

基于叶表皮特征对 25 科 40 种药用植物显微鉴别的研究

李贺敏, 王 森, 张红瑞, 黄 勇, 周 艳, 夏 至*

河南农业大学农学院 河南 郑州 450002

摘 要: **目的** 研究叶表皮形态特征对药用植物显微鉴定的意义。**方法** 利用光学显微镜和显微测绘器对 25 科 40 种药用植物的叶表皮形态进行观察、分类和研究, 对特征参数进行相关性分析。**结果** 40 种药用植物气孔轴式分为不规则类、不等类、横列类、平列类和四细胞类 5 种类型, 47.5% 的种类属于不规则类; 表皮细胞形态分为不规则形、多边形和矩形, 其垂周壁分为平直、平滑、V-波形和 U-波形 4 种类型; 50% 的药用植物气孔指数在 10~20, 45% 药用植物气孔密度为 100~200 个/mm², 70% 药用植物叶片气孔器长宽比为 1.00~1.50, 为宽椭圆形, 42% 的药用植物气孔面积在 401~600 μm²; 77.5% 药用植物叶片脉岛数在 1.00~10.00 个/mm²; 88.2% 药用植物栅表比在 1~10。**结论** 单一叶表皮特征在药用植物显微鉴定中虽有物种差异性, 但不具有专属性, 多个叶表皮特征的结合或基于多个叶表皮特征建立的植纹是药用植物显微鉴定的有效途径。

关键词: 叶表皮; 气孔轴式; 气孔参数; 栅表比; 脉岛数

中图分类号: R282 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2021)23-7331-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2021.23.028

Research of microscopic identification of 40 medicinal plants from 25 families based on characteristics of leaf epidermis

LI He-min, WANG Sen, ZHANG Hong-rui, HUANG Yong, ZHOU Yan, XIA Zhi

College of Agriculture, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China

Abstract: **Objective** To study the significance of leaf epidermis morphological characteristics on microscopic identification of medicinal plants. **Methods** The leaf epidermis of 40 medicinal plants species from 25 families were observed and studied by optical microscope and micro-mapper, and the characteristic parameters were analyzed by correlation analysis. **Results** The stomata shaft type of 40 medicinal plants species can be divided into five types: irregular type, unequal type, horizontal type, paracytic type and four-cell type, and 47.5% of species were irregular types. The morphology of epidermal cells can be divided into irregular, polygon and rectangle shape, while the anticlinal wall can be divided into straight, smooth, V-waveform and U-waveform. Stomatal index of 50% medicinal plants was between 10—20, stomatal density of 45% medicinal plants was 100—200 N/mm². The length to width ratio of stomatal apparatus of 70% medicinal plants was between 1.00 and 1.50 with wide oval shape. Stomatal area of 42% medicinal plants was between 401—600 μm²; The vein islet numbers of 77.5% medicinal plants were between 1.00 and 10.00 N/mm², while the palisade ratio of 88.2% medicinal plants was between 1—10. **Conclusion** A single characteristics of leaf epidermis is species-specific without specificity in the microscopic identification of medicinal plants. The combination of multiple leaf epidermal features or the establishment of plant apparent pattern based on multiple leaf epidermal features is an effective way for the microscopic identification of medicinal plant.

Key words: leaf epidermis; stomata shaft type; stomatal parameter; palisade ratio; vein islet numbers

显微常数测定和显微定量是中药材显微鉴定中常用的方法^[1-2]。主要是利用药材某一显微特征如花粉粒、晶体、石细胞、油细胞、叶表皮组织

等的独特性对药材进行定性或中对成药中某种药材成分进行定性定量^[3-5]。现有研究表明中药材的某些显微特征常数还与其有效成分有相关性^[6-8]。与

收稿日期: 2021-03-06

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (31770370); 河南省高等学校重点科研项目计划 (22A360010)

作者简介: 李贺敏 (1972—), 博士, 副教授, 硕士生导师, 从事中药资源与栽培方向的研究。Tel: 13592667307 E-mail: lihemmin2002@henau.edu.cn

*通信作者: 夏至, 副教授, 主要从事中药资源的分子鉴定及功能基因组学研究。E-mail: xiazhi@henau.edu.cn

叶表皮组织有关的显微常数主要包括表皮细胞形态、垂周壁类型、气孔轴式、气孔密度、气孔指数、脉岛数和栅表比等,这些指标在同种植物中相对稳定,常被用来鉴定常见叶类药材的混淆品和伪品^[9-10],同时,这些形态特征具有较高的分类学和系统学的价值,也是探讨药用植物亲缘关系的主要特征^[11-15],为药用植物的分类和系统演化提供一定的科学依据。

近年来,叶表皮显微特征主要用于药用植物基原物种的真伪鉴定,聚焦的类群往往局限于同属的 1~2 个物种^[9-10]。对不同科属的常见药用植物叶表皮的显微特征比较研究较少。叶表皮显微特征在不同科属药用植物中鉴别的可靠性有待于进一步评估。因此,本实验基于 25 科共 40 种常见药用植物的叶表皮显微常数观察比较研究,探讨叶表皮显微常数在不同药用植物中显微鉴别的差异性,为药用植物资源的开发利用和常见大宗药材的显微鉴定提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

试验材料均采自河南中医学院药用植物园,共 25 科 40 种,见表 1。以上材料由河南农业大学高致明教授和夏至副教授鉴定。2019 年 7 月,供试当天 10:00—11:00 时随机选取生长健壮的药用植物各 3 株,取中部完整健康叶片供试。

