

怀地黄不同主栽品种叶形态特征比较

李建军^{1*}, 王莹¹, 贾国伦¹, 徐玉隔¹, 朱命炜¹, 周延清¹, 张重义²

(1. 河南师范大学 生命科学学院 河南省高校道地中药材保育及
利用工程技术研究中心, 河南 新乡 453007;
2. 河南农业大学 中药材研究所, 河南 郑州 450002)

[摘要] 目的:通过观察怀地黄不同主栽品种叶的形状,非腺毛和气孔器大小、密度等特征,为怀地黄主栽品种的鉴定及优良品种的选育提供依据。方法:用直尺测量叶片的长度和宽度,在扫描电镜下计数不同主栽品种怀地黄叶表面非腺毛和气孔的密度,测量其长度。结果:叶片长度、宽度及长宽比,非腺毛和气孔的长度、密度等,在怀地黄不同主栽品种间具有差异。结论:叶的形状,非腺毛和气孔的密度、长度等叶的形态特征可以作为怀地黄不同品种间鉴别的依据。

[关键词] 怀地黄; 主栽品种; 叶片; 形态

地黄 *Rehmannia glutinosa* Libosch 为玄参科多年生草本植物, 以干燥的块根入药, 为大宗中药材^[1-2]。地黄品种众多, 分布广泛, 以河南古怀庆府产者最佳, 栽培历史最长, 为道地产区, 系著名“四大怀药”之一^[3]。目前, 怀地黄主栽品种 85-5, 北京 1 号和北京 3 号是经过杂交选育出来的, 生津、沁怀、怀地 1 号、怀地 2 号和怀地 3 号是通过系统选育出来的。为了寻找怀地黄栽培品种划分的方法和依据, 本文以怀地黄 8 个主栽品种叶为材料, 对地黄叶的形态、非腺毛及气孔等特征进行了观察研究、统计与分析, 为怀地黄品种的鉴别和新品种选育提供参考依据^[4-5]。

1 材料

材料采自河南封丘地黄资源圃中 8 个怀地黄主栽品种, 种载栽种 120 d, 每个主栽品种随机选取 10 株观察测量, 每株选取自中间第 1 片展开叶向外数第 3 层完整的成熟叶, 每株选取 3 片叶观察测量。样品经河南师范大学李发启副教授鉴定均为怀地黄 *R. glutinosa*。

2 方法

用直尺测量叶片的长度、宽度并计算长宽

比。随机取成熟地黄叶 6 片经清洗后, 切取中部约 5 mm × 10 mm 的叶片, 经 2.5% 戊二醛固定 24 h; 用 30%, 50%, 70%, 80%, 90% 的乙醇各脱水 1 min; 100% 乙醇脱水 2 次, 每次 1 min; 后经乙酸异戊酯处理 1 min, 快速放入常规临界点干燥, 粘托后再将此样品台放 SCB-2 试样处理机上(10 Pa, 低真空 30 min) 真空喷金, 最后在 KYKY-EM3200 型数字化扫描电子显微镜下观察并拍照。每个品种重复 3 × 2 次, 每次随机选取 5 个视野测非腺毛及气孔数据, 所得的数据经 SPSS 统计分析。

3 结果与分析

3.1 不同主栽品种怀地黄叶的形态比较

观察怀地黄叶的形态, 用直尺测量叶片的长度和宽度并计算长宽比, 观察统计数据见表 1, 2。

根据表 2 可知, 不同主栽品种怀地黄叶的长度在 11.31 ~ 16.13 cm, 宽度 5.59 ~ 7.04 cm。其中长以样品 7 号怀地 2 号最大, 宽以 6 号怀地 1 号最大, 长和宽以样品 3 号生津最小。按照叶长分析 5 号沁怀与 85-5、北京 1 号和生津差异极显著, 与其他品种差异不显著; 按照叶宽分析 5 号沁怀与 85-5 差异显著, 与生津和怀地 2 号差异极显著, 与其他品种差异不显著。依据 8 个样品叶长和叶宽差异分析, 可将叶分为 3 种类型, 分别为大型叶(北京 3 号、沁怀、怀地 1 号和怀地 3 号); 中型叶(怀地 2 号); 小型叶(85-5、北京 1 号和生津)。因此, 叶片的大小可以作为怀地黄品种鉴别的依据之一。

