 Organic acids and esters	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	5.329
	5	23.620	棕榈酸 Palmitic acid	有机酸酯类 Organic acids and esters	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	5.999
	6	23.768	邻苯二甲酸二丁酯 1,2-benzenedicarboxylic acid bis (2-methylpropyl)	有机酸酯类 Organic acids and esters	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	21.536
	7	25.806	丁基柠檬酸 Butyl citric acid	有机酸酯类 Organic acids and esters	C ₁₈ H ₃₂ O ₇	7.064
	8	29.394	单(2-乙基己基)邻苯二甲酸酯 Mono (2-ethylhexyl) phthalate	有机酸酯类 Organic acids and esters	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	7.420
	9	40.637	噬菌酯 Azoxystrobin	有机酸酯类 Organic acids and esters	C ₂₂ H ₁₇ N ₃ O ₅	16.364

由表 3 和图 2 可见,在人参根系分泌物乙酸乙酯层,GC 色谱分离得到 10 个峰,经 MS 计算机检索和人工分析,鉴定了其中 9 种化合物,最终鉴定出 2 种烷烃类物质(22.77%)、6 种有机酸酯类物质(63.71%)、1 种酚酸类物质(13.52%),其余色谱峰未经标准品鉴定。人参根系分泌物乙酸乙酯层中的物质主要为烷烃类和有机酸酯类,与石油醚层中的物质相比,乙酸乙酯层中的物质分子结构相对复杂,分子质量较大,但仍然是小分子化合物,容易进入外界环境,但是由于极性较小,在自然环境中,通过雨雾淋溶或者根系主动释放分泌的物质质量也是极少的。

