

基于形态和红外光谱分析的云南重楼及近似种的快速鉴别

赵飞亚, 陶爱恩, 黎氏文梅, 段宝忠, 张海珠*, 夏从龙*

大理大学药学院, 云南 大理 671000

摘要:目的 基于形态和红外光谱法建立云南重楼及近似种的鉴别方法, 并进一步分析其亲缘关系, 为资源开发利用提供依据。方法 对云南重楼及其近似种进行了原植物形态比较, 并对光谱数据进行自动基线校正、自动平滑、纵坐标归一化、二阶求导等预处理, 采用主成分分析 (principal component analysis, PCA)、偏最小二乘判别分析 (partial least squares discriminant analysis, PLS-DA) 及系统聚类分析 (hierarchical cluster analysis, HCA) 分析光谱数据。结果 云南重楼与近似种在植株大小、叶片、叶脉、萼片、花瓣、花亭和雄蕊等形态特征上存在典型的鉴别特征, 可为其提供形态鉴别依据。6 种重楼的二阶导数在 $3\ 000\sim 2\ 000\ \text{cm}^{-1}$ 和指纹区 $1\ 800\sim 500\ \text{cm}^{-1}$ 波段内差异明显, HCA 和 PLS-DA 均能较好地区分云南重楼及近似种, 可为其提供红外光谱鉴别证据。HCA 结果表明云南重楼、七叶一枝花、狭叶重楼、矮重楼和多叶重楼亲缘关系较近。结论 傅里叶变换红外光谱 (FTIR) 结合原植物形态鉴定能够快速鉴别云南重楼及其近似种, 为指导重楼栽培、临床应用和资源开发提供科学依据。

关键词: 云南重楼; 七叶一枝花; 狭叶重楼; 多叶重楼; 矮重楼; 傅里叶红外光谱; 形态学特征; 多元统计分析; 主成分分析
中图分类号: R282 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2019)03-0702-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.03.025

Rapid identification of *Paris polyphylla* var. *yunnanensis* and its closely relative species by infrared spectroscopy combined with morphological characteristics

ZHAO Fei-ya, TAO Ai-en, LISHI Wen-mei, DUAN Bao-zhong, ZHANG Hai-zhu, XIA Cong-long

School of Pharmacy, Dali University, Dali 671000, China

Abstract: Objective To explore morphology and infrared spectrum identification evidence of *Paris polyphylla* var. *yunnanensis* and its closely relative species, and further analyze their genetic relationship to provide basis for the development and utilization of medicinal plant resources of genus *Paris*. **Methods** The morphology and infrared spectrum of *P. polyphylla* var. *yunnanensis* and its closely relative species were studied systematically and compared with each other. The original infrared spectra data were pretreated by automatic baseline correction, automatic smoothing, ordinate normalization, and second derivative, and analyzed by principal component analysis (PCA), partial least squares discrimination analysis (PLS-DA), and hierarchical cluster analysis (HCA). **Results** There were typical characteristics of *P. polyphylla* var. *yunnanensis* and its closely relative species, such as plant size, leaves, veins, sepals, petals, flower pavilions and stamens, which could provide morphological identification evidence. There were obviously differences of the second derivative in $3\ 000\sim 2\ 000\ \text{cm}^{-1}$ and the fingerprint in $1\ 800\sim 500\ \text{cm}^{-1}$ in the six types of genus *Paris*. Both HCA and PLS-DA could better distinguish *Paris polyphylla* var. *yunnanensis* and its closely relative species, which could provide an infrared spectral identified evidence. The results of HCA showed that *P. polyphylla* var. *yunnanensis*, *P. polyphylla* var. *chinensis*, *P. polyphylla*, *P. polyphylla* var. *stenophylla* and *P. polyphylla* var. *nana* were relatively close. **Conclusion** Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) combined with original plant morphological identification can quickly identify *P. polyphylla* var. *yunnanensis* and its closely relative species, which will provide a scientific basis for the cultivation, clinical application, and resource development of genus *Paris*.

Key words: *Paris polyphylla* Smith var. *yunnanensis* (Franch.) Hand. -Mazz.; *Paris polyphylla* Smith var. *chinensis* (Franch.) Hara; *P. polyphylla* Smith var. *stenophylla* Franch.; *P. polyphylla* Smith; *P. polyphylla* Smith var. *nana* Franch.; fourier transform infrared spectroscopy; morphological characteristics; multivariate statistical analysis; principal component analysis

收稿日期: 2018-09-05

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (31860080); 云南省地方本科高校 (部分) 基础研究联合专项 (2017FH-001-097); 大理州区域创新能力提升专项 (2018CA011-01)

作者简介: 赵飞亚 (1991—), 女, 在读硕士, 研究方向为中药资源与品质评价。Tel: 18987209470 E-mail: 1305531253@qq.com