[稿件编号] 20111220015

[基金项目] 国家“十一五”科技支撑计划项目(2006BRI06R12-06); 河南省教育厅自然科学研究计划项目(2009B180012); 河南省重点科技攻关项目(122102310283); 河南省教育厅科学技术研究重点项目(12B180010)

[通信作者] * 李建军, 硕士生导师, 主要研究方向为药用植物资源及育种研究, Tel:(0373)3329102, E-mail:043081@htu.cn

表1 8个怀地黄不同主栽品种生境及叶片的形态特征

Table 1 Eight different cultivars of *Rehmannia glutinosa* and its leaf morphological characteristics

No.	品种名	生境	叶颜色	叶形	叶边缘
1	85-5	两合土	墨绿	近椭圆形,叶子勺状,两边翘起	锯齿
2	北京1号	两合土	绿	椭圆形,两边翘起	波浪
3	生津	两合土	绿	椭圆形,叶子勺状,两边翘起	波浪
4	北京3号	两合土	墨绿	近椭圆形,底部仰起	波浪
5	沁怀	两合土	墨绿	长椭圆形,叶子勺状,两边翘起	锯齿
6	怀地1号	两合土	绿	近椭圆形,两边翘起	波浪
7	怀地2号	两合土	绿	延长的长椭圆形,两边翘起	波浪
8	怀地3号	两合土	墨绿	长椭圆形,两边翘起	波浪

表2 8个怀地黄不同主栽品种叶片的大小($\bar{x} \pm s, n = 30$)Table 2 The leaf sizes of eight different cultivars of *Rehmannia glutinosa* ($\bar{x} \pm s, n = 30$)

No.	品种名	长度/cm	宽度/cm	长/宽
1	85-5	13.07 ± 2.05bcBC	6.1 ± 0.89bcdAB	2.14 ± 0.14bcBC
2	北京1号	13.02 ± 1.99cBC	6.53 ± 1.15abcAB	2.0 ± 0.16cC
3	生津	11.31 ± 2.19dC	5.59 ± 1.3dB	2.05 ± 0.37cBC
4	北京3号	14.89 ± 1.17aAB	6.91 ± 0.66aA	2.17 ± 0.25bcBC
5	沁怀	16.04 ± 2.05aA	6.98 ± 0.67aA	2.3 ± 0.21bB
6	怀地1号	14.67 ± 3.22abAB	7.04 ± 1.18aA	2.07 ± 0.23cBC
7	怀地2号	16.13 ± 2.24aA	5.85 ± 1.12cdB	2.8 ± 0.46aA
8	怀地3号	15.77 ± 2.55aA	6.87 ± 1.46abA	2.32 ± 0.26bB

注:同一列大、小写字母分别表示差异达0.01,0.05显著水平(表3,4同)。

怀地黄品种叶的长宽比可直接反映地黄叶片的形状,其值在2.0~2.8。其中以样品7怀地2号最大,样品2北京1号最小。样品2北京1号与样品5,7,8号差异极显著,与其他样品差异不显著。样品2北京1号和样品3号生津叶片呈椭圆形,样品1,4,6号呈近椭圆形,样品5和8号呈长椭圆形,样品7怀地2号叶片是延长的长椭圆形,与其他品种差异极显著。样品的形态与数字化的研究结果一致。因此叶的长宽比可以作为地黄品种鉴别的依据之一。

根据叶的颜色可以将地黄品种划分为墨绿色和绿色2种;根据叶边缘的形状可以将地黄品种划分为锯齿形和波浪形2种。怀地黄叶的颜色和叶边缘的形状也可以作为怀地黄品种鉴别的参考依据。

