

FTIR 直接测定法在解决忍冬科一些分类学问题中的应用研究

郝朝运, 程存归, 刘 鹏*

浙江师范大学化学与生命科学学院, 浙江 金华 321004

摘 要 应用傅里叶变换红外光谱 (FTIR) 法测定了忍冬科 5 属 12 种植物的红外光谱, 对其红外光谱及系统关系进行了分析。结果表明: 各分类群的红外光谱具有高度特异性和重现性, 七子花属与忍冬族和北极花族的关系都比较接近, 表明七子花属有可能在一定程度上联系着忍冬族和北极花族, 而接骨木属和英 蕊属与科内其他属的距离并不远, 支持目前把这两属归入忍冬科的分类方法。说明利用已知的标准红外光谱图库, 可以鉴定和区分出这些属或其他属植物的种类及关系。

关键词 傅里叶变换红外光谱; 聚类分析; 主坐标分析; 系统关系; 忍冬科
中图分类号: Q949 文献标识码: A 文章编号: 1000-0593(2007)01-0038-05

引 言

忍冬科(Caprifoliaceae)是一个古老的科, 主要分布于北温带和热带高海拔山地, 以东亚和北美东部种类最多。忍冬科以盛产观赏植物而著称, 英 蕊属(*Viburnum*)、忍冬属(*Lonicera*)和锦带花属(*Weigela*)等都是著名的庭院观赏花木, 忍冬属和接骨木属(*Sambucus*)的一些种类是我国传统中药材, 具有重要的研究价值^[1]。其中, 单种属植物七子花(*Heptacodium miconioides*)为我国特有的珍稀濒危植物, 属国家二级重点保护植物, 在系统演化和分类上具有重要的学术价值, 目前主要分布于浙江省金华、台州等地。由于忍冬科植物的形态性状较为复杂, 并与茜草科(Rubiaceae)、山茱萸科(Cornaceae)等科都有一定的相似性, 所以一个多世纪以来, 虽然有不少学者应用形态学、解剖学、胚胎学、化学分类学等方法做了大量工作, 但至今还并未取得一致的意见, 尤其在七子花属的系统地位以及接骨木属和英 蕊属的系统归属等方面。

傅里叶变换红外光谱法(fourier transform infrared spectroscopy, FTIR)是一种现代结构分析技术, 具有操作快速、简单和灵敏度高的特点^[2], 已经被广泛地应用于各个研究领域^[3-6]。近年来 FTIR 在高等植物的系统分类研究方面也有一定的开展, 如红景天属(*Rhodiola*)的几个种类的鉴别研究^[7]、蔷薇(*Rosa multiflora*)等 7 种高等植物的系统分类^[8]、蛇足石杉及其 5 个近缘种的 16 个叶片样品的分类分析^[9]。目前, 应用 FTIR 技术解决忍冬科植物的系统分类问题在国内外尚未见报道。本文应用 FTIR 法对忍冬科 12 种植

物的木质部进行了直接测定, 采用数值分析法对这 12 种植物间的系统关系进行了分析, 为解决忍冬科的一些分类学疑问提供新依据。本文所用的植物名称列于表 1。

Table 1 The name and number of materials used in this study

Genera	Species	Code	Sampling number
六道木属 <i>Abelia</i>	糯米条 <i>A. chinensis</i>	LD1	10
	南方六道木 <i>A. dielsii</i>	LD2	10
七子花属 <i>Heptacodium</i>	七子花 <i>H. miconioides</i>	QZ	10
忍冬属 <i>Lonicera</i>	红腺忍冬 <i>L. hypoglauca</i>	RD1	10
	金银花 <i>L. japonica</i>	RD2	10
	大花忍冬 <i>L. macrantha</i>	RD3	10
接骨木属 <i>Sambucus</i>	西洋接骨木 <i>S. nigra</i>	JG1	2
	接骨木 <i>S. williamsii</i>	JG2	10
英 蕊属 <i>Viburnum</i>	英 蕊 <i>V. dilatatum</i>	JM1	10
	珊瑚树 <i>V. odoratissimum</i>	JM2	10
	球核英 蕊 <i>V. propinquum</i>	JM3	10
	饭汤子 <i>V. setigerum</i>	JM4	10

1 材料与方法

1.1 材料来源

所用材料采自浙江金华北山、浙江杭州植物园、浙江临安天目山、浙江宁波四明山、福建武夷山等地, 采集植物同一部位的木质部。每种植物从不同产地共采集 10 个单株样品用于红外光谱的测定, 以尽量消除不同产地的植株间存在