*通信作者: 张海珠, 女, 副教授, 主要从事中药生物活性和质量评价研究。E-mail: 67484645@qq.com

夏从龙, 男, 教授, 主要从事药用植物种植资源与品质评价研究。Tel: (0872)2257401 E-mail: long7484@126.com

重楼为百合科重楼属云南重楼 *Paris polyphylla* Smith var. *yunnanensis* (Franch.) Hand.-Mazz. 和七叶一枝花 *Paris polyphylla* Smith var. *chinensis* (Franch.) Hara 的干燥根茎^[1]。其化学成分主要为甾体皂苷类^[2]，具有镇痛、止血^[3]、抗肿瘤^[4-6]、抗菌^[7]等作用。我国重楼属植物种类较多，有 28 种（包括新发现的 4 种）^[7]。由于该属植物经长期的异花授粉和自然选择，植物类群高度进化^[8]，表现出丰富的遗传多样性，尤其是多叶重楼及其变种较为典型。云南重楼及其同属近似种之间形态差异较小，鉴别困难，致使许多种植户或药企常把近似种当做云南重楼种植或使用，而目前这些近似种在化学、药理等方面的研究较为薄弱，能否作为云南重楼的替代品尚不清楚。鉴于此，很有必要探索云南重楼及其同属近似种的快速鉴别方法。

傅里叶变换红外光谱（FTIR）是一种振动光谱，对样品中不同的官能团及化学键会产生不同的振动吸收，能够全面反映物质内部分子结构定性定量信息，具有无损、快速等特点，使其在复杂中药材鉴别、品质评价及亲缘关系鉴别中具有一定优势^[9-13]。目前，红外光谱在云南重楼、白花重楼 *P. polyphylla* Smith var. *alba* H. Li、毛重楼 *P. mairei* Lévl、南重楼 *P. vietnamensis* (Takht.) H. Li、五指莲 *P. axialis* Smith var. *axialis* H. Li，的鉴别中有报道^[14]，但尚未见云南重楼与同属近似种大理重楼 *P. daliensis* H. Li et V. G. Souk-up、狭叶重楼 *P. polyphylla* Smith var. *stenophylla* Franch、多叶重楼 *P. polyphylla* Smith、矮重楼 *P. polyphylla* Smith var. *nana* Franch、七叶一枝花 *P. polyphylla* Smith var. *chinensis* (Franch.) Hara 的红外光谱（IR）鉴别研究。本研究对云南重楼及其近似种进行了原植物形态和 IR 分析，并结合多元统计学^[15-16]，包括主成分分析（principal component analysis, PCA）、偏最小二乘判别分析（partial least squares discriminant analysis, PLS-DA）及系统聚类分析（hierarchical cluster analysis, HCA）快速鉴别云南重楼及近似种，并在此基础上进一步分析云南重楼与近似种之间的亲缘关系，以期为云南重楼替代资源的挖掘提供科学依据。

1 材料

1.1 仪器

Nexus 傅里叶变换红外光谱仪（美国热点尼高

丽公司）；HW-3 红外烘干箱（天津市光学仪器厂）；AL204 电子天平（梅特勒-托利多仪器上海有限公司）；FW-4A 型粉末压片机（天津市拓普仪器有限公司）；FY135 型中草药粉碎机（天津泰斯特仪器有限公司）。

1.2 药材

6 种重楼样品主要采集于云南文山、大理、丽江、曲靖、昭通等地，均经大理大学夏从龙教授鉴定为七叶一枝花 *Paris polyphylla* Smith var. *chinensis* (Franch.) Hara、云南重楼 *Paris polyphylla* Smith var. *yunnanensis* (Franch.) Hand.-Mazz.、大理重楼 *Paris daliensis* H. Li et V. G. Souk-up、多叶重楼 *Paris polyphylla* Smith、狭叶重楼 *Paris polyphylla* Smith var. *stenophylla* Franch. 和矮重楼 *Paris polyphylla* Smith var. *nana* Franch.，样品凭证标本存放于大理大学中药标本馆，样品信息见表 1。

2 方法

2.1 原植物形态分析

6 种重楼的原植物见图 1，主要是对鲜品上存留的茎、叶、叶鞘及花序的特征进行观察比较。

2.2 供试品的制备

取 6 种重楼根茎在 60 °C 下干燥至恒定质量，粉碎过 80 目筛，备用。取样品粉末 1 mg 至玛瑙研钵中，加入溴化钾粉末 200 mg 作为分散剂，研磨均匀，取适量细粉平铺于模具中，以 20 MPa 压力压制 1 min，取出，对光检视，以样品均匀，板透光为佳，作为供试品^[12-13,17]。

2.3 FTIR 分析

将制备好的供试品置于 IR 仪中测定 IR 光谱。实验条件为：光谱扫描范围 4 000~400 cm⁻¹，扫描 32 次，分辨率为 4 cm⁻¹，扫描时实时扣除 H₂O 和 CO₂ 的背景。