3.2 不同主栽品种怀地黄叶气孔形态的比较

3.2.1 不同主栽品种地黄叶上表皮气孔形态及比较 观察统计结果表明,不同怀地黄主栽品种气孔器分布密度有差异,其上表皮气孔器测量数值见表3、图1。

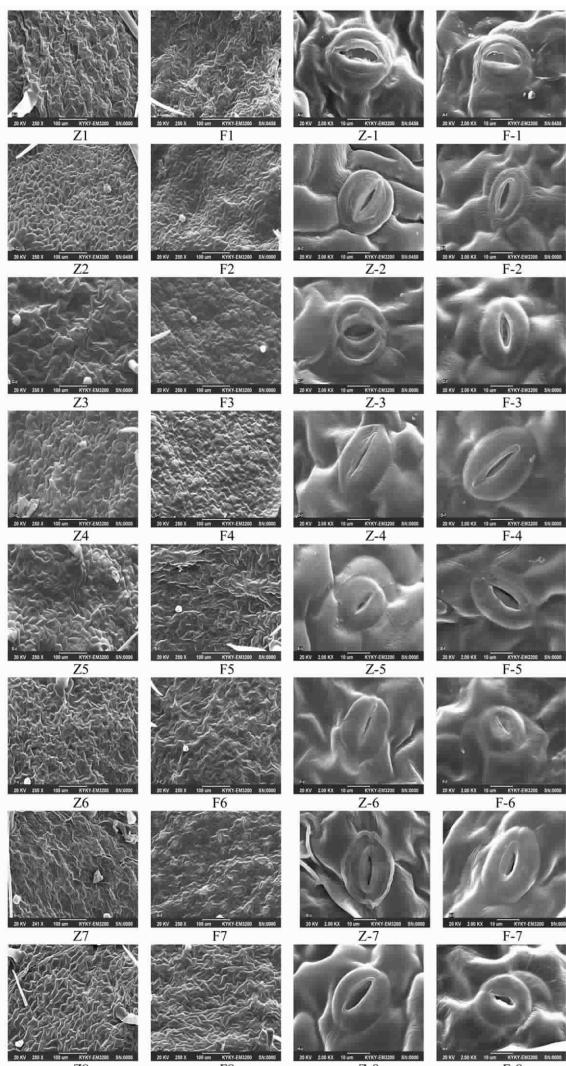
根据表3可知,怀地黄品种叶上表皮气孔器的长宽比可直接反映地黄气孔器的形状,其值在1.0~1.48。其中以样品4北京3号最大,样品2北京1号最小。样品2北京1号与样品4,6,8号差异极显著,与样品1,7差异显著,与其他样品差异不显著。样品2号、3号和5号气孔器呈近圆形,样品1和7号呈椭圆形,样品4,6,8号呈长椭圆形。样品的形态与数字化的研究结果一致。因气孔开闭受内外因素影响较大,所以叶片气孔器的形状仅可作为地黄品种鉴别的参考。

怀地黄叶上表皮气孔器的长度在22.63~29.72 μm,宽度20.43~22.67 μm。其中长以样品4北京3号最大,样品2北京1号最小,宽以样品5沁怀最大,样品4北京3号最小。按照气孔器长分析样品4北京3号与北京1号和生津差异极显著,与其他品种差异不显著;按照气孔器宽分析样品4北京3号与其他品种差异不显著。因此,叶片气孔器的长可以作为怀地黄品种鉴别的参考依据。

表3 不同怀地黄主栽品种上表皮气孔密度及极轴长、赤道轴长($\bar{x} \pm s, n=30$)

Table 3 The stomatal density, polar axis length and equatorial axes length on the upper epidermis of different cultivars of *Rehmannia glutinosa* ($\bar{x} \pm s, n=30$)

