

毛叶和红叶木姜子果实性状特征及显微特征的鉴别^{*}

刘春花^{1,2}, 游景瑞^{1,3}, 陈梅伦若², 李勇军¹, 曹闯³, 兰燕宇¹, 刘亭^{2**}

(1. 贵州医科大学 民族药与中药开发应用教育部工程研究中心 & 省部共建药用植物功效与利用国家重点实验室, 贵州 贵阳 550004;

2. 贵州医科大学 贵州省药物制剂重点实验室, 贵州 贵阳 550004; 3. 贵州医科大学 药学院, 贵州 贵阳 550025)

[摘要] 目的: 鉴别毛叶木姜子和红叶木姜子果实的性状特征和显微特征。方法: 采用性状鉴定方法比较研究毛叶木姜子和红叶木姜子果实的外观形态特征, 采用切片、粉末制片等方法比较毛叶木姜子和红叶木姜子果实的横切面及粉末显微特性。结果: 毛叶木姜子和红叶木姜子果实性状特征相似, 外表面、果皮和子叶等存在差异; 毛叶木姜子中果皮和内果皮细胞周围可见大量的草酸钙方晶, 表面观内果皮细胞之间界限不清晰, 层纹不明显, 有的可见孔沟; 红叶木姜子外果皮含有红棕色物质, 表面观内果皮细胞垂周壁波状弯曲, 层纹明显, 油细胞含有黄色或棕黄色分泌物。结论: 毛叶木姜子和红叶木姜子果实的性状特征和显微鉴别特征能为木姜子的分类和鉴别提供参考依据。

[关键词] 木姜子属; 分类法; 质量控制; 毛叶木姜子; 红叶木姜子; 性状鉴别; 显微鉴别; 粉末制片

[中图分类号] R282.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1000-2707(2019)09-1011-05

DOI: 10.19367/j.cnki.1000-2707.2019.09.004

Characteristics and Microscopic Identification of the Fruits of *Litsea mollis* and *Litsea rubescens*

LIU Chunhua^{1,2}, YOU Jingrui^{1,3}, CHEN Meilunruo², LI Yongjun¹, CAO Chuang³, LAN Yanyu¹, LIU Ting²

(1. State Key Laboratory of Functions and Applications of Medicinal Plants, Engineering Research Center for the Development and Application of Ethnic Medicine and TCM (Ministry of Education), Guizhou Medical University, Guiyang 550004,

Guizhou, China; 2. Guizhou Provincial Key Laboratory of Pharmaceutics, Guizhou Medical University, Guiyang

550004, Guizhou, China; 3. School of Pharmacy, Guizhou Medical University, Guiyang 550025, Guizhou, China)

[Abstract] **Objective:** To study on the macroscopic and microscopic characteristics of fruits of *Litsea mollis* and *Litsea rubescens*. **Methods:** The morphological features of fruits of *L. mollis* and *L. rubescens* were observed by character identification methods. The microscopic characteristics of transverse section and powder of the fruits were studied by microscope. **Results:** The morphological characteristics of fruits of *L. mollis* and *L. rubescens* was similar, but there were differences in the surface, peel and cotyledon. A lot of prisms of calcium oxalate were found around the mesocarp and endocarp cells of *L. mollis*. The boundary between the endocarp cells and laminated striation in endocarp cells of *L. mollis* was not obvious, and some of them had pore grooves. The outer pericarp of *L. rubescens* contained reddish-brown substance, and the circumferential walls of endocarp cells were undulated with obvious lamination, and the oil cells contained yellow or brown-yellow secretion. **Conclusion:** The macroscopic and microscopic characteristics could be applied for the classification and identification of *L. mollis* and *L. rubescens* fruits to provide scientific evidence for the quality control of *L. mollis* and *L. rubescens*.