1.2 方法

1.2.1 气孔各项指标的观察和测定 取各种植物的完整新鲜叶片,洗净后用镊子撕取下表皮,修剪成合适尺寸,做成临时装片,观察气孔轴式、叶表皮细胞形状及其垂周壁形态;测量气孔密度和气孔指数。气孔密度指单位面积内的气孔数目。用显微描绘器描出 1 mm² 的方形图像,计算方形图像内的气孔数目,不同叶片重复检视 20 次,求其平均值。用显微描绘器描出 1 mm² 的方形图像,计算方形图像内气孔数目(S)和表皮细胞数目(P)。根据公式求出气孔指数(I)。不同叶片重复检视 20 次,取其平均值。

$$I=S/(S+P)$$

1.2.2 栅表比的测定 取新鲜植物叶片,撕取上表皮置于试管中,加水合氯醛试液 2 mL,在沸水浴中加热至材料完全透明。滴加稀甘油制成临时装片,测量栅表比。栅表比指叶肉中一个表皮细胞下的平均栅栏细胞数目。在高倍镜(40 倍)下找出相邻 5 个表皮细胞,计算其下面栅栏细胞数目,将总数除以 5 得出栅表比。按上述方法重复检视 20 次,取其平均值。

1.2.3 脉岛数的观察 取新鲜植物叶片,在叶片中脉两侧,剪取长 15 mm,宽 10 mm 的矩形块,置于试管中,加入 20 倍量透化液(水合氯醛与乙醇等量混合),放入 70 ℃ 水浴锅进行热透化,视叶片厚

表 1 药用植物种类

Table 1 Medicinal plant species

序号	科	种	入药部位	序号	科	种类	入药部位
1	唇形科 Labiatae	夏枯草 <i>Prunella vulgaris</i> L.	果穗	21	马齿苋科 Portulacaceae	马齿苋 <i>Portulaca oleracea</i> L.	地上部分
2	唇形科 Labiatae	地笋 <i>Lycopus lucidus</i> Turcz.	地上部分	22	毛茛科 Ranunculaceae	牡丹 <i>Paeonia suffruticosa</i> Andr.	根皮
3	唇形科 Labiatae	紫苏 <i>Perilla frutescens</i> (L.) Britt.	种子、叶、梗	23	毛茛科 Ranunculaceae	芍药 <i>Paeonia lactiflora</i> Pall.	根
4	大戟科 Euphorbiaceae	乌柏 <i>Sapium sebiferum</i> (L.) Roxb.	根皮、叶和种子	24	茜草科 Rubiaceae	鸡屎藤 <i>Paederia scandens</i> (Lour.) Merr.	全草
5	大戟科 Euphorbiaceae	泽漆 <i>Euphorbia helioscopia</i> L.	全草	25	茄科 Solanaceae	白花曼陀罗 <i>Datura metel</i> L.	花、根、种子
6	豆科 Leguminosae	决明 <i>Cassia obtusifolia</i> L.	种子	26	茄科 Solanaceae	龙葵 <i>Solanum nigrum</i> L.	地上部分
7	豆科 Leguminosae	苦参 <i>Sophora flavescens</i> Alt.	根	27	伞形科 Umbelliferae	珊瑚菜 <i>Glehnia littoralis</i> Fr. Schmidt ex Miq.	根
8	凤仙花科 Balsaminaceae	凤仙花 <i>Impatiens balsamina</i> L.	种子、茎、花	28	伞形科 Umbelliferae	柴胡 <i>Bupleurum chinense</i> DC.	根
9	葫芦科 Cucurbitaceae	栝楼 <i>Trichosanthes kirilowii</i> Maxim.	果实、种子、果皮、根	29	商陆科 Phytolaccaceae	商陆 <i>Phytolacca acinosa</i> Roxb.	根
10	堇菜科 Violaceae	紫花地丁 <i>Viola yedoensis</i> Cav.	全草	30	十字花科 Cruciferae	菘蓝 <i>Isatis indigotica</i> Fortune	根、叶
11	景天科 Crassulaceae	佛甲草 <i>Sedum lineare</i> Thunb.	茎叶	31	玄参科 Scrophulariaceae	玄参 <i>Scrophularia ningpoensis</i> Hemsl.	根
12	景天科 Crassulaceae	轮叶八宝 <i>Sedum verticillatum</i> (L.) H. Ohba.	全草	32	紫茉莉科 Nyctaginaceae	紫茉莉 <i>Mirabilis jalapa</i> L.	根、叶、种子
13	桔梗科 Campanulaceae	沙参 <i>Adenophora stricta</i> Miq.	根	33	泽泻科 Alismataceae	泽泻 <i>Alisma plantago-aquatica</i> Linn.	块茎
14	菊科 Compositae	薊 <i>Cirsium japonicum</i> Fisch. ex DC.	地上部分或根	34	薯蓣科 Dioscoreaceae	薯蓣 <i>Dioscorea opposita</i> Thunb.	块根
15	菊科 Compositae	红花 <i>Carthamus tinctorius</i> L.	花	35	百合科 Liliaceae	黄精 <i>Polygonatum sibiricum</i> Delar. ex Redoute	根茎
16	菊科 Compositae	佩兰 <i>Eupatorium fortunei</i> Turcz.	地上部分	36	百合科 Liliaceae	玉竹 <i>Polygonatum odoratum</i> (Mill.) Druce	根茎
17	菊科 Compositae	小薊 <i>Cirsium setosum</i> (Willd.) MB.	地上部分	37	百合科 Liliaceae	紫玉簪 <i>Hosta albomarginata</i> (Hook.) Ohwi	花、根、叶
18	蓼科 Polygonaceae	蒺藜 <i>Polygonum aviculare</i> L.	地上部分	38	鸢尾科 Iridaceae	射干 <i>Belamcanda chinensis</i> (L.) DC.	根茎
19	蓼科 Polygonaceae	金荞麦 <i>Fagopyrum dibotrys</i> (D. Don) Hara	根茎	39	禾本科 Gramineae	薏苡 <i>Coix Laryma-jobi</i> L.	种仁
20	蓼科 Polygonaceae	羊蹄 <i>Rumex japonicus</i> Houtt.	根	40	兰科 Orchidaceae	白及 <i>Bletilla striata</i> (Thunb. ex A. Murray) Rchb. f.	块茎