No.	品种名	正面气孔器				形状
		长度/ μm	宽度/ μm	长/宽	密度/个/ mm^2	
1	85-5	28.59 \pm 1.1abAB	22.82 \pm 1.9aA	1.25 \pm 0.11bABC	77 \pm 20dE	椭圆
2	北京1号	25.13 \pm 2.7cC	23.73 \pm 2.3aA	1.06 \pm 0.04cC	238 \pm 67.8abABC	近圆
3	生津	25.81 \pm 1.7bcBC	22.74 \pm 1.8aA	1.14 \pm 0.13bcBC	253 \pm 26.3aAB	椭圆
4	北京3号	31.22 \pm 2.5aA	21.53 \pm 1.7aA	1.45 \pm 0.18aA	231 \pm 31.8abABC	长椭圆
5	沁怀	28.6 \pm 2.6abAB	23.77 \pm 1.1aA	1.2 \pm 0.07bcBC	180 \pm 17.2cCD	椭圆
6	怀地1号	30.45 \pm 1.2aA	23.27 \pm 1.6aA	1.3 \pm 0.13abAB	127 \pm 23.6dDE	长椭圆
7	怀地2号	29.38 \pm 1.2aAB	23.69 \pm 1.2aA	1.24 \pm 0.05bABC	270 \pm 25.1aA	近圆
8	怀地3号	31.05 \pm 1.9aA	23.65 \pm 1.2aA	1.31 \pm 0.03abAB	186 \pm 34.7bcBC	长椭圆



样品编号同表1; Z1 ~ Z3, F1 ~ F8. $\times 250$; Z4 ~ Z-8, F4 ~ F-8. $\times 2000$ 。

图1 不同品种怀地黄叶片气孔器形态(Z. 正面; F. 反面)

Fig. 1 The leaf stomatal morphologies of different cultivars of *Rehmannia glutinosa* (Z. positive; F. negative)

根据表3可知,8个样品上表面的气孔密度在77~270个/ mm^2 ,其中样品1号85-5气孔密度最小,样品7号怀地3号气孔密度最大。样品1号与样品6号差异不显著,与其他样品差异极显著;样品7号与样品2,3,4号差异不显著,与其他差异极显著。根据8个样品气孔密度分析,可分为低密度(85-5,怀地1号),中密度(沁怀、怀地3号),高密度(北京1号,生津,北京3号,怀地2号)3种类型。由此可见,气孔的密度可以作为鉴别地黄品种的依据之一。

3.2.2 不同主栽品种地黄叶下表皮气孔形态及比较 对地黄叶进行研究发现地黄叶气孔上下表皮皆有,上下表皮密度不同,上表皮较稀疏,下表皮气孔排列密集。下表皮观察统计结果见表4、图1。

根据表4可知,怀地黄品种叶下表皮气孔器的长宽比可直接反映地黄气孔器的形状,其值在1.12~1.41。其中以样品5沁怀最大,样品7怀地2号最小。样品5与其他品种差异极显著,样品7怀地2号与样品5差异极显著,与样品1,2,8差异显著,与其他样品差异不显著。样品3,4,6,7气孔器呈近圆形,样品1,2,8号呈椭圆形,样品5呈长椭圆形。样品的形态与数字化的研究结果一致。因气孔开闭受内外因素影响较大,所以叶片气孔器的形状仅可作为地黄品种鉴别的参考。

怀地黄叶下表皮气孔器的长度在19.49~28.3 μm ,宽度16.88~23.08 μm 。其中长以样品5号沁怀最大,怀地1号最小,宽以样品1号85-5最小,怀地2号最大。按照气孔器长分析样品7怀地2号与怀地1号差异极显著,与其他品种差异不显著;按照气孔器宽分析7号怀地2号与样品1号、2号和6号

表4 不同怀地黄主栽品种下表皮气孔密度及极轴长、赤道轴长($\bar{x} \pm s, n=30$)

Table 4 The stomatal density, polar axis length and equatorial axes length on the lower epidermis of different cultivars of *Rehmannia glutinosa* ($\bar{x} \pm s, n=30$)

