

霍山石斛与河南石斛生药学特征比较研究

陈乃东^{1,2,3}, 贾晓玉^{1,2}, 程启斌^{1,2}, 许梦^{1,2}, 李俊^{3*}

¹皖西学院生物与制药工程学院; ²皖西中药与天然药物工程技术研究中心, 六安 237012; ³安徽医科大学药学院, 合肥 230032

摘要:在植物分类学方法鉴定的基础上,对霍山石斛及其主要伪品河南石斛药材的性状特征,根、茎、叶横切面显微特征,粉末显微特征和粉末中细胞内含物进行了研究,明确了霍山石斛药用部位的性状特征及显微特征,为霍山石斛药材和饮片的真伪鉴别提供参考依据,为该药材的进一步研究、开发、利用及质量标准的构建提供理论依据。

关键词:霍山石斛;河南石斛;显微特征;真伪鉴定

中图分类号:R931.5

文献标识码:A

DOI:10.16333/j.1001-6880.2016.7.013

Comparative Pharmacognostical Investigation of *Dendrobium huoshanense* and *Dendrobium henanense*

CHEN Nai-Dong^{1,2,3}, JIA Xiao-Yu^{1,2}, CHENG Qi-Bin^{1,2}, XU Meng^{1,2}, LI Jun^{3*}

¹ College of Biotechnology and Pharmaceutical Engineering, West Anhui University; ² West Anhui Biotechnology Research Center of Natural Medicine and Traditional Chinese Medicine, West Anhui University, Lu'an 237012, China; ³ School of Pharmacy, Anhui Medical University, Hefei 230032, China

Abstract: Based on the research of plant taxonomy and botanical investigation, microscopic characteristics of the root, stem, leaf transverse section and powder of *Dendrobium huoshanense* and its main counterfeit *Dendrobium henanense* were studied for identification of the herbs. The research detailed the descriptive identification and microscopic characteristics of the two medicinal *Dendrobiums* and might provide references for the identification of *D. huoshanense* and *D. henanense* as well as a theoretical basis for the further research, development of medicinal use and the upgrading of quality standards.

Key words: *Dendrobium huoshanense*; *Dendrobium henanense*; micromorphological characters; authentication

霍山石斛 (*Dendrobium huoshanense* Tang et Cheng) 属兰科石斛属多年生草本植物,主产于安徽霍山等地,含多糖、生物碱及丰富的微量元素^[1-6],具有生津益胃、抗肿瘤、抗白内障等多种功效^[1],是安徽地道药材之一。由于霍山石斛自然状态下萌芽率低、生长缓慢,加上长期过度采挖,其野生资源已濒临灭绝^[7-9],市价高达 30~40 万元/公斤,导致市场上霍山石斛伪品很多,亟需构建一套方法用于霍山石斛药材鉴定。本实验拟在植物分类学方法鉴定的基础上,对霍山石斛及药材市场上霍山石斛的主要

伪品——河南石斛 (*Dendrobium henanense* J. L. Lu et L. X. Gao) 药材性状特征、根茎叶切面显微特征、粉末显微特征进行初步研究,为霍山石斛的真伪鉴定提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 材料

实验材料均于 2014 年 10 月采自安徽省霍山县太平畈乡,品种经安徽省省级 2011 协同创新中心——霍山石斛产业化开发协同创新中心主任陈乃富教授鉴定为霍山石斛 (*Dendrobium huoshanense* Tang et Cheng, 样本编号 A20141023HS01)、河南石斛 (*Dendrobium henanense* J. L. Lu et L. X. Gao, 样本编号 A20141023HN01)。

1.2 方法

观察记录样品外观性状特征,显微镜观察和记

收稿日期:2015-12-14 接受日期:2016-05-05

基金项目:国家自然科学基金(81274021,81573536);安徽省省级高校自然科学研究重点项目(KJ2016A886);安徽省省级高校自然科学研究重大项目(KJ2015ZD43);安徽省自然科学基金面上项目(1608085MH221);中国博士后研究面上项目(2014M551791);中国博士后基金(第9批)特别资助(2016T90559)