薄透化 5~20 h; 后倾去透化液, 水洗 3 次, 每次数秒钟; 再加入适量 10% 盐酸于试管中, 70 ℃ 水浴锅中热浸 45 min 洗去晶体, 水洗 3 次后进行二次透化, 直至能清晰区分叶肉与细脉。用低倍镜 (10 倍) 拍摄 10 个相邻的视野, 计算脉岛数目, 求出每平方毫米脉岛数。按上述方法重复检视 20 次, 取其平均值。使用 motic BA310 光学显微镜及 moticam 2506 数码摄像系统进行观察拍照测量。使用 Excel 和 SPSS 25.0 软件进行数据分析。

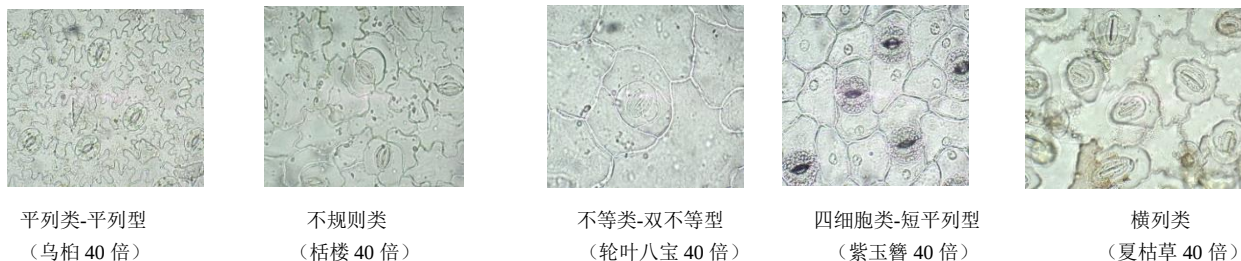


图 1 不同类型的气孔轴式

Fig. 1 Different kinds of stomata shaft type

不规则类指保卫细胞为肾形, 周围有 3 至多数副卫细胞以无规则方式排列, 副卫细胞的形状、大小和垂周壁的形态与表皮细胞无异。具有此类型气孔轴式的药用植物有 19 种, 占了所观察种类的 47.5%。不等类包括不等型和双不等型。不等型是指副卫细胞有 3 个, 排成一轮, 两大一小, 其中较小的副卫细胞多与保卫细胞近平行排列。篇蓄、柴胡、紫花地丁、菘蓝和羊蹄属于此种类型; 双不等型指有 2 轮副卫细胞, 内轮细胞 2 大 1 小, 外轮细胞不等。如轮叶八宝和佛甲。平列类指有 2 个副卫细胞完全包围着保卫细胞, 且其长轴与保卫细胞的长轴平行。包括平列型、不等平列型和双平列型。泽泻、乌柏和鸡屎藤属于平列型, 2 个副卫细胞肾形, 垂周壁平滑或近平滑, 垂周壁形态区别周围表皮细胞。不等平列型指 2 个副卫细胞 1 大 1 小, 其垂周壁相态近似于其他表皮细胞, 如决明。双平列型是指有 4 个副卫细胞成 2 轮平行保卫细胞排列, 如马齿苋。横列类: 指 2 个副卫细胞包围保卫细胞, 其长轴与保卫细胞的长轴垂直或成一定的角度。如夏枯草、地笋和紫苏。其中夏枯草和地笋的副卫细胞明显比周围表皮细胞小, 垂周壁平滑, 而紫苏的 2 个副卫细胞与周围表皮细胞的大小、形状及垂周壁的形态相近。四细胞类指有 4 个保卫细胞较规则排列在保卫细胞周围, 单子叶植物多属于这种类型, 包括十字型、禾本科型和平列型。十字型指 4 个副

2 结果与分析

2.1 不同药用植物叶片气孔器的细胞形态及气孔轴式

通过对 25 科 40 种药用植物的气孔器细胞形态及气孔轴式进行研究, 结果表明, 除了单子叶植物禾本科药用植物, 其他药用植物气孔器保卫细胞的形态均为肾形。以 Dileher 系统^[16-18]为参照, 根据副卫细胞的数量和排列方式将气孔轴式分为不规则类、不等类、横列类、平列类、四细胞 5 种类型, 见图 1。

卫细胞大小近相等, 其长轴与保卫细胞的长轴平行, 2 个位于两极, 另 2 个位于保卫细胞的两侧, 呈十字型排列, 如黄精、玉竹和射干。黄精与玉竹的副卫细胞为近长方形; 射干的副卫细胞近菱形。禾本科型指保卫细胞哑铃形, 位于两极的两个副卫细胞近长方形, 两侧的 2 个副卫细胞近三角形, 如薏苡。短平列型指 2 个短副卫细胞位于保卫细胞两侧, 与保卫细胞近等长, 2 个窄宽的副卫细胞位于保卫细胞的两极, 其长轴与保卫细胞的长轴垂直。如紫玉簪和白及。

2.2 不同药用植物叶片表皮细胞形状及垂周壁镶嵌类型

不同药用植物表皮细胞形态各异, 主要有不规则形、多边形、矩形等几种类型。50% 观察药用植物的表皮细胞较规则, 呈多边形, 但表皮细胞的大小不等; 其次为不规则形, 表皮细胞大小不一, 形态不定, 占观察种类 37.5%; 其余为矩形, 多为单子叶植物, 如黄精、玉竹、唐菖蒲和薏苡等, 双子叶植物只有佛甲草的表皮细胞为近矩形。在 Dilcher^[16]对垂周壁描述的基础上, 将不同药用植物叶表皮细胞垂周壁的形态分为平直、平滑、V 形波和 U 形波等几种类型 (表 2 和图 2)。平直型垂周壁指表皮细胞的垂周壁几乎呈平滑的直线; 若表皮细胞的垂周壁呈平滑的曲线, 但并没有形成明显的波形, 称平滑型垂周壁; V 形波垂周壁指垂周壁较规