No.	品种名	反面气孔器				形状
		长度/ μm	宽度/ μm	长/宽	密度个/ mm^2	
1	85-5	24.64 \pm 2.1bcAB	17.98 \pm 2.7cC	1.48 \pm 0.02aAB	92 \pm 16.4dD	椭圆
2	北京1号	26.07 \pm 2.9abAB	19.5 \pm 3.2bcBC	1.34 \pm 0.05aAB	260 \pm 35.4bB	椭圆
3	生津	28.53 \pm 1.4abA	23.54 \pm 0.9abA	1.21 \pm 0.04abAB	264 \pm 20.6bB	近圆
4	北京3号	28.34 \pm 3.3abaA	22.11 \pm 3.0abcAB	1.28 \pm 0.07abAB	269 \pm 13.5bB	近圆
5	沁怀	29.8 \pm 3.1aA	21.23 \pm 0.3abcABC	1.4 \pm 0.09aA	202 \pm 13.8cC	长椭圆
6	怀地1号	20.89 \pm 1.5cB	18.26 \pm 1.2cC	1.14 \pm 0.04abAB	131 \pm 9.1dD	近圆
7	怀地2号	27.22 \pm 3.7abA	24.18 \pm 2.7aA	1.13 \pm 0.11bB	313 \pm 13.5aA	近圆
8	怀地3号	28.53 \pm 1.1abA	21.08 \pm 2.3abcABC	1.35 \pm 0.14aAB	191 \pm 21.3cC	近椭圆

差异极显著。因此,叶片气孔器的大小可以作为怀地黄品种鉴别的参考依据。

根据表4可知,8个样品下表面的气孔密度在92~313个/ mm^2 ,其中样品1号85-5气孔密度最小,样品7怀地2号气孔密度最大。样品1号与6号差异不显著,与其他样品差异极显著;样品7号与其他样品差异显著;样品3号与样品2,4号差异不显著,与其他样品差异显著。根据8个样品气孔密度分析,可分为低密度(85-5,怀地1号),中密度

(沁怀、怀地3号),高密度(生津、北京1号、北京3号,怀地2号)3种类型。由此可见,气孔的密度可以作为鉴别地黄品种的依据之一。

3.3 不同主栽品种怀地黄叶的非腺毛比较

怀地黄上、下表皮均分布有许多非腺毛,非腺毛为多细胞线状毛,非腺毛具有保护和减少水分蒸发的作用,其分布的长度、密度在不同主栽品种间存在着一定的差异。不同怀地黄主栽品种上下表皮非腺毛长度和分布密度,电镜下观察统计结果见表5、图2。

表5 不同怀地黄主栽品种叶片上下表皮非腺毛长度和密度($\bar{x} \pm s, n=30$)

Table 5 The non-glandular hair length and density on the upper and lower leaf epidermis of different cultivars of *Rehmannia glutinosa* ($\bar{x} \pm s, n=30$)

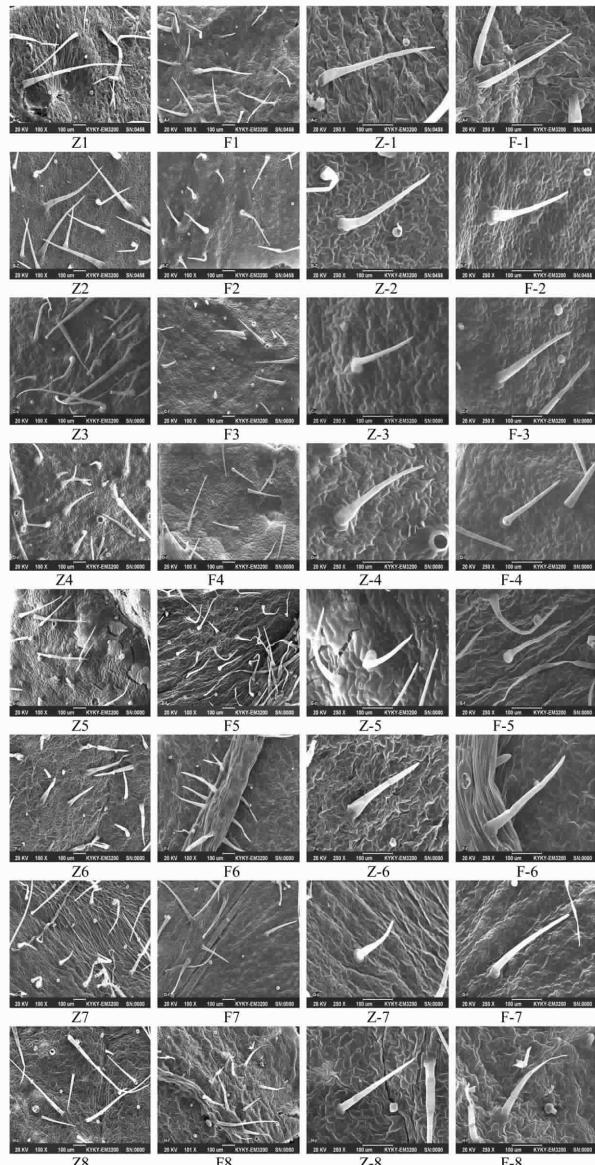
No.	品种名	上表皮叶片中段		下表皮叶片中段	
		长度/ μm	密度个/ mm^2	长度/ μm	密度个/ mm^2
1	85-5	533.34 \pm 125.5aA	13 \pm 2.3dD	284.21 \pm 147.75abA	13 \pm 1.08cC
2	北京1号	414.5 \pm 99.4abA	17 \pm 2.3eCD	244.24 \pm 32.2abA	12 \pm 1.58eC
3	生津	323.5 \pm 117.4abA	28 \pm 0.01aA	447 \pm 176.2aA	33 \pm 2.12abAB
4	北京3号	256.4 \pm 87.5bA	17 \pm 2.3eCD	281 \pm 76.3abA	13 \pm 0.71cC
5	沁怀	345.56 \pm 72.5abA	23 \pm 2.3bB	234.8 \pm 42.1bA	37 \pm 1.77aaA
6	怀地1号	284.72 \pm 121.4abA	17 \pm 2.2eCD	270.84 \pm 64.3abA	17 \pm 2.04cC
7	怀地2号	460.52 \pm 119.4abA	22 \pm 2.1bB	430.2 \pm 187.3abA	28 \pm 3.89bB
8	怀地3号	335.33 \pm 115.5abA	21 \pm 2.3bBC	310.57 \pm 105.4abA	30 \pm 0.91bAB