^{*}[基金项目] 国家自然科学基金项目(81803700, U1812403); 中央引导地方科技专项项目[黔科中引地(2018)4006]; 贵州省科技计划项目[黔科合平台人才(2016)5613, 黔科合平台人才(2016)5677, 黔科合基础(2018)1128, 黔科合平台人才(2017)5718]; 贵州省国家级、省级创新创业训练计划项目(DC201710660006); 贵州省教育厅青年科技人才成长项目[黔教合 KY 字(2017)156]; 贵州省中医药管理局中医药、民族医药科学技术研究项目(QZYY-2018-108)

^{**} 通信作者 E-mail: t-liu@163.com

网络出版时间: 2019-09-16 网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/52.1164.R.20190916.2137.004.html>

[**Key words**] *Litsea*; classification; quality control; *Litsea mollis*; *Litsea rubescens*; character identification; microscopic identification; powder slicing

毛叶木姜子(*Litsea mollis* Hemsl.)和红叶木姜子(*Litsea rubescens* Lec.)均是樟科木姜子属多年生木本植物,是落叶灌木或落叶小乔木,生于山坡灌丛中或常绿阔叶林缘或次生阔叶林中,产于广东、广西、湖南、湖北、四川、贵州、云南、西藏等地^[1],尤其在贵州省资源丰富,民间常将其果实药食两用,均作为木姜子入药^[2]。毛叶木姜子俗称山苍子、香桂子、毕澄茄、木香子^[3],红叶木姜子又名辣姜子、野春桂、鸡油果^[4],二者为同属植物,果实均有温中行气止痛、燥湿健脾消食、解毒消肿的功效^[5],主治胃寒腹痛、暑湿吐泻、食滞饱胀、痛经、疝痛、疟疾及疮疡肿痛等,还能作为调料广泛食用^[6-7]。毛叶木姜子和红叶木姜子的果实均可入药,现代药理学研究发现同科属木姜子植物果实中含有丰富的挥发油类成分,具有显著的抗菌、抗炎和抗氧化等重要的药用价值^[8-12],但其形态相似,难以区分。因此,本文通过对毛叶木姜子和红叶木姜子果实的性状特征和内部显微特征进行研究,旨在为两种中药的鉴别提供科学依据。

1 实验与方法

1.1 药物、主要试剂与仪器

毛叶木姜子和红叶木姜子药材均采集于贵州省,经贵州医科大学中药、民族药标本馆龙庆德副教授鉴定为樟科植物毛叶木姜子(批号 MY20170901, MY20171102, MY20171103, MY20180804, MY20180905, MY20181006)和红叶木姜子(批号 HY20171001, HY20171002, HY20180903, HY20180904, HY201801105,

HY20181106)的果实,植物样本存放于贵州医科大学贵州省药物制剂重点实验室。水合氯醛(批号 20160705),和丙三醇(批号 2014015)购自国药集团化学试剂有限公司,蒸馏水实验室自制。奥林巴斯 CX41 简易偏光显微镜购自奥林巴斯公司,明美 MC-50 显微成像系统购自广州明美光电技术有限公司,WP-MP-II-20 实验室超纯水机购自四川沃特尔水处理设备有限公司,Pro skit PD-153 游标卡尺购自上海宝工工具有限公司。

1.2 方法

1.2.1 性状鉴别 采用游标卡尺对毛叶和红叶木姜子果实的大小进行测量并取平均值,3 批样品,每批 30 个重复;采用看、摸、闻、尝等直观的方法对样品进行形状、色泽、表面、质地、断面和气味的鉴定。

1.2.2 显微鉴别 利用泡沫作为加持物夹住果实进行徒手切片,切取薄片,选择薄片置于载玻片上,滴加甘油醋酸试液或者加水合氯醛试液加热透化,再滴加稀甘油,盖上盖玻片,在显微镜下观察其内部结构;挑取少许粉末(过 4 号筛)置载玻片上,滴加蒸馏水、水合氯醛试液或稀甘油试液等(必要时,加热透化),盖上盖玻片,置显微镜下观察、测量和拍照。

2 结果

2.1 植物的性状特征

毛叶木姜子和红叶木姜子原植物在树皮上斑点、小枝颜色、叶上下面色有无柔毛、花梗上柔毛颜色等方面存在差异,可以作为鉴别的依据,见表 1。

表 1 毛叶木姜子和红叶木姜子不同部位植物性状比较

Tab.1 Comparison of the botany character between the *L. mollis* and *L. rubescens*