* 通讯作者 E-mail:wxyxend@163.com

录其微观结构与形态特征。目镜放大倍数:5×、10×;物镜放大倍数:4×、10×、40×、100×;图片所示比例尺:10 μm(放大倍数 1000)、20 μm(放大倍数 500)、50 μm(放大倍数 200)、100 μm(放大倍数 100)、200 μm(放大倍数 50)。

1.2.1 组织切片方法

冰冻切片法^[10,11]:取材(根、茎、叶)→FAA液(福尔马林-醋酸-乙醇固定液, Formaldehyde Acetate Alcohol, 简称 FAA)固定 3 h→10%甘油浸泡 20 min→室温放置 3 h→OTC(optimum cutting temperature, 简称 OTC)包埋剂包埋、冷冻→切片(片厚 20~30 μm)→选片、贴片。

1.2.2 染色方法

根切片直接观察,茎、叶切片染色后观察,染色方法为:番红-固绿对染:番红(1.0 g 番红, 100 mL 95%乙醇)染色 4 h→75%乙醇脱水 5 min→80%乙醇脱水 5 min→固绿^[12](0.5 g 固绿, 100 mL 95%乙醇)染色 30 s→100%乙醇脱水 3 min→封片, Olympus BX51WI 及数码成像系统(奥林巴斯中国公司)光学显微镜下观察。

1.2.3 药材粉末制片方法

药材粉碎、过 40 目筛,取适量粉末至于载玻片上,水合氯醛透化,置显微镜下观察,拍摄,记录粉末显微特征及细胞内含物。

2 结果与分析

2.1 外观形态比较

2.1.1 植株的外观性状特征

2.1.1.1 霍山石斛

丛生草本,茎长 3~8 cm,从基部向上逐渐变细,基部上方粗 3~18 mm,不分枝,具 2~6 节,节间长 0.5~0.9 cm,第二、第三节略长,两端节间较短。

叶互生,薄革质,长圆状披针形,长 2~3 cm,宽 5~7 mm,先端钝并且微凹。基部具抱茎叶鞘,叶鞘膜质,宿存。花序顶生,直立,长 3 cm,单花;总苞片 2 枚,苞片卵状,长 3 cm;花萼及花瓣均为白色至绿黄色,唇瓣阔菱形,长与宽均约 11 mm,不明显三裂,裂片半圆形,在靠近侧裂片与中裂片交界处有淡黄色的斑;蕊柱淡绿色,长约 4 mm,具长 7 毫米的蕊柱足;蕊柱足基部黄色,密生长白毛,两侧偶尔具齿突;药帽绿白色,近半球形,长 1.5 毫米,顶端微凹^[13]。

2.1.1.2 河南石斛

丛生草本,茎长 2~8 cm,不分枝,具 2~6 节,茎粗 3~20 mm,节间长 0.6~1.7 cm,第二、第三节略长,两端节间较短。叶互生,近革质,矩圆状披针形,长 1.2~2.5 cm,宽 5~9 mm,先端钝,略钩转。基部具抱茎叶鞘,叶鞘筒状,膜质,抱茎,宿存。花序侧生,单花或双花,苞片卵状三角形,淡白色,萼片与花瓣白色,中萼片矩圆状椭圆形,长 1~1.5 cm,中部宽 3~5 mm,先端尖,侧萼片略短于中萼片,但稍宽,基部与蕊柱足合生成萼囊,萼囊卵状球形,长约 6 mm。花瓣矩圆形,长 10~15 mm,中部宽 3~6 mm,先端急尖,唇瓣摊开后轮廓卵状菱形,长约 1.1 cm,近基部具 1 淡黄色胼胝体,3 裂,侧裂片远较中裂片短,中裂片卵状三角形,被短柔毛,唇盘有 1 紫色斑块,并被柔毛,蕊柱粗短,长约 2 mm,基部延伸为长约 8 mm 的蕊柱足;药帽近球形,子房连柄长 1.2~2.5 cm^[14]。