表 2 不同药用植物叶片表皮细胞垂周壁类型

Table 2 Anticlinal walls of leaf epidermal cells of different medicinal plants

垂周壁类型	数量/种	植物种类
平滑型	7	地笋、苦参、轮叶八宝、大蓟、佩兰、鸡屎藤、珊瑚菜
平直型	13	决明、紫花地丁、沙参、红花、篇蓄、金荞麦、柴胡、菰蓝、泽泻、黄精、玉竹、紫玉簪、白及
V-波形	10	V-浅波: 夏枯草、佛甲草、小蓟、马齿苋、商陆、紫茉莉; V-波形: 羊蹄、射干、紫玉簪; V-深波: 泽漆
U-波形	10	U-浅波: 乌柏; U-波形: 凤仙花 U-深波: 紫苏、桔梗、牡丹、芍药、龙葵、白花曼陀罗、玄参、薯蓣

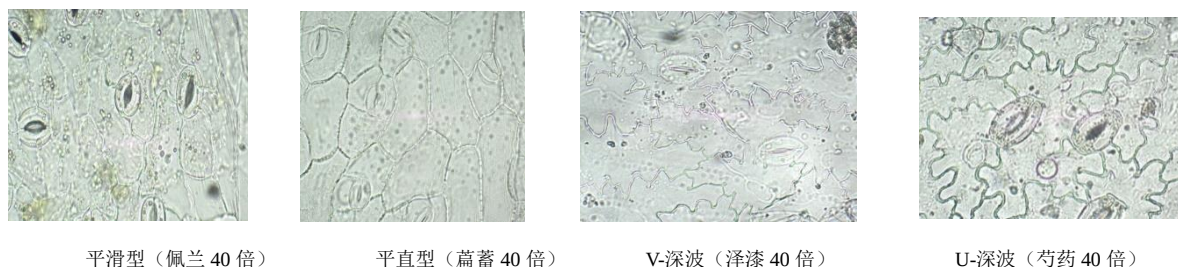


图 2 不同药用植物叶表皮细胞垂周壁类型

Fig. 2 Different anticlinal walls of epidermic cells

则的 V 形弯曲,若波的深度和宽度几乎相等,称为 V-波形,若波的深度大于宽度则为 V-深波,若波的深度小于宽度,为 V-浅波;U 形波垂周壁指表皮细胞的垂周壁彼此嵌合弯曲成 U 字,同样,若波的深度和宽度相等,形成 U-波形,若深度大于宽度为 U-深波,反之为 U-浅波。所观察药用植物种类中,平滑型垂周壁有 7 种,均为双子叶植物,占观察种类的 17.5%;平直型垂周壁有 13 种,占 32.5%,其中单子叶植物有 5 种,包括泽泻、黄精、玉竹、紫玉簪和白及;V 波形有 10 种,占 25%,其中 V-浅波有 6 种,V-波形 3 种,V-深波 1 种;U 波形有 10 种,占 25%,其中 U-浅波 1 种,U-波形 1 种,U-深波 8 种。

2.3 不同药用植物叶表皮特征指数

2.3.1 不同药用植物叶表皮气孔参数 气孔参数是因植物种类不同有较大的差异,且同一物种具有相对稳定性^[19-20]。对 25 科 40 种药用植物气孔密度、气孔指数和其他衡量气孔大小的指标进行观察测量(表 3)。25 科 40 种药用植物的气孔指数平均为 20.82,最小的为泽泻为 8.30,最大的为玉竹,为 35.23,气孔指数小于 10 只有泽泻 1 种,在 10~20 的有 20 种,占观察种类 50%,在 21~30 的有 15 种,占 37.5%,30 以上的有 4 种,分别是黄精、玉竹、唐菖蒲和紫苏。

不同药用植物的气孔密度差异较大,气孔密度最大的为地笋,413 个/mm²,最小的为马齿苋,21.67 个/mm²。其中气孔密度在 100 个/mm² 以下的有 8

种,由小到大分别是马齿苋、佛甲草、泽泻、泽漆、轮叶八宝、羊蹄、薯蓣、牡丹;气孔密度在 100~200 个/mm² 有 18 种,占种类的 45%,201~300 的有 9 种,301 以上的有 5 种。不同药用植物气孔大小各异,形态各异。不同药用植物气孔长最小的为柴胡,为 18.27 μm,最大的为马齿苋,为 50.72 μm,不同药用植物气孔大小各异,形态各异。不同药用植物气孔长最小的为柴胡,为 18.27 μm,最大的为马齿苋,为 50.72 μm,平均 31.53 μm。气孔宽最小的为薏苡,为 10.10 μm,最大的是紫玉簪,为 35.74 μm,平均为 22.64 μm。不同药用植物气孔的长宽比决定了气孔的形态,黄精气孔的长宽比最小,是 0.91,薏苡气孔的长宽比最大,为 4.26,平均为 1.47。其中 1.00 以下有 2 种,为近圆形,分别是薏苡和紫玉簪,1.00~1.50 的有 28 种,为阔椭圆形,占全部的 70%,1.51~2.00 的有 7 种,为椭圆形,2.01 以上的有 3 种,为长椭圆形,分别是佛甲草、凤仙花和薏苡。气孔面积最小的为柴胡,为 213.52 μm²,最大的为紫玉簪,为 1075.74 μm²。其中气孔面积在 200~400 μm² 的有 10 种,占 25%;在 401~600 μm² 有 17 种,占 42.5%;601~800 μm² 的有 2 种,801~1000 μm² 以上的有 7 种,1000 μm² 以上的有 4 种,分别是紫玉簪、泽泻、牡丹和马齿苋。