由表5可知,8个样品叶的上表面非腺毛密度在13~28个/ mm^2 ,以样品3为最大,与其他样品差异极显著。样品1号最小,与样品2,4,6号差异显著,与其他样品差异极显著。

8个样品叶的下表面非腺毛密度在12~37个/ mm^2 ,样品5最大为37个/ mm^2 ,与样品3号差

异不显著,与8号差异显著,与其他样品差异极显著;样品2最小为12个/ mm^2 ,与样品3,5,7,8差异极显著,与样品1,4,6差异不显著。

根据非腺毛的分布密度可将怀地黄品种分成密毛类和寡毛类2种。密毛类包括样品3,5,7,8,其中样品5沁怀密度尤其突出;寡毛类包括1,2,



样品编号同表1; Z1~Z8, F1~F8. ×100; Z-1~Z-8, F-1~F-8. ×250。

图2 不同品种怀地黄叶片非腺毛形态 (Z. 正面; F. 反面)

Fig. 2 The non-glandular hair morphologies of different cultivars of *Rehmannia glutinosa* (Z. positive; F. negative)

4,6。因此,非腺毛的密度可以作为鉴别不同怀地黄品种的依据之一。

不同主栽品种怀地黄叶非腺毛的长度上表皮在255~531.84 μm。其中长以样品1号85-5最大为531.84 μm,样品4号北京3号最小为255 μm,且两者差异显著;下表皮在233.4~445.6 μm,样品3号生津最长为445.6 μm,样品5号沁怀最短为233.4

μm,且两者差异显著,因此,非腺毛长度可以作为怀地黄品种鉴别的辅助特征。

4 结论与讨论

4.1 叶的形态对于品种划分的意义

不同主栽品种怀地黄叶大致分为3种类型,分别为大型叶(北京3号、沁怀、怀地1号和怀地3号);中型叶(怀地2号);小型叶(85-5、北京1号和生津)。不同主栽品种怀地黄叶的长、宽比具有明显差异,可以直接反应出怀地黄叶片的形状。因此,叶的不同类型,叶片长度、宽度和长宽比可直接用于怀地黄品种的划分。不同怀地黄叶的颜色可以分为墨绿色和绿色2种,叶边缘的形状可以分为锯齿形和波浪形2种。因此,叶的颜色和叶边缘的形状可作为地黄品种鉴别的辅助特征。