2.1.2 药材外观性状特征

2.1.2.1 霍山石斛

呈长纺锤形或棒状,皱缩及具纵槽,具 2~5 节,节间较短,约 1.5~3.0 cm,直径 1.5~5 mm,表面黄色或略带金黄色,可见花序柄脱落的瘢痕。质硬脆,易折断,断面平坦,灰白色至灰绿色。气微,味淡,嚼

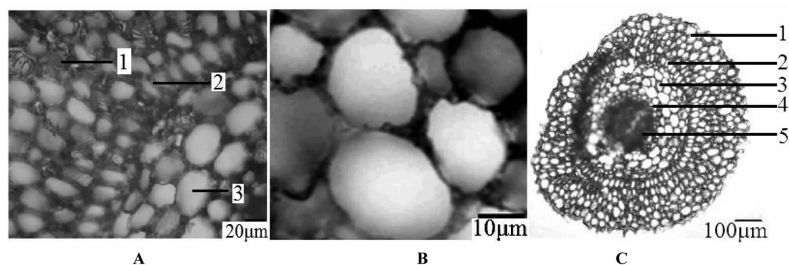


图 1 霍山石斛根横切面

Fig. 1 Transverse section of the root of *D. huoshanense*

A. 根横切面部分图;B. 导管;C. 根横切面详图;1. 根被;2. 外皮层;3. 中皮层;4. 内皮层;5. 中柱

A. part of the transverse section of root;B. vessel;C. transverse section of root;1. velamen;2. epicortex;3. mediopellis;4. endodermis;5. central cylinder

之微有浆粘齿。

2.1.2.2 河南石斛

本品呈长纺锤形或棒状,皱缩及具纵槽,具2~5节,节间较短,约1.5~3.0 cm,直径1.5~5 mm,表面黄色或青绿色,可见花序柄脱落的瘢痕。质硬脆,断面平坦,略具纤维丝。气微,味淡,嚼之微有浆粘齿。

2.2 显微结构比较

2.2.1 根的横切面

2.2.1.1 霍山石斛

呈圆形或近圆形,直径1~2 mm,无根毛,根被8~13层细胞,厚80~200 μm ,细胞呈切向面延长排列,类方形、长六边形等,细胞较大,排列紧密;外

皮层一层细胞,有通道细胞;皮层含6~8层细胞,厚100~150 μm ;内皮层一层细胞,厚壁、薄壁细胞相连;中柱鞘一层细胞,厚壁、薄壁细胞相连;木质部与韧皮部交替分布(图1)。

2.2.1.2 河南石斛

呈圆形或近圆形,直径1~1.5 mm,无根毛,根被4~6层细胞,厚50~100 μm ,细胞呈切面延长排列,为类方形,长六边形等,细胞较大,排列紧密;外皮层一层细胞,细胞较小,多径向延长,类方形,排列紧密,外切向壁稍有加厚,有通道细胞;皮层含6~8层细胞,厚100~150 μm ;内皮层一层细胞,厚壁、薄壁细胞相连;中柱鞘一层细胞,厚壁、薄壁细胞相连;木质部与韧皮部交替分布(图2)。

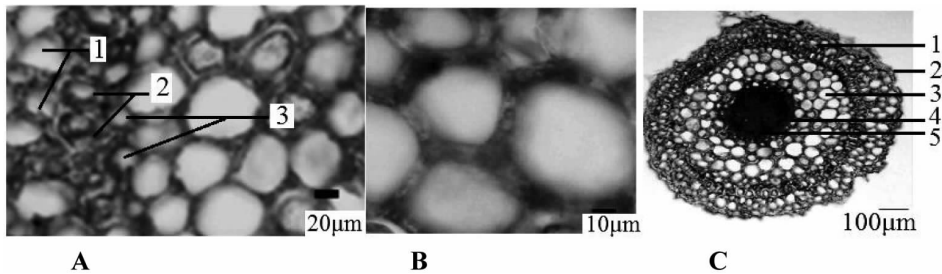


图2 河南霍山石斛根横切面

Fig. 2 Transverse section of the root of *D. henanense*

A. 根横切面部分图;B. 导管;C. 根横切面详图;1. 根被;2. 外皮层;3. 中皮层;4. 内皮层;5. 中柱

A. part of the transverse section of root;B. vessel;C. transverse section of root;1. velamen;2. epicortex;3. cortex;4. endodermis;5. central cylinder