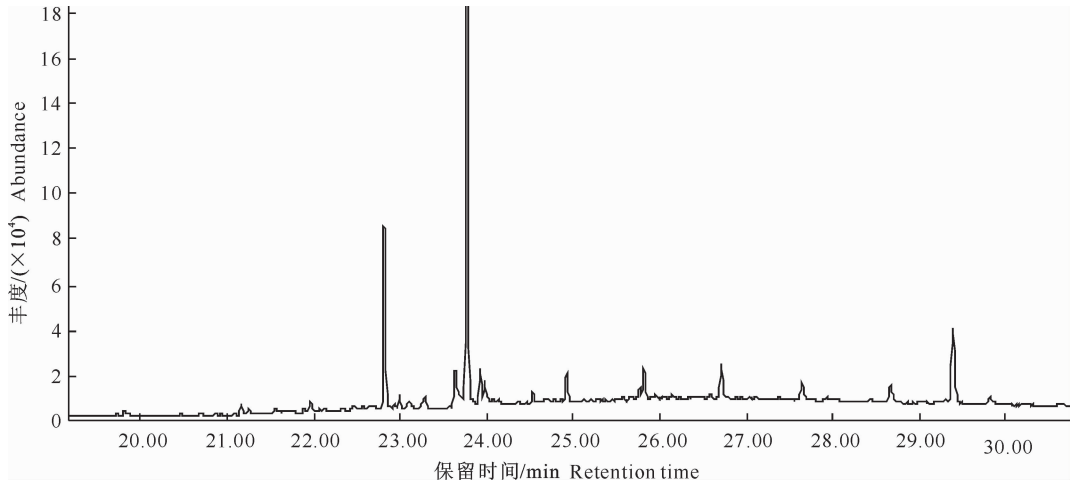


图 1 人参根系分泌物石油醚层的 GC-MS 分析

Fig.1 GC-MS analysis of petroleum ether extract of ginseng root exudates

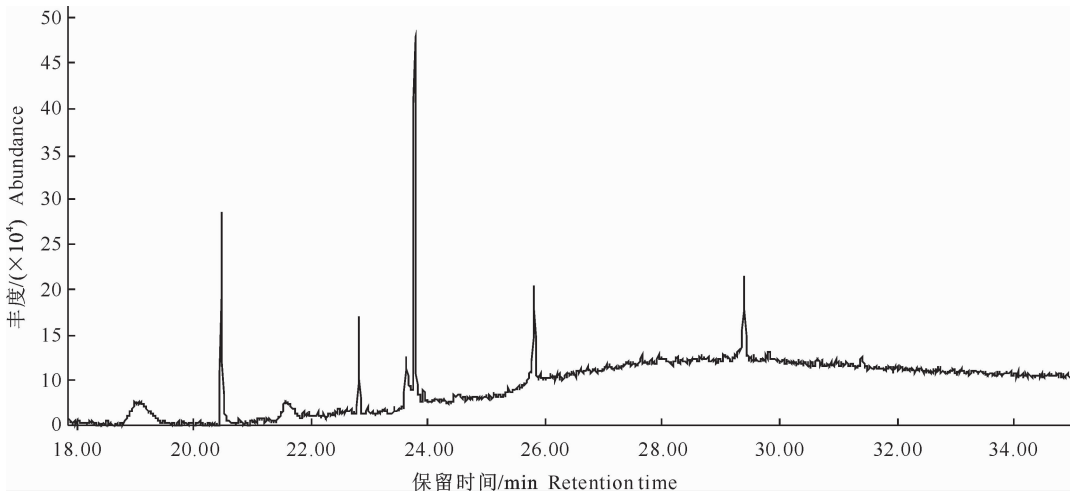


图 2 人参根系分泌物乙酸乙酯层的 GC-MS 分析

Fig.2 GC-MS analysis of ethyl acetate extract of ginseng root exudates

3 讨 论

对人参根系分泌物化学成分的研究迄今报道较少^[13],主要原因是根系分泌物量少且难于收集。根系分泌物中的亲水性成分会随着水分的流失而分散在土壤中,对植株生长影响较小;而疏水性成分滞留在植物根系周围,对植物的生长影响较大^[2]。目前,被人们所公认的化感物质主要包括有机酸类、酚酸及其衍生物类、黄酮类、萜类、生物碱类等 14 个大类^[13]。化感物质复杂的种类和结构决定了其作用途径的多样性。

本试验采用灭菌复合基质复配无土栽培法,对人参进行盆栽试验,使人参植株正常生长,在人参根系完好的前提下收集根系分泌物,很好地排除了其他植物产生的化感物质对试验结果的干扰。Robert 等^[10]采用 Tang & Young 设计的根系分泌物收集

系统,从西洋参根际土壤中收集其根系分泌物,经过 HPLC-ESI-MS 分析,确定这些根系分泌物中含有皂苷成分。李勇等^[14-15]报道,营养元素和微量元素亏缺会影响人参根系分泌物的组成,其中微量元素亏缺时,人参根系分泌物中有机酸及酚酸类化合物增多,而其他类化合物有所减少。

本试验中 HPLC 分析显示,人参根系分泌物中含有皂苷类成分,说明人参在生长过程中能够通过根系分泌微量的人参皂苷,而人参皂苷对人参种子萌发、幼根生长和鲜质量均有抑制作用,且抑制程度随处理浓度的升高而增强^[16];人参皂苷还可抑制人参愈伤组织的生长^[17]。本研究发现,在人参根系分泌物中未检测出人参植株中普遍存在的 Rg1 和 Rb2 皂苷,其原因有待进一步分析。GC-MS 分析显示,人参根系分泌物中含有有机酸和酚酸,酸性物质的分泌在一定程度上可以提高土壤中特定矿质元素

的转化和吸收效率,但酸性物质的积累会造成土壤的酸化,进而导致土壤微生物群落结构改变、土壤理化性状恶化等问题的出现,对人参的生长产生间接影响;另外,某些具有化感活性的酸性物质(尤其是酚酸类物质)还可能对人参的生长产生直接影响。

[参考文献]

[1] 孔垂华,徐涛,胡飞,等.环境胁迫下植物的化感作用及其诱导机制[J].生态学报,2000,20(9):849-854.
Kong C H,Xu T,Hu F,et al. Allelopathy under environmental stress and its induced mechanism [J]. Acta Ecologica Sinica, 2000,20(9):849-854. (in Chinese)

[2] 王玉萍,赵杨景,邵迪,等.西洋参根系分泌物的初步研究[J].中国中药杂志,2005,30(3):229-231.
Wang Y P,Zhao Y J,Shao D,et al. Reasearch on American ginseng root exudates [J]. China Journal of Chinese Materia Medica,2005,30(3):229-231. (in Chinese)

[3] 程智慧,徐鹏.百合根系分泌物的 GC-MS 鉴定[J].西北农林科技大学学报:自然科学版,2012,40(9):202-208.
Cheng Z H,Xu P. GC-MS identification of chemicals in lily root exudates [J]. Journal of Northwest A&F University: Nat Sci Ed,2012,40(9):202-208. (in Chinese)