2.3.2 不同药用植物叶片的脉导数及脉岛类型 脉岛数为叶脉所环绕的最小光合作用组织数目。不同药用植物脉导数差异很大,脉导数最少的是黄精,

表 3 不同药用植物叶表皮特征指数

Table 3 Leaf epidermis characteristic index of different medicinal plants

序号	气孔指数/%	气孔密度/ (个·mm ⁻²)	气孔长/μm	气孔宽/μm	长宽比	气孔面积/μm ²	脉岛数	栅表比
1	20.03±0.90	220.33±13.61	27.16±0.80	15.24±0.45	1.76±0.10	322.25±9.45	8.30±0.44	11.76±2.63
2	33.30±1.60	323.67±6.11	22.12±1.62	15.56±0.56	1.40±0.11	272.41±2.55	5.34±0.06	6.70±0.19
3	22.37±0.85	413.00±6.58	21.72±1.50	17.30±0.85	1.27±0.07	272.83±37.12	10.23±0.70	3.13±0.06
4	15.27±1.12	143.07±12.76	25.08±1.89	19.18±1.42	1.33±0.05	351.83±52.45	13.89±0.68	6.00±0.12
5	15.23±0.83	51.67±8.62	35.70±1.47	21.41±1.54	1.66±0.06	588.36±15.45	5.66±0.41	3.74±0.09
6	27.30±0.92	403.33±44.09	23.16±1.70	14.38±1.18	1.58±0.04	266.63±12.46	9.16±0.32	8.05±0.34
7	21.60±0.60	256.33±20.03	25.97±1.65	22.02±0.74	1.21±0.09	437.38±10.20	12.46±0.54	5.65±1.22
8	27.67±1.25	228.93±27.18	31.19±2.27	13.57±0.98	2.34±0.05	314.54±12.93	5.57±0.55	2.37±0.14
9	18.47±0.86	152.67±21.59	25.94±1.76	22.46±0.82	1.16±0.12	450.90±18.35	7.44±0.48	3.09±0.08
10	16.33±0.61	136.47±20.52	30.06±1.45	22.54±1.56	1.36±0.09	557.34±12.20	3.96±0.32	12.06±1.02
11	12.17±0.96	23.33±5.51	35.41±2.25	16.99±1.04	2.00±0.10	481.63±13.35	1.84±0.08	3.35±0.12
12	16.00±0.26	53.33±12.34	30.27±2.25	21.89±1.18	1.38±0.09	515.16±17.21	2.47±0.11	1.01±0.06
13	25.67±0.65	140.67±11.02	39.06±2.14	22.87±0.70	1.66±0.11	685.45±21.15	5.71±0.17	10.70±0.74
14	18.03±1.02	159.67±24.68	28.84±2.14	21.49±0.73	1.28±0.07	495.41±21.78	5.63±0.21	3.97±0.14
15	19.20±0.75	230.33±27.30	28.80±2.56	20.45±1.58	1.45±0.04	463.97±7.35	14.45±0.82	5.06±0.12
16	25.13±1.82	330.67±35.84	26.03±0.74	19.88±1.10	1.34±0.05	423.15±16.81	6.25±0.13	5.16±0.17
17	15.63±0.83	151.62±22.61	28.44±2.72	20.49±1.52	1.46±0.08	472.11±8.50	15.43±0.82	1.63±0.12
18	22.23±1.38	181.73±10.54	24.71±2.18	17.50±1.12	1.38±0.08	353.27±13.53	20.44±0.64	7.61±0.13
19	18.97±1.40	289.33±18.01	25.33±1.60	22.37±1.32	1.12±0.10	446.12±15.18	7.43±0.10	3.94±0.19
20	19.53±1.02	53.67±9.07	38.53±1.69	27.50±1.08	1.37±0.06	834.39±8.08	4.36±0.17	3.92±0.12
21	12.53±0.90	21.67±5.69	50.72±3.79	27.79±1.01	1.81±0.11	1 033.94±53.83	5.62±0.06	1.30±0.08
22	23.13±1.07	88.03±6.25	41.48±1.41	30.26±1.26	1.36±0.04	1 065.71±103.15	7.56±0.12	24.13±2.59
23	22.47±1.60	104.68±14.53	40.74±0.77	28.37±1.19	1.42±0.07	889.07±15.36	5.54±0.08	9.03±0.65
24	18.67±0.78	168.33±13.58	28.27±5.39	18.11±1.03	1.75±0.07	489.92±15.01	3.63±0.09	7.67±0.71
25	25.03±1.10	111.33±10.97	36.68±1.57	28.74±0.36	1.27±0.08	823.27±13.51	6.83±0.12	8.29±0.15
26	23.03±1.02	207.60±27.18	28.98±1.53	20.50±1.19	1.40±0.06	476.50±10.33	14.56±1.10	7.15±0.23
27	22.17±1.60	121.83±14.53	38.94±1.74	28.38±0.63	1.31±0.05	856.42±18.91	1.56±0.10	5.36±0.07
28	25.67±0.90	335.67±19.86	18.27±2.05	15.40±1.96	1.19±0.08	213.52±21.20	11.50±0.45	6.77±0.35
29	15.13±2.16	287.67±18.15	25.54±1.36	21.51±0.94	1.17±0.06	451.45±15.03	4.39±0.62	1.94±0.18
30	24.20±2.71	209.67±16.50	20.05±1.48	15.21±2.37	1.37±0.06	246.27±15.77	6.32±0.30	8.32±0.26
31	19.70±0.95	236.33±21.52	26.74±1.01	22.25±1.25	1.16±0.07	480.82±11.45	5.86±0.41	6.36±0.22
32	18.40±1.32	174.33±19.86	32.29±1.66	25.65±1.08	1.27±0.04	646.48±6.26	3.54±0.14	3.40±0.36
33	8.30±0.40	49.67±18.50	48.36±1.90	27.53±0.67	1.74±0.05	1 050.39±78.29	3.64±0.18	2.50±0.13
34	17.83±0.68	83.67±6.51	28.58±0.93	21.35±3.89	1.31±0.09	480.56±8.49	3.96±0.17	5.54±0.32
35	31.03±2.56	163.00±21.38	31.17±1.05	34.61±2.96	0.91±0.03	864.96±14.49	1.20±0.04	—
36	35.23±2.14	141.67±19.55	33.62±1.57	32.30±1.33	1.02±0.09	851.06±8.83	1.53±0.08	—
37	15.33±1.91	113.67±21.73	38.47±1.83	35.74±1.12	1.08±0.06	1 075.74±90.63	1.95±0.08	—
38	32.10±2.33	157.67±14.01	24.26±1.93	28.73±4.72	0.98±0.09	491.31±10.47	3.06±0.09	—
39	16.23±1.17	120.33±14.64	44.55±2.37	10.10±0.89	4.26±0.12	363.01±6.12	10.73±0.81	—
40	13.30±0.89	103.33±13.61	35.37±1.69	32.25±1.19	1.10±0.06	923.55±11.25	1.35±0.07	—
平均数	20.82±0.29	177.68±0.58	31.53±0.23	22.64±0.26	1.47±0.37	569.17±0.45	6.69±0.67	5.02±0.85