2.2.2 茎横切面

2.2.2.1 霍山石斛

最外层为1列表皮细胞,类圆形或不规则形,大小较基本组织相近,外被深黄色角质层。组织细胞类圆形,形态相似,维管束外韧型,略成3圈。维管

束外韧型,外侧纤维束呈新月形,靠近纤维束有数层排列致密,细胞较小的组织,为韧皮部,韧皮部内侧是细胞排列较为疏松的木质部。有的薄壁组织含有草酸钙结晶(图3)。

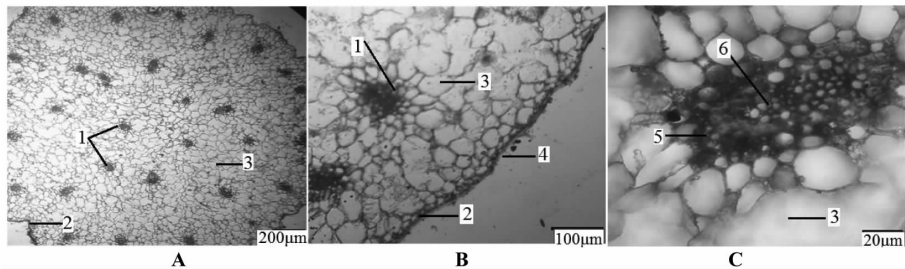


图3 霍山石斛茎横切面

Fig. 3 Transverse section of the stem of *D. huoshanense*

A. 茎横切面部分图;B. 茎表皮部分图;C. 维管束;1. 维管束;2. 表皮;3. 薄壁组织;4. 角质层;5. 韧皮部;6. 木质部

A. part of the transverse section of stem;B. part of epidermis of stem;C. vascular bundle;1. vascular bundle;2. Epidermis;3. parenchymatous tissue;4. stratum corneum;5. phloem;6. Xylem

2.2.2.2 河南石斛

最外层为1列表皮细胞,扁平,较基本组织细胞

小,外被深黄色角质层。基本组织细胞类圆形、多边形、椭圆形,大小相近或悬殊,散布多数外韧型维管

束,略排成3圈。维管束外韧型,外侧纤维束呈帽形 或新月形,有的薄壁细胞含有草酸钙结晶(图4)。

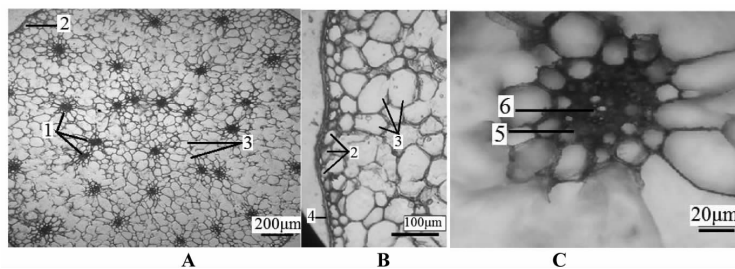


图4 河南石斛茎横切面

Fig. 4 Transverse section of the stem of *D. henanense*

A. 茎横切面部分图;B. 茎表皮部分图;C. 维管束;1. 维管束;2. 表皮;3 薄壁组织;4. 角质层;5. 韧皮部;6. 木质部

A. part of the transverse section of stem;B. part of epidermis of stem;C. vascular bundle;1. vascular bundle;2. epidermis;3. parenchymatous tissue;4. stratum corneum;5. phloem;6. xylem