收稿日期: 2005-11-07, 修订日期: 2006-03-08
基金项目: 浙江省自然科学基金项目(399277)资助
作者简介: 郝朝运, 1979 年生, 浙江师范大学生物科学系在读硕士生 e-mail: haochy79@163.com * 通讯联系人
©1994-2011 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

差异对结果造成的影响。西洋接骨木 (*Sambucus nigra*) 仅在杭州植物园采集到两株样品。样品在测试前均置于 50 ℃ 左右的红外干燥箱中干燥 3 h。

1.2 测定方法

美国 Nicolet 公司生产的 NEXUS 670 型傅里叶变换红外光谱仪, DTGS 检测器, OMNIC E S P 5.1 智能操作软件, OMNI 采样器, 光谱范围 4 000~650 cm^{-1} , 分辨率 4 cm^{-1} , 扫描累加次数 32 次。

在采集数据前, 根据仪器测试要求把 OMNI 采样器水平放置在傅里叶变换红外光谱仪的样品仓中, 用单面刀分别切取样品的木质部, 置于采样器的锗晶片与校正压力装置之间, 按照所给定的测试条件直接测定样品的 FTIR。

1.3 数据分析

测定得到忍冬科 5 属 12 种植物共 112 个样品的 FTIR。根据样品的吸收峰值的特点筛选出 20 个比较典型的吸收峰, 记录各吸收峰的峰高值, 求同种植物不同产地样品的对应吸收峰峰高的平均值。以植物种类为对象, 以各吸收峰的峰高平均值为指标, 构建原始数据矩阵。将原始数据矩阵中的峰高值转化为成分比率后, 分别应用聚类分析 (Cluster analysis) 和主坐标分析 (principal coordination analysis, PCO) 得到表征 12 种植物间相似性关系的聚类图和三维排序图。以上数据分析均在 PAST 1.24b 统计软件包中运行。

主坐标分析是一个从多变量中选出新的综合变量来反映原变量主要信息的研究方法, 具有客观反映各变量的综合贡献和各研究对象间相互关系的优点。但由于在运算过程中要对数据进行多次的转换与综合, 容易造成信息的丢失, 同时在对研究对象进行分组时判定某些研究对象的归属会有一定的难度。而聚类分析是对研究对象进行分类的数学手段, 其结果侧重于揭示具有最相近关系的研究对象, 虽然其聚类结果较为简单明了, 但是不能全面揭示研究对象之间的关系, 具有一定的局限性。所以 2 种分析方法相结合不但能准确对研究对象进行划分, 而且也能直观体现各研究对象之间的关系。

2 结果与分析

2.1 FTIR 谱图的重复性与差异性

为揭示植物木质部红外光谱图的重复性和差异性, 本文首先分别对同种植物同一产地不同植株的木质部 (图 1)、同种植物不同产地的木质部 (图 2)、不同种类植物的木质部 (图 3) 的红外光谱进行对比分析。从结果看, 同种植物同一产地的不同植株木质部的红外光谱的差异不明显, 各特征峰的吸光度值基本一致; 同种植物不同产地木质部的红外光谱有一定的差异, 主要体现在 1 800~1 100 cm^{-1} 光谱范围内各特征峰的吸收强度有所变化, 这可能是与不同分布地的生境条件差异以及种群间的遗传分化引起木质部内含物含量发生改变有关。可见, 单一样品的红外光谱图应用于植物系统分类研究将会造成一定的误差, 因此本文建议, 在应用红外光谱技术研究植物间的系统关系时应尽量从更多产地取样, 以解决单一样品代表性欠缺的问题; 不同植物种类的木质部红外光

谱差异较大, 在 3 292, 2 926 cm^{-1} 以及 1 800~1 100 cm^{-1} 之间各特征峰的吸收强度都有明显差异, 表现出红外光谱图在植物种属级水平上更大的差异性。

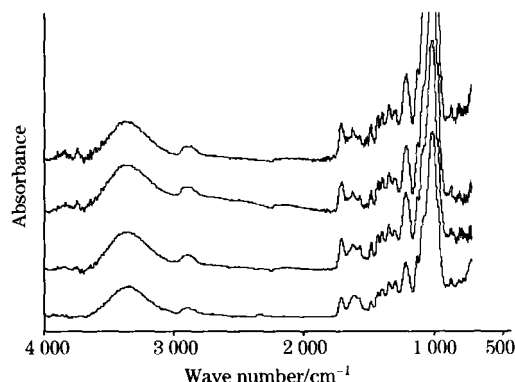


Fig. 1 FTIR spectra of xylem of different *Heptacodium miconioides* individuals sampled from Bei mountain.