部位	毛叶木姜子	红叶木姜子
树皮	绿色,光滑,有黑斑	黄绿色
小枝	灰褐色,有柔毛	嫩时红色,无柔毛
顶芽	鳞片外有柔毛	鳞片外无柔毛或仅上部有稀疏的短柔毛
叶	基部楔形,纸质,上面暗绿色无毛,下面绿苍白色有白色柔毛,叶柄有白色柔毛	椭圆形,膜质,上下面均为绿色无毛,中脉红色两面突起,叶柄红色无毛
花	花序梗有白色白色短柔毛,花丝有柔毛,第 3 基部退化后雄蕊消失	花序梗无毛,花梗灰黄色柔毛,花丝短且无毛,第 3 基部退化后有纤细的雄蕊

2.2 果实的性状特征

比较发现,二者的性状特征整体相似,在颜色、大小、表面皱纹和质地等方面存在差异,可以作为鉴别的依据。见图 1、表 2。

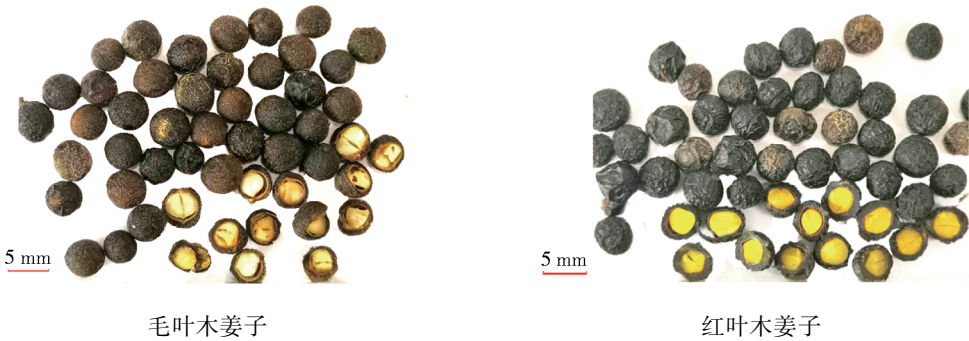


图 1 毛叶木姜子果实和红叶木姜子果实的外观性状对比

Fig. 1 Comparison of appearance and characters between the fruits of *L. mollis* and *L. rubescens*

表 2 毛叶木姜子果实和红叶木姜子果实性状比较

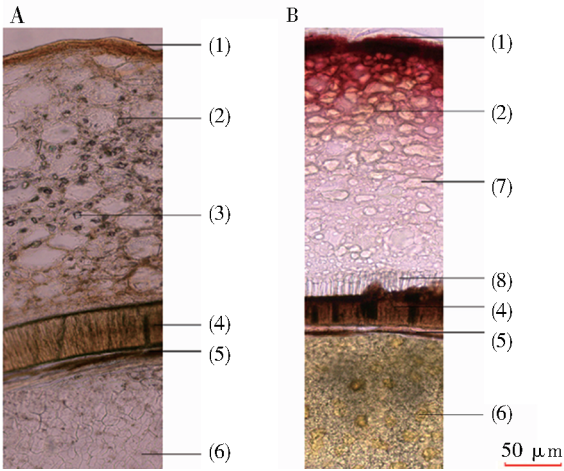
Tab. 2 Comparison of fruit characters between <i>L. mollis</i> and <i>L. rubescens</i>		
鉴别内容	毛叶木姜子	红叶木姜子
大小	直径 4~8 mm	直径 4~6 mm
表面特征	外表面黑棕色至黑褐色,具浅网状皱纹	外表面观深棕色至褐黑色,具深网状皱纹
外、中果皮特征	黑褐色,质地紧实,不易剥落	黑褐色,质地疏松,易剥落
内果皮特征	表面黑棕色,质地坚硬而脆,有光泽	表面褐黑色,质地脆,无光泽
子叶特征	淡黄色	黄色

2.3 果实的横切面显微特征

毛叶木姜子横切面特征结构显示,外果皮为单列扁平形细胞;中果皮薄壁细胞十余列,呈类圆形或类方形,浅棕色,大量的草酸钙方晶散在;内果皮为单列壁厚细胞,棕色,排列成栅栏状;种皮细胞单层;子叶细胞为类方形、类圆形薄壁细胞,含油滴和糊粉粒,见图 2A。红叶木姜子横切面特征结构显示,外果皮为单列细胞扁平形细胞,有的内含棕红色物质;中果皮薄壁细胞十余列,呈类圆形或类方形,棕红色,油细胞丰富,靠近外果皮侧颜色较深,靠近内果皮侧含有长柱形的细胞环带,排列成栅状;内果皮为单列壁厚细胞,棕褐色,排列成栅栏状;种皮细胞单层;子叶细胞为类方形、类圆形薄壁细胞,含丰富的棕黄色油滴,见图 2B。