[4] 张秋菊,贲文锐,徐丽红,等.老参地土壤提取液对水稻种子萌发及幼苗生长的化感效应[J].西北农林科技大学学报:自然科学版,2012,40(1):49-54,60.
Zhang Q J,Ben W R,Xu L H,et al. Allelopathic effects of extract from old ginseng soil on seed germination and seedlings growth in rice [J]. Journal of Northwest A&F University: Nat Sci Ed,2012,40(1):49-54,60. (in Chinese)

[5] 雷锋杰,张爱华,方斯文,等.人参根系分泌物对 4 种药用植物的化感作用研究[J].中国农学通报,2010,26(19):140-144.
Lei F J,Zhang A H,Fang S W,et al. Allelopathy of ginseng root exudates on four kinds of medicinal plant [J]. Chinese Agricultural Science Bulletin,2010,26(19):140-144. (in Chinese)

[6] Zhang A H,Lei F J,Guo Z X,et al. Allelopathic effects of ginseng root exudates on seeds germination and growth of ginseng and American ginseng [J]. Allelopathy Journal,2011,28(1):13-20.

[7] 邵财,王英平,许世泉,等.人参根系分泌物对其根源愈伤组织化感效应研究[J].中药材,2009,30(12):1798-1801.
Shao C,Wang Y P,Xu S Q,et al. Study on allelopathic effect of ginseng root exudates against its root callus [J]. Journal of Chinese Medicinal Materials,2009,30(12):1798-1801. (in Chinese)

[8] 黄小芳,李勇,丁万隆.人参根系分泌物对种子萌发的自毒效应[J].种子,2009,28(10):4-7.

Huang X F,Li Y,Ding W L. Autotoxicity effect of ginseng root exudates on seeds germination [J]. Seed,2009,28(10):4-7. (in Chinese)

[9] 李勇,刘时轮,黄小芳,等.人参(*Panax ginseng*)根系分泌物成分对人参致病菌的化感效应[J].生态学报,2009,29(1):161-168.
Li Y,Liu S L,Huang X F,et al. Allelopathy of ginseng root exudates on pathogens of ginseng [J]. Acta Ecologica Sinica, 2009,29(1):161-168. (in Chinese)

[10] Robert W N,Lina Y,James A T,et al. Ginsenosides stimulate the growth of soilborne pathogens of American ginseng [J]. Phytochemistry,2003,64(1):257-264.

[11] Lina F Y,Mark A B. *In vitro* metabolism of ginsenosides by the ginseng root pathogen *Pythium irregulare* [J]. Phytochemistry,2006,67(16):1740-1749.

[12] 孔垂华.植物化感作用研究中应注意的问题[J].应用生态学报,1998,9(3):332-336.
Kong C H. Problems needed attention on plant allelopathy research [J]. Chinese Journal of Applied Ecology,1998,9(3):332-336. (in Chinese)

[13] 孔垂华,胡飞.植物化感作用及其应用[M].北京:中国农业出版社,2004:154-155.
Kong C H,Hu F. Plant allelopathy and its application [M]. Beijing:Chinese Agricultural Press,2004:154-155. (in Chinese)

[14] 李勇,黄小芳,丁万隆.微量元素亏缺对人参根系分泌物组成的影响[J].中国生态农业学报,2009,17(1):64-69.
Li Y,Huang X F,Ding W L. Effect of microelement deficiency on root exudates of ginseng [J]. Chinese Journal of Eco-Agriculture,2009,17(1):64-69. (in Chinese)

[15] 李勇,黄小芳,丁万隆.营养元素亏缺对人参根分泌物主成分的影响[J].应用生态学报,2008,19(8):1688-1693.
Li Y,Huang X F,Ding W L. Effects of nutrient deficiency on principal components of ginseng root exudates [J]. Chinese Journal of Applied Ecology,2008,19(8):1688-1693. (in Chinese)

[16] 张爱华,雷锋杰,许永华,等.外源人参皂苷对人参种子萌发和幼根抗氧化酶活性的影响[J].生态学报,2009,29(9):4934-4941.
Zhang A H,Lei F J,Xu Y H,et al. Effects of ginsenosides on the germinating of ginseng seeds and on the activity of antioxidant enzymes of the radicles of ginseng seedlings *in vitro* [J]. Acta Ecologica Sinica,2009,29(9):4934-4941. (in Chinese)

[17] Lei F J,Zhang A H,Xu Y H,et al. Allelopathic effects of ginsenoside on *in vitro* growth and antioxidant enzymes activity of ginseng callus [J]. Allelopathy Journal,2010,26(1):13-22.