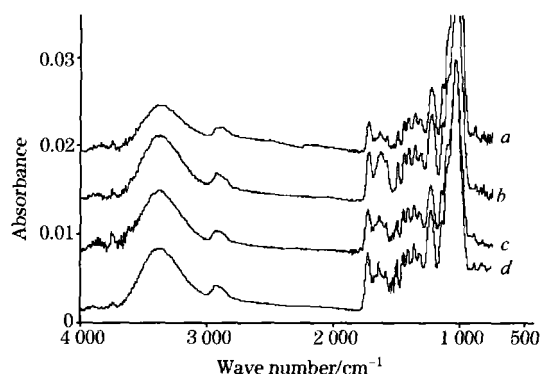


Fig. 2 FTIR spectra of xylem of *Heptacodium miconioides* sampled from different geographic regions

a: Bei mountain; b: Dongbai mountain;
c: Tiantai mountain; d: Siming mountain.

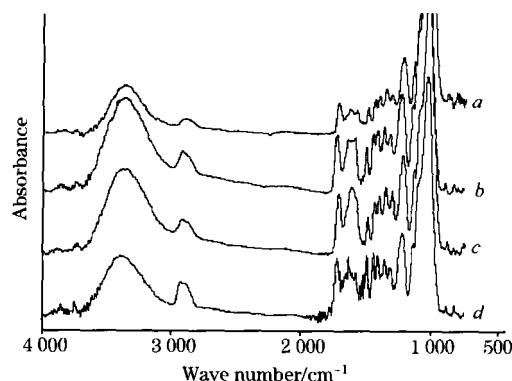


Fig. 3 FTIR spectra of xylem of different species.

a: *H. miconioides*; b: *V. dilatatum*;
c: *V. odoratissimum*; d: *A. chinensis*.

2.2 FTIR 数据的多元统计分析

2.2.1 聚类分析

基于欧式距离,应用聚类分析中的最近邻体法(Nearest neighbour)得到表征 12 种植物系统关系的树系图(表 2,图 4)。从结果看,12 种植物间的距离系数变化范围较大,在 0.032~0.142 之间变动,平均值为 0.102,其中红腺忍冬(*L. hypoglauca*)和金银花(*L. japonica*)之间的距离系数最小(0.032),西洋接骨木和饭汤子(*V. setigerum*)之间的最大(0.142)。聚类结果表明,在距离系数约为 0.064 的水平上 12 种忍冬科植物可划分为 5 个类群,该聚类结果与依据形态特

征的传统分类学结果一致。其中,七子花属在约为 0.070 的距离水平上首先与忍冬族(*Caprifolieae*)的忍冬属聚在一起,随即在 0.072 的距离水平上与北极花族(*Linnaeae*)的六道木属聚(*Abelia*)为一大组,这说明七子花属与忍冬族和北极花族的关系都比较接近。接骨木属则直到在 0.096 的距离水平上才与其他属聚在一起,并未表现出和英蒴属有较强的相似性关系。

Table 2 Distance among 12 taxa according to the Euclidean distance coefficient

	LD1	LD2	QZ	RD1	RD2	RD3	JG1	JG2	JM1	JM2	JM3	JM4
LD1	0											
LD2	0.045	0										
QZ	0.092	0.071	0									
RD1	0.105	0.082	0.071	0								
RD2	0.101	0.084	0.074	0.033	0							
RD3	0.116	0.089	0.069	0.049	0.043	0						
JG1	0.138	0.117	0.124	0.135	0.135	0.124	0					
JG2	0.130	0.109	0.114	0.123	0.125	0.113	0.027	0				
JM1	0.095	0.109	0.128	0.139	0.129	0.142	0.134	0.127	0			
JM2	0.088	0.094	0.114	0.124	0.116	0.125	0.100	0.096	0.050	0		
JM3	0.096	0.11	0.126	0.128	0.119	0.131	0.130	0.123	0.050	0.047	0	
JM4	0.098	0.105	0.115	0.116	0.112	0.125	0.142	0.131	0.061	0.072	0.060	0

Table 3 Infrared spectrum variance proportion and cumulative variance proportion of the first three principal coordinates