2.4 数据处理

通过软件 OMNIC 8.0 进行坐标归一化、基线校正、自动平滑等处理，保存 CSV 格式数据；利用 OriginLab OriginPro 软件计算二阶导数，绘制曲线；采用 SIMCA 13.0 软件进行 PCA 和 PLS-DA 分析；采用 SPSS 20.0 软件进行 HCA 分析。

2.5 精密度试验

以 S1 号云南重楼样品为考察对象，制备供试品，按“2.3”项方法，连续重复扫描 5 次，所得 IR 图谱的相关系数在 0.999 0~0.999 9，RSD 为 0.03%，表明精密度良好。

表 1 样品信息
Table 1 Information of samples

编号	学名	产地	采集时间
S1	云南重楼	云南省文山壮族自治州	2017-09
S2	云南重楼	云南省文山壮族自治州	2017-09
S3	云南重楼	云南省文山壮族自治州	2017-09
S4	云南重楼	云南省文山壮族自治州	2017-09
S5	云南重楼	云南省文山壮族自治州	2017-09
S6	云南重楼	云南省大理洱源县杨家登丰乐村	2017-07
S7	云南重楼	云南省大理洱源县杨家登丰乐村	2017-07
S8	云南重楼	云南省大理洱源县杨家登丰乐村	2017-07
S9	云南重楼	云南省文山壮族自治州	2017-09
S10	云南重楼	云南省文山壮族自治州	2017-09
S11	云南重楼	云南省文山壮族自治州	2017-09
S12	云南重楼	云南省文山壮族自治州	2017-09
S13	云南重楼	云南省文山壮族自治州	2017-09
S14	云南重楼	云南省曲靖师宗县龙庆彝族壮族乡	2017-08
S15	云南重楼	云南省曲靖师宗县龙庆彝族壮族乡	2017-08
S16	云南重楼	云南省曲靖师宗县雄壁镇	2017-08
S17	云南重楼	云南省曲靖师宗县城	2017-08
S18	云南重楼	云南省曲靖师宗县城	2017-08
S19	矮重楼	云南省丽江市	2017-07
S20	矮重楼	云南省丽江市	2017-07
S21	矮重楼	云南省丽江市	2017-07
S22	矮重楼	云南省丽江市	2017-07
S23	矮重楼	云南省丽江市	2017-07
S24	矮重楼	云南省丽江市	2017-07
S25	矮重楼	云南省丽江市	2017-07
S26	矮重楼	云南省丽江市	2017-07
S27	矮重楼	云南省丽江市	2017-07
S28	矮重楼	云南省丽江市	2017-07
S29	矮重楼	云南省丽江市	2017-07
S30	狭叶重楼	云南省丽江市	2017-07
S31	狭叶重楼	云南省丽江市	2017-07
S32	狭叶重楼	云南省大理云龙县漕涧松坡脚新寨	2017-08
S33	多叶重楼	云南省大理洱源县杨家登丰乐村	2017-08
S34	多叶重楼	云南省大理云龙县大栗树茶厂	2017-08
S35	多叶重楼	云南省大理云龙县大栗树茶厂	2017-08
S36	多叶重楼	云南省大理漾濞平坡	2017-10
S37	多叶重楼	云南省大理漾濞平坡	2017-10
S38	多叶重楼	云南省大理云龙县漕涧松坡脚新寨	2017-08
S39	多叶重楼	云南省大理洱源县乔后镇大坪村	2017-08
S40	七叶一枝花	云南省昭通宜良县小草坝镇	2017-08
S41	七叶一枝花	云南省昭通宜良县小草坝镇	2017-08
S42	七叶一枝花	云南省昭通宜良县小草坝镇	2017-08
S43	七叶一枝花	云南省昭通宜良县小草坝镇	2017-08
S44	七叶一枝花	云南省大理云龙县漕涧松坡脚新寨	2017-08
S45	七叶一枝花	云南省丽江市	2017-07
S46	大理重楼	云南省大理云龙县漕涧松坡脚新寨	2017-08
S47	大理重楼	云南省大理云龙县漕涧松坡脚新寨	2017-08
S48	大理重楼	云南省大理云龙县漕涧松坡脚新寨	2017-08
S49	大理重楼	云南省大理云龙县漕涧松坡脚新寨	2017-08



A-多叶重楼 B-狭叶重楼 C-七叶一枝花 D-云南重楼 E-矮重楼 F-大理重楼

A-*P. polyphylla* B-*P. polyphylla* var. *stenophylla* C-*P. polyphylla* var. *chinensis* D-*P. polyphylla* var. *yunnanensis* E-*P. polyphylla* var. *nana* F-*P. daliensis*

图 1 云南重楼及近似种原植物图

Fig. 1 Photos of representative living plant of *P. polyphylla* var. *yunnanensis* and its closely relative species