2.2.3 叶横切面

2.2.3.1 霍山石斛

上下表皮为1列细胞,排列较疏松,叶肉为异面叶型。主脉维管束外韧性,上下细胞1列,切向排

列,外侧纤维束呈新月形。维管束7~10个,维管束鞘以外的叶肉细胞不规则,排列疏松。主脉维管束未见有裂隙(图5)。

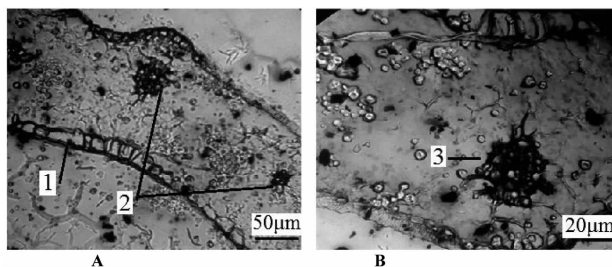


图5 霍山石斛叶横切面

Fig. 5 Transverse section of the leaf of *D. huoshanense*

A. 叶横切面部分图;B. 主脉;1. 表皮;2. 维管束;3. 主脉维管束

A. part of the transverse section of leaf;B. main vein;1. epidermis;2. vascular bundle;3. vascular bundle of main vein

2.2.3.2 河南石斛

上下表皮均为1列细胞,整齐排列,外被角质层,叶肉为异面叶型。栅栏组织1~2列细胞。主脉

表皮上下各1列,切向排列,叶脉维管束6~9个,主脉维管束外韧性,有裂隙。维管束外侧纤维束呈新月形(图6)。

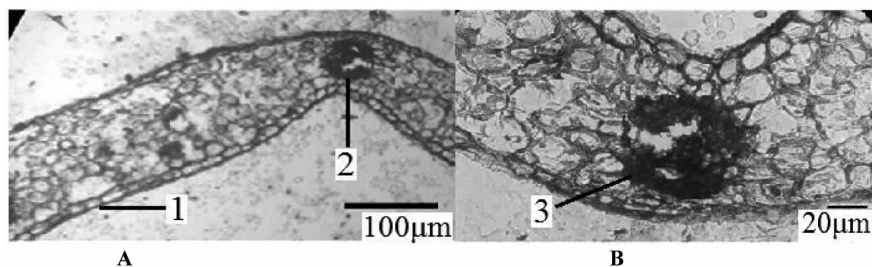


图6 河南石斛叶横切面

Fig. 6 Transverse section of the leaf of *D. henanense*

A. 叶横切面部分图;B. 主脉;1. 表皮;2. 维管束;3. 主脉维管束

A. part of the transverse section of leaf;B. main vein;1. epidermis;2. vascular bundle;3. vascular bundle of main vein

2.2.4 粉末

2.2.4.1 霍山石斛

本品粉末呈黄色。纤维多成束或散在,呈长菱形,直径 $10\sim 20\ \mu\text{m}$,微木化,纹孔少见。纤维束周围薄壁细胞含类圆形硅质块,且排成纵列。表皮细胞长方形或多边形。淀粉粒直径 $2\sim 5\ \mu\text{m}$,长卵形或椭圆形。草酸钙针晶较多,针晶多成束。导管为螺纹,少数为网纹导管。筛管分子平直,端壁复筛板有时夹杂有小型筛域,侧壁小型筛域较小(图7)。