2.4 粉末的显微特征比较

毛叶木姜子粉末深棕色,外果皮细胞呈多角形,棕色,壁薄;中果皮细胞呈类圆形或类方形,棕色,壁较厚;内果皮细胞表面观扁平形或不规则形状,细胞之间界限不清晰,壁极厚,胞腔小,层纹不明显,有的可见孔沟,有的可见大量的草酸钙方晶;内果皮细胞断面观排列成栅栏状,长 230~360 μm,有的胞腔内含草酸钙方晶;种皮细胞呈不规则多角形或类方形,壁网状增厚,表面密布网状纹理;草酸



注:A 为毛叶木姜子,B 为红叶木姜子;(1)外果皮,(2)中果皮,(3)草酸钙方晶,(4)内果皮栅状细胞,(5)种皮,(6)子叶,(7)油细胞,(8)中果皮栅状细胞层。

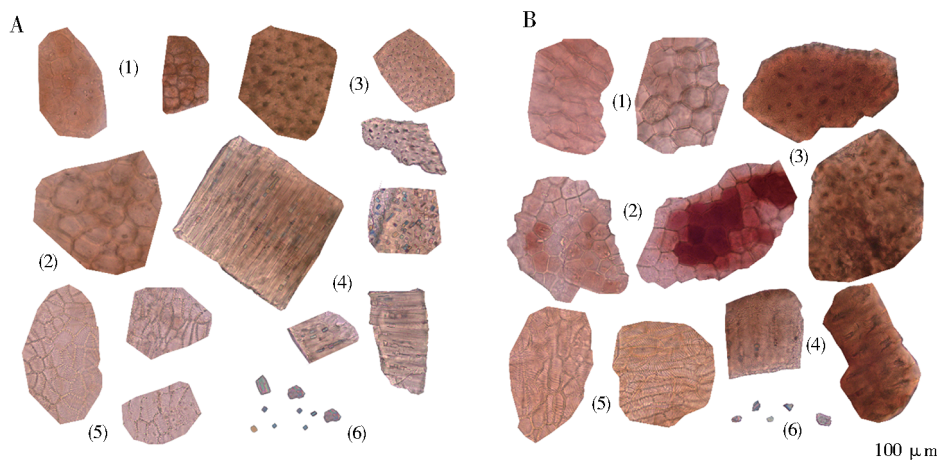
图 2 毛叶木姜子和红叶木姜子横切面显微特征(10×10)

Fig. 2 Microscopic features of transverse section of *L. mollis* and *L. rubescens* fruits

钙方晶散在,直径为 5~16 μm;子叶细胞含油滴和糊粉粒,但是在全药材粉碎的样品中不易观察到完整的特征,可能由于该组织容易粉碎而被破坏,见

图 3A。红叶木姜子粉末棕褐色,外果皮细胞呈多角形,壁薄,有的内含棕红色物质;中果皮细胞呈类圆形或类方形,棕色,壁稍厚;内果皮细胞呈不规则形状,垂周壁波状弯曲,壁极厚,层纹明显,胞腔小;内果皮栅状细胞长柱形,长 190 ~ 224 μm ,壁厚,有的包腔内含草酸钙方晶;种皮细胞呈不规则多角形

或类方形,壁网状增厚,表面密布网状纹理;草酸钙方晶单个散在,直径为 10 ~ 25 μm ;子叶细胞含脂肪油滴及糊粉粒,油细胞含棕黄色分泌物,但是在全药材粉碎的样品中也不易观察到完整的特征,可能由于该组织容易粉碎而被破坏,见图 3B。



注:A 为毛叶木姜子,B 为红叶木姜子;(1)外果皮细胞,(2)中果皮细胞,(3)内果皮细胞(表面观),
(4)内果皮栅状细胞(断面观),(5)种皮细胞,(6)草酸钙方晶。