2.6 稳定性试验

以 S1 号云南重楼样品为考察对象制备供试品, 每隔 10 min 扫描 1 次, 总共扫描 5 次, 所得 IR 图谱的相关系数在 0.980 8~0.997 6, RSD 为 0.7%, 表明稳定性良好。

2.7 重现性试验

以 S1 号云南重楼样品为考察对象, 按“2.2”项下方法分别压片 5 次制备 5 份供试品, 所得 IR 图谱的相关系数在 0.998 1~0.999 6, RSD 为 0.06%, 表明重现性良好。

3 结果与分析

3.1 不同种重楼原植物“经典”形态特征鉴别

云南重楼及 5 种近似种重楼均为重楼属侧莫亚属蚤休组植物^[18], 本研究比较了 6 种原植物形态特征, 其原植物图见图 1, 形态特征见表 2。从图 1 和表 2 中可以看出,《中国药典》2015 年版重楼的基原种云南重楼典型特征为花瓣较宽, 上部常扩大为宽 2~5 mm 的狭匙形, 常为“宽瓣”或“匙状”;

表 2 云南重楼及 5 种近似种重楼的形态鉴别

Table 2 Morphological identification of *P. polyphylla* var. *yunnanensis* and five closely relative species in genus *Paris*

种名	形态特征
多叶重楼 (原变种)	茎高 25~84 cm, 全株无毛; 叶 5~11 枚, 同一植株的叶等长不等宽, 无斑块; 花基数 3~7, 少于叶片; 萼片绿色, 不反折; 雄蕊 2 轮, 药隔突出部分不明显; 子房紫色, 具棱或翅; 花柱基盘状, 紫色, 花柱紫色, 柱头紫色; 果近球形, 绿色; 种子有鲜红色的外果皮
狭叶重楼 (变种)	叶较多, (6~22) 枚, 狭长, 长 (5~16) cm, 宽 1~2 cm; 花基数 (3~8), 与叶数不一致; 花瓣丝状, 比萼片长; 雄蕊 2 轮, 通常较短, 常在 15 mm 以下, 药凸不明显或长不及 0.5 mm
七叶一枝花 (变种)	花瓣狭线性, 明显短于萼片, 常反折, 长为萼片的 1/3~2/3, 上部不扩宽; 叶片一般较狭长, 长圆形、长椭圆形、披针形等, 基部通常楔形
云南重楼 (变种)	雄蕊 2~3 轮; 药凸较明显, 长 1~2 mm; 花瓣较宽, 上部常扩大为宽 2~5 mm 的狭匙形; 叶一般较宽, 质地较厚, 倒卵状长圆形等, 基部楔形至圆形, 长 4~9.5 cm, 宽 1.7~4.5 cm, 常具有 1 对明显的基出脉, 叶柄长 0~2 cm
矮重楼 (变种)	茎高约 10 cm; 花长约 5 cm; 叶 4~6 枚, 茎无柄, 花基数 4; 花萼卵状、绿色; 花瓣远长于萼片; 雄蕊 8 枚, 药凸极不明显
大理重楼	茎高 50~65 cm; 叶 7~9 枚, 全缘, 侧脉 4~5 对, 羽状; 花基数 3~5, 少于叶片; 萼片绿色, 披针形; 花瓣 3~5 片, 线状, 直立, 上部稍扩宽; 雄蕊 2 轮, 6 或 10 枚, 短, 药隔突出部分增粗, 卵形; 子房卵形, 深紫色; 花柱基盘状, 柱头 3~5 个, 外弯

七叶一枝花典型特征为花瓣狭线性, 明显短于萼片, 常反折, 长为萼片的 1/3~2/3, 2 个药典品种形态特征差异明显。其他近似种与药典基原种相比, 大理重楼典型特征为花瓣直立, 雄蕊粗短, 药隔突出部分增粗, 卵形, 似火柴头; 多叶重楼典型特征为叶片较多, 叶等长不等宽, 叶脉似波浪状; 狭叶重楼典型特征为叶片较多, 叶片狭长; 矮重楼典型特征为植株矮小, 花亭较短, 约 5 cm。药典基原种云南重楼和七叶一枝花与其他近似种之间形

态特征差异较大。

3.2 云南重楼及近似种 IR 光谱对比分析

云南重楼及 5 种近似种根茎的平均 IR 光谱图见图 2, 6 种重楼的峰位、峰形、强度在 1 800~400 cm^{-1} 指纹区明显存在区别, 表明不同种样品之间所含化学成分存在差异。6 种重楼的主要吸收区域为 700~400 cm^{-1} ; 950~700 cm^{-1} , 1 200~950 cm^{-1} , 1 800~1 500 cm^{-1} , 2 800~3 500 cm^{-1} 附近。950~700 cm^{-1} 处主要为糖类的苯环骨架振动或皂苷类物