“—”表示单子叶植物，叶肉组织中没有栅栏组织，无栅表比

“—”means samples 35—40 are monocotyledons, and there is no palisade tissue in mesophyll tissue, Palisade ratio can not be observed

为 1.20 个/mm²，最大的藜蒿，为 20.44 个/mm²，平均为 6.69 个/mm²。脉导数在 1~5 有 15 种，占全部的 37.5%，在 5.01~10.00 个/mm²的有 16 种，占全部的 40%，10.00~15.00 个/mm²有 7 种，占全部的

17.5%，15.01 个/mm² 以上的有 2 种，占全部的 5%，分别是小蓟和藜蒿。单子叶植物除了薏苡外，脉导数都较小，在 1.20~3.06 个/mm²。

不同药用植物脉岛内自由末梢的数量和形态不

同, 形成了不同的脉岛类型。单子叶植物除了薯蓣外, 脉岛形状均较规则, 多为近长方形, 双子叶植物脉岛多呈不规则型。根据突入自由脉梢的数量和分支情况将不同药用植物叶片的脉岛分为 4 种类型: 寡少型、稀疏型、树状分枝型和花纹型(图 3)。寡少型是指脉岛相对较规则, 多为方形或不规则型, 脉岛内几乎没有突入自由末梢, 比如除了薯蓣的其他 7 种单子叶植物, 叶片肉质的佛甲草和轮叶八宝。稀疏型是指脉岛内有突入的自由末梢, 但较少, 只有 1~2 条, 且常不分枝。如凤仙花、栝楼、篇蓄、羊蹄、马齿苋、牡丹、芍药、龙葵、苦参 9 种。树状分枝型是指脉岛内自由末梢多为单条突入, 突入的单条末梢再进行 1~3 级分枝, 脉岛内突入的自由末梢呈树状分枝, 如夏枯草、小蓟、大蓟、佩兰、紫苏、地笋、芍药、鸡屎藤、商陆、紫茉莉、玄参、薯蓣 12 种。花纹型指脉岛内自由末梢突入多条, 每条又进行不同等级的分枝, 每个脉岛内的自由末梢

形成图案各异的花纹。如乌柏、紫花地丁、沙参、红花、金荞麦、菰蓝、柴胡、珊瑚菜、白花曼陀罗、泽漆 10 种。

2.3.3 不同药用植物叶片的栅表比 不同药用植物叶片栅表比差异显著, 药用植物叶片栅表比的大小与表皮细胞和栅栏细胞面积有关, 如图 4, 有图可知, 在同样的放大倍数下, 小蓟的叶表皮细胞与其他种相比较小, 而其栅栏细胞顶端面积与其它种相比则较大, 故其栅表比则较小, 平均为 1.63, 而牡丹的则相反, 牡丹的表皮细胞较大, 而其栅栏细胞顶端面积则较小, 其栅表比在所观察种类中则最大, 为 24.13。栅表比最小的为佛甲草, 只有 1.01, 不同药用植物栅表比平均为 5.02。其中栅表比在 1.01~5.00 的有 14 种, 占观察种类的 41.18%, 5.01~10.00 的有 16 种, 占 47.06, 10.01 以上的有 4 种, 占 11.76%。其他 6 种单子叶植物没有观察到栅栏细胞, 没有计算栅表比, 包括黄精、玉竹、紫玉簪、射干、薏苡、白及。

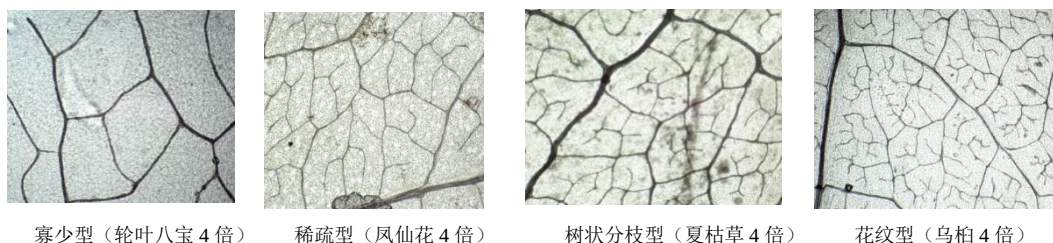


图 3 不同药用植物叶片脉岛形状

Fig. 3 Vein islets of different medicinal plants

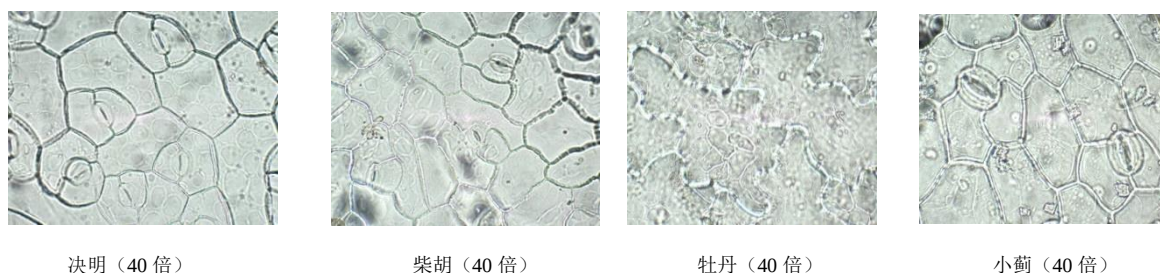


图 4 不同药用植物叶片栅表比

Fig. 4 Palisade ratio of different medicinal plants

2.3.4 不同药用植物叶表皮特征指数的相关性 对不同药用植物叶表皮各特征指数进行相关性分析, 结果见表 4。气孔指数与气孔密度呈极显著正相关, 与气孔的长度呈显著负相关; 气孔密度与气孔长、气孔宽和气孔面积呈极显著负相关; 气孔长与气孔宽呈极显著正相关, 气孔长宽比与气孔长呈显著正相关, 与气孔宽呈极显著负相关; 脉导数与气孔密度呈显著正相关, 与气孔宽和气孔面积呈极