4.2 气孔器的形态对品种的划分意义

不同主栽品种怀地黄叶上下表面气孔器密度可以分为高密度(北京1号、北京3号、生津、怀地2号)、中密度(沁怀、怀地3号)和低密度(85-5、怀地1号)3类。怀地黄叶上下表面气孔器密度,不同主栽品种具有明显差异。因此,叶片的气孔器的密度可直接用于怀地黄品种的鉴别。

不同主栽品种怀地黄叶上下表面气孔器可以分为椭圆形、近椭圆形和长椭圆形3类。怀地黄叶上下两面表面气孔器的长宽比,不同主栽品种具有明显差异,可以直接反应出怀地黄叶片气孔器的形状,但是因气孔的开闭受外界条件的影响较大,上表皮与下表皮不统一。因此,叶片的气孔器的长宽比仅可用于怀地黄品种的鉴别的参考。气孔器的长和宽可作为品种鉴别辅助特征。

4.3 非腺毛的形态对品种划分的意义

地黄叶非腺毛密度和长度在叶的上下两面不同主栽品种有一定的差异。根据叶的上下表皮非腺毛的密度,将地黄品种分为密毛类(生津、沁怀、怀地2号和怀地3号);寡毛类(85-5,北京1号,北京3号和怀地1号)。因此,叶的非腺毛密度可直接用于怀地黄品种的鉴别。叶的上下两面非腺毛长度不同品种存在着一定的差异,可以做为品种鉴别的辅助特征。

不同地黄品种在不同生育期叶片的大小与形态各不相同,气孔的开闭也受外界多因素条件的影响,本实验在同一资源圃同样条件下同时间取样,采用同样方法测定分析数据,以增强可比性和结论的科

学性。有关不同怀地黄品种叶片大小和形状,气孔器大小和密度,非腺毛的长短和密度,与地黄光合作用、呼吸作用和蒸腾作用及抗虫抗涝关系有待进一步研究。

[参考文献]

- [1] 丁自勉. 地黄[M]. 北京:中国中医药出版社,2001;7.
[2] 李建军,王莹,陈小洁,等. 不同产区地黄产量及指标成分的

HPLC 测定[J]. 河南农业大学学报,2011,45(4):387.

- [3] 中国医学科学院药用植物资源开发研究所. 中国药用植物栽培学[M]. 北京:农业出版社,1991.
[4] 李先恩,杨世林,杨俊山. 地黄不同品种经济和产量性状的比较研究[J]. 中国中药杂志,2001,26(9):596.
[5] 郭庆梅,周凤琴,吴群,等. 忍冬不同农家品种叶形态特征比较[J]. 中国中药杂志,2011,36(14):1927.

Comparison of leaf morphological characters among different major varieties of *Rehmannia glutinosa*

LI Jianjun^{1*}, WANG Ying¹, JIA Guolun¹, XU Yuge¹, ZHU Mingwei¹, ZHOU Yanqing¹, ZHANG Zhongyi²

(1. Henan Normal University College of Life Sciences, Engineering Technology Research Center of Nursing and Utilization of Genuine Chinese Crude Drugs, University of Henan Province, Xinxiang 453007, China;
2. Institute of Chinese Medicinal Materials, Henan Agriculture University, Zhengzhou 450002, China)

[Abstract] **Objective:** To provide theoretical evidences for the identification and selective breeding of different major varieties of *Rehmannia glutinosa* by comparing their leaf characters such as the shapes, non-glandular hairs and the size and density of stomata.

Method: The length, width and the ratio of the length to the width of leaves were measured, and the density and length of the non-glandular hair, the density, size and density of the stomata in the epidermis were measured by scanning electron microscope. **Result:** The results showed that there were obvious differences in length, width and the ratio of the length to the width of leaves, the density and length of the non-glandular hair, the density and size of the stomata in the epidermis. **Conclusion:** The morphological characters of the leaves mentioned above may serve as the identification standards of major varieties of *R. glutinosa*.

[Key words] *Rehmannia glutinosa*; varieties; leaves; morphological characters

doi:10.4268/cjcm20121406

[责任编辑 吕冬梅]