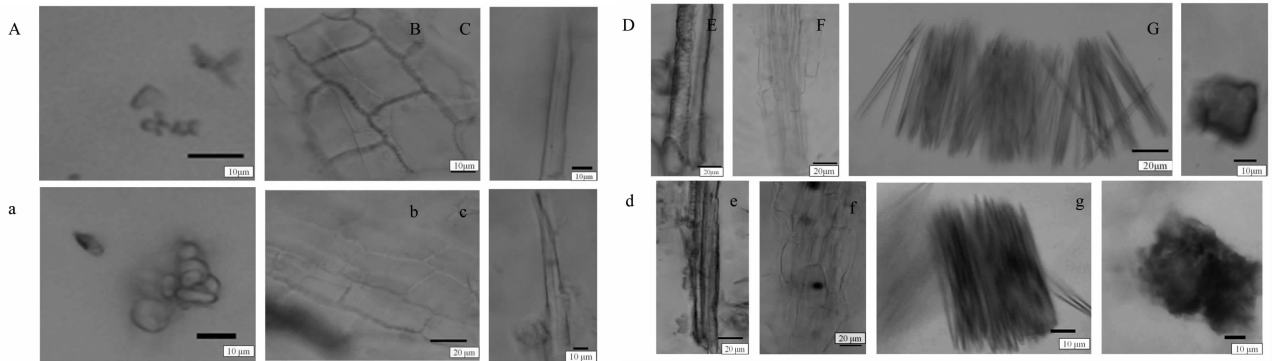


图7 霍山石斛与河南石斛药材粉末显微观察结果

Fig. 7 The microscopic examination of the powder of *D. huoshanense* and *D. henanense*

A, a; 淀粉粒; B, b; 表皮细胞; C, c; 纤维; D, d; 导管; E, e; 筛管; F, f; 草酸钙针晶; G, g; 硅质块

A, a; starch grain; B, b; epidermal cell; C, c; fiber; D, d; vessel; E, e; sieve tube; F, f; calcium oxalate; G, g; Silica block

3 结论与讨论

截止目前,尚没有一套完善的鉴定体系用于霍山石斛的真伪鉴定。河南石斛,因其与霍山石斛在外形上极为相似,成为当前市场上霍山石斛伪品的主要来源,现有的鉴定方法以花瓣中的唇瓣是否具有1紫色斑块作为区分霍山石斛和河南石斛的主要

表1 霍山石斛与河南石斛药材粉末显微特征差异对比

Table 1 The discrimination of the powder between *D. huoshanense* and *D. henanense* by microexamination

	霍山石斛 <i>D. huoshanense</i>	河南石斛 <i>D. henanense</i>
纤维 Fiber	不明显	可见清晰的纤维丝
根被 Velamen	根被较厚(8~13层细胞)	根被较薄(4~6层细胞)
茎维管束横切面 Transverse section of vascular bundle in stem	新月形	帽形
叶脉维管束横切面 Transection of vascular bundle in leaf vein	无裂隙	有裂隙
淀粉粒 Starch grain	多为单粒淀粉	多为复粒淀粉

2.2.4.2 河南石斛

本品粉末呈黄色。纤维多成束或散在,呈长菱形,直径 $10\sim 15\ \mu\text{m}$,微木化,纹孔少见。纤维束周围的薄壁细胞有的含类圆形硅质块。表皮细胞长方形或多边形。淀粉粒直径 $4\sim 7\ \mu\text{m}$,长卵形或椭圆形,多形成复粒。草酸钙针晶较多,针晶多成束。导管为螺纹,少数为网纹导管。筛管分子平直,端壁复筛板有时夹杂有小型筛域,侧壁小型筛域较小(图7)。

依据,对于不在花期的植株或以茎入药的霍山石斛药材,很难将其与河南石斛区分开来,亟需建立霍山石斛的真伪鉴定方法。本实验在植物分类学方法鉴定的基础上,对霍山石斛河南石斛药材的性状特征、根茎叶切面及药材粉末显微特征进行了研究,发现二者在微形态上存在明显差异(表1),这些显微特征可为霍山石斛的真伪鉴定提供参考依据。

参考文献

1 Chen ND(陈乃东), Cheng Y(程艳), Chen NF(陈乃富),

et al. Comparative study on the metal elements in *Dendrobium huoshanense* and *Dendrobium henanense*. *J Anhui Agric Sci* (安徽农业科学), 2015, 43, 316-317.