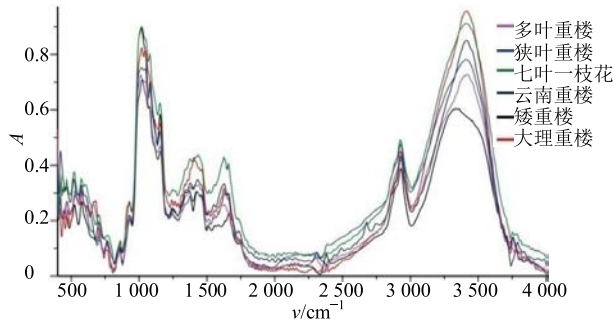


图 2 6 种重楼平均 IR 光谱图

Fig. 2 Average infrared spectrum of six species of genus *Paris*

质的特征吸收区^[13]; 1 200~950 cm^{-1} 处的吸收峰主要为多糖、皂苷等物质的混合振动吸收区^[19]; 1 800~1 500 cm^{-1} 处主要为酰胺 I 带和 II 带的特征 C=O 伸缩振动和苯环的特征吸收^[20]; 2 800~3 500 cm^{-1} 附近主要为烷基中 C-H 对称伸缩振动和 O-H 伸缩振动吸收峰。上述结果表明, 6 种重楼的主要化学成分差异可能主要为多糖、皂苷、黄酮类等物质。

3.3 云南重楼及近似种 IR 光谱二阶导数对比分析

对 IR 光谱进行二阶导数处理, 可以提高谱图的分辨率, 指示叠合的隐蔽峰^[21-22]。对云南重楼及

其近似种 IR 光谱数据进行二阶导数处理可对不同谱图进行区分, 从而达到鉴别的目的, 二阶导数图谱见图 3。多叶重楼下变种云南重楼、七叶一枝花、狭叶重楼、矮重楼二阶导数图谱十分相似, 但在波数 3 000~2 000 cm^{-1} , 指纹区 1 800~500 cm^{-1} 存在一定差别。七叶一枝花吸收峰不明显, 与云南重楼及其他近似种差异较大。云南重楼与其他近似种比较, 多叶重楼吸收峰较多, 狭叶重楼在 2 750 cm^{-1} 附近无吸收峰, 矮重楼在 3 000~2 000 cm^{-1} 波段波峰相对较少, 峰强相对较弱。大理重楼成分复杂, 其吸收峰与多叶组项下各变种比较差异大。鉴于此, 利用云南重楼与近似种重楼红外波数 3 000~2 000 cm^{-1} 和指纹区 1 800~500 cm^{-1} 吸收区域可进行快速鉴别。

3.4 HCA

HCA 属于另一类基于定量分类学的数据挖掘技术, 通过衡量不同数值变量间的相似性, 将不同分组变量降维处理分类到不同的类, 同类对象具有很大的相似性、不同类对象有很大的相异性^[23]。采用平方欧式距离, 应用系统聚类中的 ward 聚类法对 6 种重楼属植物进行分析, 结果见图 4。从结果可以看出, 在距离系数为 25 处, 6 种重楼聚为 2