图 3 毛叶木姜子粉末和红叶木姜子粉末显微特征($\times 40$)

Fig. 3 Microscopic features of powder of *L. mollis* and *L. rubescens* fruits

3 讨论

毛叶木姜子和红叶木姜子虽然在原植物性状上有明显区别,但因其药用部位为果实,难以见到原植物,因此研究毛叶和红叶木姜子果实的形状特征和显微特征具有很重要的意义。然而,毛叶木姜子和红叶木姜子果实外观形状非常相似,难以区分,经常存在来源混淆的情况,所以本文主要对毛叶木姜子和红叶木姜子的果实鉴别进行研究。中药鉴定是中药应用和研究的基本工作,其中性状鉴定是传统鉴定方法中的重要手段,是我国中医工作者长期经验积累的总结,该鉴定方法简单、快速、易行,意义重大^[13-14],因此采用该方法对毛叶和红叶木姜子进行性状鉴定。毛叶木姜子和红叶木姜子性状和显微特征都非常相似,但其大小、颜色、表面网状皱纹深浅、果皮质地和胚乳的颜色等方面存在差异,如毛叶木姜子的果实比红叶木姜子稍大,颜色偏浅,外表面网状皱纹较浅,外、中果皮质地结实,不易与内果皮剥离,内果皮颜色较浅,胚乳颜色也偏浅,红叶木姜子的特征与此相反,均可作为鉴别毛叶木姜子和红叶木姜子的依据。中药显微鉴

定是利用显微技术确定中药品种和质量的一种鉴定方法,是目前中药材鉴别的主要方法之一^[15]。中药显微制片技术是中药显微鉴定的最重要环节之一^[16-17]。本研究对横切面制片方法进行了摸索和优化,考察了用不同加持物(如胡萝卜、马铃薯和泡沫等)夹住果实进行徒手切片,也考察了是否软化果实而进行切片的方法,最终利用泡沫作为加持物成功切制了切片,并制备了横切面的临时装片。由于红叶木姜子外、中果皮质地较疏松,切片时容易与内果皮脱落,因此在操作时需勤加练习,才能切取较薄的切片。经横切面显微鉴别研究发现,毛叶木姜子和红叶木姜子的内部构造整体结构相近,但中果皮薄壁细胞中草酸钙方晶,内果皮的结构,油细胞颜色等存在差异,可以作为鉴别依据。通过粉末的显微鉴别发现,红叶木姜子外果皮含有红棕色物质;毛叶木姜子中果皮细胞和内果皮周围可见大量的草酸钙方晶,内果皮细胞之间界限不清晰,层纹不明显,有的可见孔沟,而红叶木姜子中果皮未见草酸钙方晶,内果皮细胞垂周壁波状弯曲,层纹明显,可见含草酸钙方晶;毛叶木姜子内果皮栅状细胞比红叶木姜子内果皮细胞长;红叶木姜子油细胞含有黄色或棕黄色分泌物,毛叶木姜子中油

状物颜色较浅。以上这些显微特征均可作为鉴别参考。

综上所述,毛叶木姜子和红叶木姜子果实的外观形状特征和显微鉴别特征能为药用木姜子的分类和鉴别提供参考依据。

4 参考文献

[1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志[M]. 北京:北京科学出版社, 1982.

[2] 陆小鸿. “消寒止痛”木姜子[J]. 广西林业, 2017, (5):20.

[3] 肖正春,张广伦,张卫明. 山苍子民族植物学的初步研究[J]. 中国野生植物资源, 2014,33(4):34-35;71.

[4] 万军,邓浩,周永丽,等. 毛叶木姜子扦插繁殖试验研究[J]. 四川林业科技, 2014,(6):81-83.

[5] 罗艺萍,赵兴堂,王丽,等. 红叶木姜子皮的化学成分研究[J]. 中草药, 2010,(8):1258-1260.

[6] 罗君,朱迪,廖秀,等. 基于苗药“鲜用理论”的大果木姜子挥发油成分对比研究[J]. 时珍国医国药, 2019,30(3):574-576.

[7] 贵州省药品监督管理局. 贵州省中药材、民族药材质量标准[M]. 贵阳:贵州科技出版社, 2003.