- 2 Chen ND(陈乃东), Li J(李俊), Jin H(金晖), *et al.* Clearing hydroxyl radicals activity of the alkaloids from *Dendrobium huoshanense* C. Z. Tang et S. J. Cheng detected by on-line HPLC-UV-CL system. *Sci Technol Food Ind* (食品工业科技), 2015, 36:276-280.
- 3 Chen ND(陈乃东), Gao F(高峰), Lin X(林欣), *et al.* Comparative study on alkaloids of tissue-culture seedling and wild plant of *Dendrobium huoshanense*. *J Chin Med Mater*(中药材), 2014, 37:953-956.
- 4 Chen ND, Chen NF, Li J, *et al.* Rapid authentication of different ages of tissue-cultured and wild *Dendrobium huoshanense* as well as wild *Dendrobium henanense* using FTIR and 2D-COS IR. *J Molecul Struc*, 2015, 1101:101-108.
- 5 Chen ND, Chen H, Li J, *et al.* Discrimination and similarity evaluation of tissue-cultured and wild *Dendrobium* species using Fourier transform infrared spectroscopy. *J Molecul Struc*, 2015, 1086:255-265.
- 6 Chen ND(陈乃东), Meng YF(孟云飞), Yao HJ(姚厚军), *et al.* Study on monosaccharide compositions of polysaccharide in *Dendrobium* stems of different resources by PMP-HPCE. *J Chin Med Mater*(中药材), 2015, 38:1608-1611.
- 7 Bao XS(包雪声), Shun QS(顺庆生), Chen LZ(陈立钻). *The Medicinal Plants of Dendrobium* (SHI-HU) in China. Shanghai: Shanghai Medial University Press, 2001. 75.
- 8 Wu HQ(吴胡琦), Luo JP(罗建平). Research advances on *Dendrobium huoshanense*. *Lishizhen Med Mater Med Res* (时珍国医国药), 2010, 21:208-211.
- 9 Zhang WL(张炜玲), Wang XS(王新生), Dai YF(戴亚峰), *et al.* Recent progress in the research of *Dendrobium huoshanense*. *J Anhui Agric Sci*(安徽农业科学), 2010, 38:20661-20663.
- 10 Ning DF(宁代锋), Yin ZF(尹增芳), Zhang Q(张菁), *et al.* A simple and rapid cryo-sectioning method in plant tissue. *J Tropic Subtropic Botany*(热带亚热带植物学报), 2008, 16:386-389.
- 11 Liu JF(刘剑锋), Cheng YQ(程云清), Yan XF(阎秀峰), *et al.* Improvement of plant cryo-sectioning technique. *J Nanjing Forest Univ* (南京林业大学学报), 2006, 30:128-130.
- 12 Gao XY(高行英), Li ML(李梅兰). The factors affecting on regeneration of root tips of Chinese chive. *Molecul Plant Breed*(分子植物育种), 2013, 11:113-118.
- 13 The writing group of flora of China(中国植物志编写组). *The flora of China*. Beijing: Science Press(科学出版社), 1999, 19:118.
- 14 Lu JL(卢炯林), Gao LX(高立献). A new species of *Dendrobium* from Henan, China. *Bull Botan Res* (植物研究), 1990, 10(4):29-31.

~~~~~  
 (上接第 1034 页)

- 7 Chen QT(陈鹄汀), Liu ZQ(刘智勤), Jiang YF(蒋玉凤), *et al.* Experimental study on synergy and attention of Dang-guibuxue decoction to 5-fluorouridine. *J Beijing Univ Tradit Chin Med* (北京中医药大学学报), 2007, 30:757-760.
- 8 Yang JH, Han SJ, Ryu JH, *et al.* Ginsenoside Rh2 ameliorates scopolamine-induced learning deficit in mice. *Biol Pharm Bull*, 2009, 32:1710-1715.
- 9 Shen G(沈干), Jin Y(金钰), Chen DJ(陈德监), *et al.* Study of anti-skin photo aging by ginsenoside Rb1 and salidroside. *J Southeast Univ, Med Sci* (东南大学学报, 医学版), 2010, 29:336-339.
- 10 Gong CM(龚春梅). Clinical observation of Qijiaoshengbai capsule combined with chemotherapy in the treatment of advanced breast cancer. Dalian: Dalian Medical University(大连医科大学), PhD. 2014.