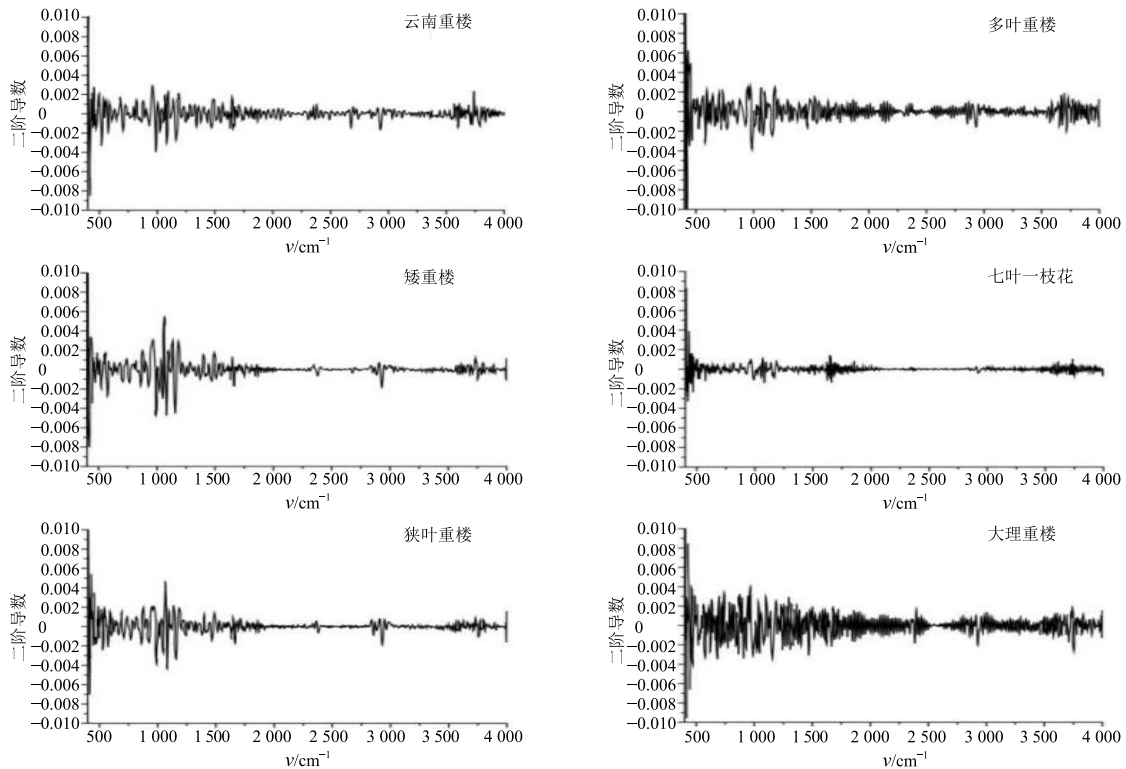


图 3 6 种重楼二阶导数平均 IR 光谱图

Fig. 3 Average infrared spectrum of second derivative of six species of genus *Paris*

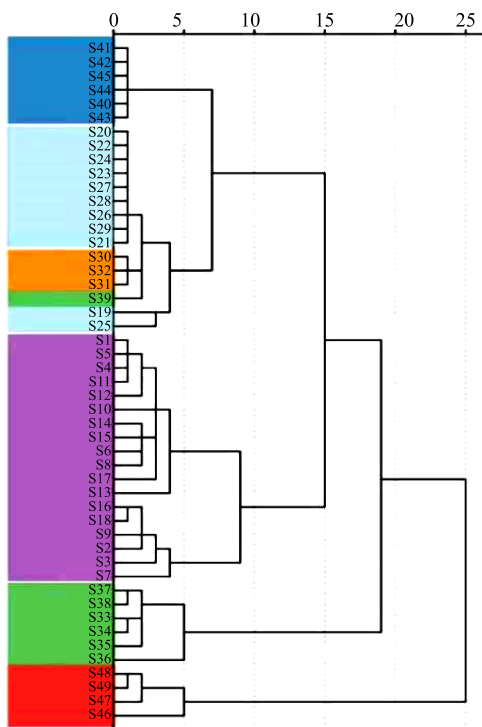


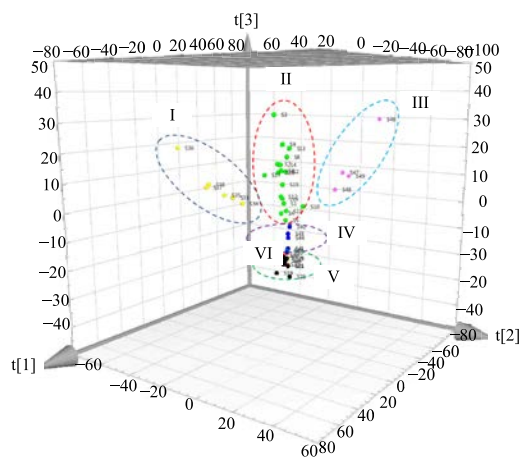
图 4 6 种不同重楼的 HCA

Fig. 4 HCA dendrogram of six species in genus *Paris*

大类，大理重楼被单独聚为一类，多叶组项下各变种被聚为一类。在距离系数为 20 处，多叶组项下各变种被聚为 3 类，多叶重楼单独聚为一类，云南重楼单独聚为一类，狭叶重楼、矮重楼和七叶一枝花聚为一类。虽然狭叶重楼、矮重楼和七叶一枝花聚为一类，但三者之间各自单独聚为一支。上述结果表明，6 种重楼属植物聚类效果较好，可明显区分。在距离系数为 25 时多叶组项下各变种聚为一类，验证了重楼属植物分类上云南重楼、狭叶重楼、矮重楼、七叶一枝花均属于多叶重楼的变种^[18]。在距离为 5 时，矮重楼 S19、S25，多叶重楼 S39 各单独聚为一支，表明这 2 个物种可能存在种内或种间变异，导致化学成分存在差异，这可能与重楼属植物经长期的异花授粉和自然选择有关。

3.5 PCA 和 PLS-DA

3.5.1 PCA PCA 是将多维具有相关性的数据压缩为少数几个相互独立数据的统计方法，在不丢失主要光谱信息的前提下选择较少的新变量代替原来较多的变量，排除化学信息共存并相互重叠的信息，简化数据，揭示变量间的关系，从而达到解决中药谱带重叠无法分析的困难^[24-25]。将全波段谱图进行二阶求导预处理后，PCA 提取的前 3 个主成分作为坐标轴，绘制了 6 种重楼的 PCA 三维得分图。