[8] 黄志伟,曹剑,李华,等. 重庆市万州区毛叶木姜子产业发展 SWOT 分析与对策研究[J]. 中国林副特产, 2018(4):80-82;86.

[9] 李娜,李鑫,祝子坪,等. 舟山新木姜子挥发性成分的季节性变化及抑菌、抗氧化效果研究[J]. 林业科技, 2018,43(5):12-15.

[10] 项昭保,陈海生,夏晨燕,等. 木姜子挥发油的化学成分及抑菌活性研究[J]. 中成药, 2008, 30(10):1514-1516.

[11] 罗耀玲,黄铀新,杨建琼,等. 木姜子乙醇提取物对肝癌细胞侵袭和迁移能力的影响及机制初探[J]. 中国医院药学杂志, 2017,37(9):839-842.

[12] 喻阿坤,王文,胡茵,等. 山苍子精油与右旋龙脑协同抗菌抗氧化作用[J]. 食品科技, 2019,44(5):286-291.

[13] 朱昌丰,曾枝东. 鉴别中药饮片真伪的意义与方法[J]. 北方药学, 2019,(2):10-11.

[14] 胡妮娜,田淑琴,于景伟,等. 传统中药鉴定方法的研究发展概况[J]. 中医药信息, 2008, 25(3):15-18.

[15] 安丽敏,安丽华. 中药显微鉴定常用制片方法概述[J]. 哈尔滨医药, 2016,36(1):78-79.

[16] 朱慧,马瑞君,吴清韩,等. 徒手切片夹持物的改进方法[J]. 生物学教学, 2012,37(4):68.

[17] 雷忠萍,贺道华,曹翠兰. 中药显微鉴定常见的几种制片方法[J]. 安徽农业科学, 2011,39(4):1922-1924.

(2019-06-08 收稿,2019-08-31 修回)
中文编辑:严征;英文编辑:丁廷森

(上接第 1010 页)

[15] WU W, WANG L, LIU Y, et al. Site-specific DNA methylation detection based on enzyme-linked immunosorbent assay using recombinant methy-CpG binding protein [J]. Clinical Chemistry & Laboratory Medicine, 2018,56(7):164-166.

[16] AVRAMEAS S J. Coupling of enzymes to proteins with glutaraldehyde. Use of the conjugates for the detection of antigens and antibodies [J]. Immunochemistry, 1969,6(1):43-52.

[17] SAIKANT R, SHILPA R, VIJAYAN A L, et al. Effect of lyophilization on HRP-antibody conjugation; an enhanced antibody labeling technology [J]. BMC Research Notes, 2018,11(1):596-601.

[18] POVEDANO E, VARGAS E, MONTIEL, et al. Electrochemical affinity biosensors for fast detection of gene-specific methylations with no need for bisulfite and amplification treatments [J]. Scientific Reports, 2018,8(1):6418-6423.

[19] GAO F, FAN T, OU S, et al. Highly efficient electrochemical sensing platform for sensitive detection DNA

methylation, and methyltransferase activity based on Ag-NPs decorated carbon nanocubes [J]. Biosensors and Bioelectronics, 2018,99:201-208.

[20] DU Q, LUU P L, STIRZAKER C, et al. Methyl-CpG-binding domain proteins: readers of the epigenome [J]. Epigenomics, 2015,7(6):1051-1073.

[21] YIN H, ZHOU Y, XU Z, et al. Ultrasensitive electrochemical immunoassay for DNA methyltransferase activity and inhibitor screening based on methyl binding domain protein of MeCP2 and enzymatic signal amplification [J]. Biosensors and Bioelectronics, 2013,49(35):39-45.

[22] LIU P, LIU M, YIN H, et al. Electrochemical biosensor for DNA methyltransferase detection based on DpnI digestion triggering the formation of G-quadruplex DNazymes [J]. Sensors and Actuators B:Chemical, 2015,220:101-106.

[23] KOO K M, WEE E J H, RAUF S, et al. Microdevices for detecting locus-specific DNA methylation at CpG resolution [J]. Biosensors and Bioelectronics, 2014,56:278-285.

(2019-05-16 收稿,2019-08-29 修回)
中文编辑:吴昌学;英文编辑:张启芳