显著负相关; 栅表比与其他叶表皮特征指数无显著相关性。

3 讨论

本实验选取 40 种 25 科药用植物进行叶表皮显微特征的探讨, 选取样品时尽量考虑到样品的多样性和代表性, 同时兼顾药用植物比较多的科, 比如伞形科、唇形科、菊科等。40 种 25 科在恩格勒系统中分属于 15 个目, 包括双子叶植物纲离瓣花亚

表 4 不用药用植物叶表皮特征指数的相关性

Table 4 Correlation of leaf epidermal characteristic index of different medicinal plants

指数	相关系数							
	气孔指数	气孔密度	气孔长	气孔宽	长宽比	气孔面积	脉岛数	栅表比
气孔指数	1.000 0							
气孔密度	0.462 5**	1.000 0						
气孔长	-0.362 2*	-0.722 7**	1.000 0					
气孔宽	0.005 1	-0.486 2**	0.463 2**	1.000 0				
长宽比	-0.199 1	-0.119 8	0.356 6*	-0.562 1**	1.000 0			
气孔面积	-0.178 4	-0.661 7**	0.792 8**	0.873 6**	-0.193 4	1.000 0		
脉岛数	-0.037 8	0.360 4*	-0.278 0	-0.480 8**	0.176 4	-0.485 8**	1.000 0	
栅表比	0.155 2	0.134 7	-0.047 7	-0.074 7	-0.046 3	-0.047 7	0.251 2	1.000 0

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

纲蓼目、中子目、毛茛目、罂粟目、蔷薇目、无患子目、堇菜目、葫芦目和伞形目，合瓣花亚纲的龙胆目、管花目，单子叶植物纲的沼生目、百合目、微子目和禾本目。气孔轴式在植物系统学研究中具有重要的意义^[12-15]。气孔轴式分类方法有多种，各种分类依据不同，但互相有交叉重合，在各种植物学教材和专著中名称混乱。本实验依据 Dileher 系统^[16]为参照，对 25 科 40 种药用植物的叶表皮气孔轴式进行分类，40 种观察药用植物的叶表皮气孔轴式大多为不规则类（19 种），其次是不等类（7 种），四细胞类（6 种）、平列类（5 种）和横列类（3 种）。除了薏苡保卫细胞是哑铃型的之外，其他种类气孔的保卫细胞均为肾形。不同药用植物表皮细胞垂周壁的形态各异，所观察药用植物种类中，平直型垂周壁较多，为 32.5%，其次为 V-波形和 U-波形，分别占观察种类的 25%，最少的为平滑型，为 17.5%。气孔轴式、表皮细胞的形态和其垂周壁的类型具有物种稳定性，可能在同属近缘物种具有鉴别的意义。因此在药用植物显微鉴别中并不具有专属性，在药材鉴别中要结合其他特征才能在药材鉴别中具有重要意义。

不同药用植物的气孔参数不同，50%的药用植物气孔指数多在 10~20；45%的药用植物气孔密度为 100~200 个/mm²；70%药用植物叶片气孔器长宽比为 1.00~1.50，为宽椭圆形，少数为圆形或长椭圆形；不同药用植物气孔面积在 413 μm²~1075 μm²，42%的药用植物气孔面积在 401~600 μm²。植物的各种气孔参数虽具有物种差异性，但易受各种环境因素的影响^[11]，因此，首先界定各种气孔参数的变化范围才能在药材显微鉴别中具有实际意义。

不同药用植物叶片脉岛数差异较大，大多数

（77.5%）药用植物叶片脉导数在 1.00~10.00 个/mm²。本实验首次根据脉岛内自由末梢的突入形状将脉岛分为不同的类型。其中，寡少型可能是单子叶植物和叶片肉质的药用植物所具有主要脉岛类型（图 3）。关于脉岛数的作为鉴定指标的意义，何报作等^[21]认为同种植物的脉岛数是恒定的，不具有普适性，不同大小的广东桑叶，不同形状的水半夏叶其脉岛数均存在差异显著性。Ballard 等^[22]也认为叶片面积影响脉导数的恒定性。Hassan 等^[23]研究了马利筋属不同植物的脉导数，认为不同植物叶片脉导数存在显著差异性，且叶片的生长部位和同一叶片的不同部位其脉岛数存在差异性。脉岛数作为鉴定指标的意义，何报作等^[21]认为只要某种生药的脉岛数的变化范围与待区别生药脉岛数的变化范围不重叠，仍具有重要的鉴定意义，因此，他认为脉岛数在作为药用植物鉴定指标时应先确认其恒定性。综上所述，某种药用植物的脉岛数不是一个恒定的常数，而是有一定的变化区间。影响脉岛数变化的因素较多，除了以上提到的叶片大小、生长部位、叶片形状、同一叶片的不同部位，通过本文的研究可知脉岛数与气孔密度呈显著正相关，与气孔面积呈显著负相关。其他环境因素比如土壤肥力等对脉岛面积有显著影响，继而单位面积上的脉导数也会受显著影响^[24]。因此，如何界定药用植物脉岛数的恒定性还需进一步探讨，但脉岛数结合脉岛形状，气孔密度及气孔面积可能在生药鉴别上具有相对专属性。

不同药用植物叶片栅表比差异显著。在所观察药用植物种类中，绝大多数（88.24%）的药用植物栅表比在 1~10。Hassan 等^[23]研究了马利筋属 6 种植物的叶片栅表比，同属不同植物栅表比具有差异显著性，同种植物栅表比因着叶片在植株上的生长部位和同一叶片不同部位具有差异性，但其他环境