I-多叶重楼 II-云南重楼 III-大理重楼 IV-七叶一枝花 V-矮重楼 VI-狭叶重楼，下同

I-*P. polyphylla* II-*P. polyphylla* Smith var. *yunnanensis* (Franch.) Hand. -Mazz. III-*P. daliensis* H. Li et V. G Souk-up IV-*P. polyphylla* Smith var. *chinensis* (Franch.) Hara V-*P. polyphylla* Smith var. *nana* Franch VI-*P. polyphylla* Smith var. *stenophylla* Franch, same as below

图 5 6 种不同重楼的 PCA 三维得分图

Fig. 5 3D scattered scores plot for PCA of six species in genus *Paris*

在 PCA 得分图中，云南重楼、七叶一枝花、大理重楼的聚类效果好；矮重楼与狭叶重楼的距离很近，但各自也可以较好地聚为一类；多叶重楼除少数个体与矮重楼和狭叶重楼有混杂外，其余均能很好地聚为一类。

3.5.2 PLS-DA PLS-DA 综合了多元线性回归和主成分回归的优势，能够剔除不相关或非线性变量，通过潜在变量或者提取主成分进行聚类分析，是一种有监督模式识别的分析方法^[26]。将全波段谱图进行二阶求导预处理后，PLS-DA 提取前 3 个主成分作为坐标轴，绘制了 6 种重楼的 PLS-DA 三维得分图。从图 6 中可以看出，6 种重楼能够很好地分开，PLS-DA 明显优于 PCA，结果与聚类分析结果一致。

4 讨论

本研究采用形态鉴别和 IR 光谱探讨云南重楼与同属近似种（七叶一枝花、矮重楼、多叶重楼、狭叶重楼、大理重楼）的原植物形态及 IR 谱的鉴别证据。云南重楼与同属近似种之间在多个形态特征上存在交叉，这些都给形态学分类带来了不少困难。然而，通过形态对比分析发现，6 种重楼之间存在比较典型的形态差异。云南重楼花瓣常为“宽瓣”或“匙状”；七叶一枝花“花瓣短于萼片，常

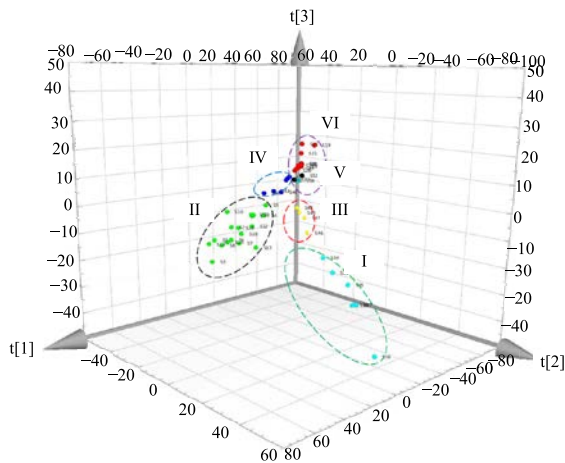


图 6 6 种不同重楼的 PLS-DA 三维得分图

Fig. 6 3D scattered scores plot of PLS-DA of six species in genus *Paris*

反折”，而其他近似种大理重楼有“火柴头”；多叶重楼“叶片较多，叶等长不等宽，叶脉似波浪状”；狭叶重楼“叶片较多，叶片狭窄”；矮重楼“植株矮小，花亭较短”。这些典型的形态特征均可作为云南重楼及近似种的鉴别依据。6 种重楼在 1 800~500 cm^{-1} 指纹区，其峰位、峰形、强度差异明显，表明不同种之间化学成分存在差异。进一步对 6 种重楼的二阶导数全谱数据进行 PCA、PLS-DA 和 HCA。PLS-DA 分类结果优于 PCA，能够更好地区分 6 种重楼属植物。HCA 结果表明，6 种重楼除了个别样本外（矮重楼 S19、S25，多叶重楼 S39），能明显聚为 6 类。在距离系数为 25 时多叶组项下各变种聚为一类，验证了重楼属植物分类上云南重楼、狭叶重楼、矮重楼、七叶一枝花均属于多叶重楼的变种^[18]，同时表明了 5 种重楼在亲缘关系上较近。基于药用植物亲缘学理论，对多叶组下各变种重楼开展相关研究，可为寻找云南重楼替代资源提供新思路。

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [2] 杨远贵, 张 霁, 张金渝, 等. 重楼属植物化学成分及药理活性研究进展 [J]. 中草药, 2016, 47(18): 3301-3323.
- [3] Liu Z, Li N, Gao W, *et al.* Comparative study on hemostatic, cytotoxic and hemolytic activities of different species of *Paris* L. [J]. *J Ethnopharmacol*, 2012, 142(3): 789-794.
- [4] Zhen L, Qi Z, Chen W, *et al.* Chemosensitizing effect of *Paris* saponin I on camptothecin and

- 10-hydroxycamptothecin in lung cancer cells via p38 MAPK, ERK, and Akt signaling pathways [J]. *Eur J Med Chem*, 2017, 125: 760-769.
- [5] Wu X, Wang L, Wang G C, *et al.* Triterpenoid saponins from rhizomes of *Paris polyphylla* var. *yunnanensis* [J]. *Carbohydr Res*, 2013, 368(5): 1-7.
- [6] Sun J, Liu B R, Wei J, *et al.* The extract of *Paris polyphylla* exerts apoptotic induction and synergic antiproliferative effect with anticancer drugs in SMMC-7721 human liver cancer cells [J]. *Biomed Prevent Nutr*, 2011, 1(3): 186-194.
- [7] 赵飞亚, 陶爱恩, 夏从龙. 基于国内专利结合资源、应用与开发现状的重楼发展策略探讨 [J]. 中国中药杂志, 2018, 43(2): 404-409.
- [8] 杨 斌, 杨丽英, 严世武, 等. 滇重楼授粉特性的初步研究 [J]. 西南农业学报, 2008, 21(5): 1388-1390.
- [9] Chen Y, Huang J, Yeap Z Q, *et al.* Rapid authentication and identification of different types of *A. roxburghii* by Tri-step FT-IR spectroscopy [J]. *Spectrochim Acta A*, 2018, 199: 271-282.
- [10] Song S Y, Lee Y K, Kim I J. Sugar and acid content of *Citrus* prediction modeling using FT-IR fingerprinting in combination with multivariate statistical analysis [J]. *Food Chem*, 2016, 190: 1027-1032.
- [11] Liu Y, Zhang Y, Zhang J, *et al.* Rapid discrimination of sea buckthorn berries from different *H. rhamnoides* subspecies by multi-step IR spectroscopy coupled with multivariate data analysis [J]. *Infrared Phys Technol*, 2018, 89: 154-160.
- [12] 陈佳乐, 金 叶, 陈红英, 等. 川芎药材的近红外多指标快速质量评价 [J]. 中草药, 2016, 47(6): 1004-1009.
- [13] 吴 喆, 张 霁, 金 航, 等. 红外光谱结合化学计量学对不同采收期滇重楼的定性定量分析 [J]. 光谱学与光谱分析, 2017, 37(6): 1754-1758.
- [14] 吴 喆, 王元忠, 张 霁, 等. 基于红外光谱法的云南重楼及其近缘种的亲缘关系研究 [J]. 中草药, 2017, 48(11): 2279-2284.
- [15] Liu Y, Finley J, Betz J M, *et al.* FT-NIR characterization with chemometric analyses to differentiate goldenseal from common adulterants [J]. *Fitoterapia*, 2018, 127: 81-88.
- [16] Szymanskachargot M, Chylinska M, Kruk B, *et al.* Combining FT-IR spectroscopy and multivariate analysis for qualitative and quantitative analysis of the cell wall composition changes during apples development [J]. *Carbohydr Polym*, 2015, 115: 93-103.
- [17] 吴 喆, 张 霁, 左智天, 等. 红外光谱结合化学计量

- 学快速鉴别云南重楼不同炮制品 [J]. 光谱学与光谱分析, 2018, 38(4): 1101-1106.
- [18] 李 恒. 重楼属植物 [M]. 北京: 科学出版社, 1998.
- [19] Chen J B, Sun S Q, Ma F, *et al.* Vibrational microspectroscopic identification of powdered traditional medicines: chemical micromorphology of *Poria* observed by infrared and Raman microspectroscopy [J]. *Spectrochim Acta A*, 2014, 128(7): 629-637.
- [20] Hashim D M, Man Y B C, Norakasha R, *et al.* Potential use of Fourier transform infrared spectroscopy for differentiation of bovine and porcine gelatins [J]. *Food Chem*, 2010, 118(3): 856-860.
- [21] Tan C S, Sing C Y, Loh Y C, *et al.* Vasorelaxation effect of *Glycyrrhizae uralensis* through the endothelium-dependent pathway [J]. *J Ethnopharmacol*, 2017, 199: 149-160.
- [22] Loh Y C, Tan C S, Chng Y S, *et al.* Overview of signaling mechanism pathways employed by BPAid in vasodilatory activity [J]. *J Med Food*, 2017, 20(12): 1201-1213.
- [23] 赖先荣, 周邦华, 杜明胜, 等. 6种黄连饮片中6种生物碱的 RP-HPLC 含量测定及与“治消渴”药效学的谱-效关系分析 [J]. 中国中药杂志, 2016, 41(24): 4579-4586.
- [24] Abdi H W L J. Principal component analysis [J]. *Computation Stat*, 2010, 4(2): 433-459.
- [25] Agostino D, Ralph B. *Principal Components Analysis* [M]. New York: Springer, 2010.
- [26] Bassbasi M, Luca M D, Ioele G, *et al.* Prediction of the geographical origin of butters by partial least square discriminant analysis (PLS-DA) applied to infrared spectroscopy (FTIR) data [J]. *J Food Compos Anal*, 2014, 33(2): 210-215.