因素对栅表比的影响鲜见有报道,从本文的研究中可知,栅表比与其它叶表皮特征无显著相关性,因此,栅表比在药用植物鉴定中,其“恒定性”的界定也需要进一步探讨和研究。

陆静梅^[25]将植物茎、叶外切向壁特有的纹理以及印痕,包括表皮细胞、气孔器的保卫细胞和副卫细胞、以及表皮毛等宏观形态和微观结构称为植物的植纹。因此,植纹结构稳定不变,耐酸碱、高温等各种逆境。本研究探讨了部分叶表皮特征对植物的显微鉴别,基于目前对叶表皮的识别所建立的植纹特征只能有限支持鉴别出某一大类植物,很难鉴别到种。但植纹概念的提出具有重要的意义,随着对叶表皮特征认识的不断深入,越来越多的叶表皮特征和其他植纹特征的联合,将会为每种植物提供专属的植纹。目前,在药材的显微鉴定中,很多单一特征并不具有专一性,很难与其混伪品区别,因此,在药用植物种类,开展叶表皮的形态特征研究,同时,在药材的显微鉴别中引入多特征的植纹鉴别势必成为显微鉴别的主要方法。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 康廷国. 中药鉴定学 [M]. 北京: 中国中医药出版社, 2007: 35-37.
- [2] Sinnott E W. Comparative plant anatomy. A guide to taxonomic and evolutionary application of anatomical data in *Angiosperms* Sherwin carlquist [J]. *Q Rev Biol*, 1963, 38(4): 391-393.
- [3] 雷国莲, 李芳, 张西英. 全草类及叶类中药显微常数的测定 [J]. 陕西中医学院学报, 1998, 21(1): 35-36.
- [4] 任勃, 朱相云, 温洁. 关于紫荆属(豆科)叶型和脉序的研究 [J]. 陕西师范大学学报: 自然科学版, 2004, 32(S2): 119-122.
- [5] 厉姐, 张建逵, 梁鹍, 等. 橘红丸中款冬花的显微定量研究 [J]. 现代中药研究与实践, 2016, 30(6): 25-26,30.
- [6] 张玉珠. 赤芍显微特征常数测定与研究 [J]. 中华中医药学刊, 2014, 32(12): 3007-3010.
- [7] 厉姐, 张静, 张建逵, 等. 红花显微特征常数与化学成分相关性 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(19): 57-60.
- [8] 杨菁华, 刘杨, 范晓凡, 等. 连翘显微特征常数与化学成分相关性研究方法初探 [J]. 现代中药研究与实践, 2019, 33(4): 5-8.
- [9] 覃继佳, 何报作. 马蓝叶与混淆品路边青叶的脉末梢显微鉴别特征 [J]. 广西中医药, 2011, 34(6): 55-57.
- [10] 龚玲, 张火儒, 李薇. 显微常数法对橘叶鉴定的应用研究 [J]. 湖北中医药大学学报, 2012, 14(1): 26-28.
- [11] 唐楠, 李苗苗, 唐道城. 青藏高原不同海拔高度下全缘叶绿绒蒿叶表皮特征研究 [J]. 植物研究, 2019, 39(2): 161-168.
- [12] 王美娟, 赵千里, 李芯妍, 等. 12 种茶藨子属植物叶表皮微形态特征及其分类学意义 [J]. 植物研究, 2018, 38(4): 490-496.
- [13] 洪亚平, 潘开玉, 陈之端, 等. 防己科植物的叶表皮特征及其系统学意义 [J]. 植物学报, 2001, 43(6): 615-623.
- [14] 龚力民, 何瑾, 周淮, 等. 湖南地区 5 种黄精属植物叶表皮的显微特征比较研究 [J]. 湖南中医药大学学报, 2019, 39(5): 600-602.
- [15] 郭先林, 于焕喜, 白娟, 等. 中国伞形科矮泽芹属植物叶表皮形态特征的研究 [J]. 西北植物学报, 2017, 37(3): 486-494.
- [16] Dilcher D L. Approaches to the identification of angiosperm leaf remains [J]. *Bot Rev*, 1974, 40(1): 1-157.
- [17] 程虎印, 欧莉. 常见药用单子叶植物气孔类型的初步研究 [J]. 现代中药研究与实践, 2011, 25(5): 20-22.
- [18] 杨芳, 蒲训. 植物气孔类型初步分类考证 [J]. 现代农业科技, 2010(22): 193-196.
- [19] Williams N H. Subsidiary cells in the Orchidaceae: Their general distribution with special reference to development in the *Oncidieae* [J]. *Bot J Linn Soc*, 1979, 78(1): 41-66.
- [20] 王媛媛, 马素辉, 蔡琼, 等. 青藏高原和内蒙古高原典型草地植物叶片肾型和哑铃型气孔器气孔特征及其与环境的关系 [J]. 西北植物学报, 2018, 38(6): 1048-1057.
- [21] 何报作, 廖月葵, 朱意麟, 等. 关于脉岛数的定义、测定方法、恒定性的商榷 [J]. 时珍国医国药, 2012, 23(3): 720-722.
- [22] Ballard C W, Bebarfald R. Validity of vein islet numbers in species distinction [J]. *J Am Pharm Assoc Am Pharm Assoc*, 1953, 42(1): 13-16.
- [23] Hassan W E Jr, Gosselin R A, Vander wyk R W, et al. Studies on species of *Asclepias*. VIII. Determination of vein islet numbers [J]. *J Am Pharm Assoc Am Pharm Assoc*, 1952, 41(12): 668-669.
- [24] 蒋洪涛, 李富恒, 裴雪, 等. 缺氮处理对玉米叶片形态解剖学数量指标的影响 [J]. 科技向导, 2012(11): 33-339.
- [25] 陆静梅. 中国植物表观结构植纹鉴定 [M]. 北京: 科学出版社, 2014: 236.
- [26] Frysns-Claessens E, Cotthem W. A new classification of the ontogenetic types of stomata [J]. *Bot Rev*, 1973, 39(1): 71-138.
- [27] 马清温, 李凤兰, 李承森. 气孔参数与大气 CO₂ 浓度的相关性及其影响因素 [J]. 西北植物学报, 2004, 24(11): 2020-2024.

[责任编辑 时圣明]