Principal coordinates	Extraction: principal coordinates analysis			
	Eigenvalue	Variance/ %	Cumulative eigenvalue	Cumulative variance/ %
1	0.027	43.21	0.027	43.21
2	0.020	31.51	0.047	74.72
3	0.008	12.69	0.055	87.31

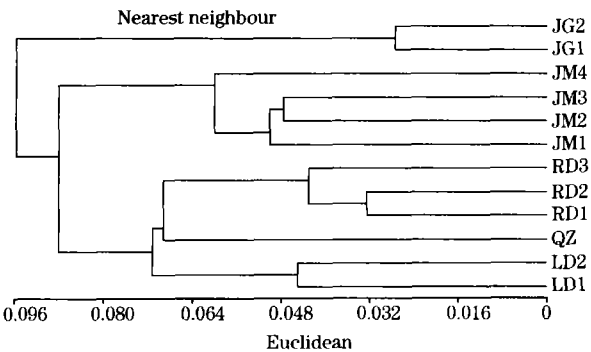


Fig. 4 Dendrogram of FTIR spectra of the twelve species in Caprifoliaceae based on Euclidean distance index

2.2.2 排序分析

应用排序分析中的主坐标法得到表征忍冬科 12 种植物系统关系的三维排序图(表 3,图 5)。主坐标分析中坐标轴的特征根和方差贡献率是选择主坐标的依据。从表 3 可见,第一主坐标的方差贡献率为 43.21%,是最重要的坐标,前 3 个主坐标的累积方差贡献率为 87.31%,表示前 3 个主坐标可表达全部信息的 87.31%,而有 12.69%的信息丢失,所以

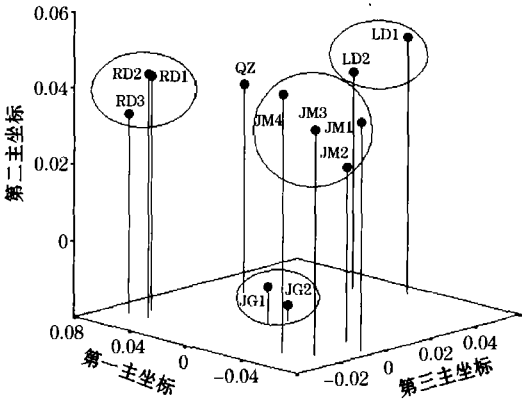


Fig. 5 Three-dimensional plot of FTIR spectra of the twelve species in Caprifoliaceae based on PCO

前 3 个主坐标基本可以显示出植物间的相似性关系。排序图大体可把这 12 种植物划分为 5 组,与上文的聚类结果基本一致。与聚类图相比,三维排序图能更直观地体现出研究对象间相互关系,但缺点是难以在各距离水平上对对象进行准确的划归。如在排序图中,七子花属与六道木属、忍冬属和接骨木属的关系似乎都比较相近,甚至从第三主坐标上看,七子花属与接骨木属的相似性更强,仅靠排序图难以对七子

花属的系统位置进行准确的划分,所以参考聚类分析的结果还是非常必要的。

3 讨论

3.1 七子花属的系统地位探讨

对七子花属系统地位的争议存在已久, Rehder 在发表七子花属时就指出, 该属的形态特征与忍冬族和北极花族都有各自的相似之处。Metcalf^[10] 根据对叶和木材的解剖研究结果, 认为应该把七子花属归入忍冬族内, 后来 Donoghue^[11] 相关研究也均将其归入忍冬族。但是徐炳声^[12] 根据数值统计法对忍冬科各属间关系的研究显示七子花属应归入北极花族, Takhtajan^[13] 和汤彦承等^[14] 也都赞成徐炳声的观点。最近, Zhang 等^[15] 在利用叶绿体 trnL-F 和 ndhF 序列研究川续目(Dipsacales)内植物的系统起源时发现, 七子花属与忍冬族和北极花族的遗传距离都比较接近。本研究结果显示, 七子花属首先与忍冬族的忍冬属聚在一起, 随即该聚类组与北极花族的六道木属聚在一起, 说明七子花属与忍冬族和北极花族的关系都比较密切, 并不能硬性地七子花属归入忍冬

族或者北极花族。这表明七子花属应在一定程度上联系着忍冬族和北极花族, 在系统演化中处于一种过渡状态, 这可能也是七子花属的系统地位一直不能完全明确的主要原因。

3.2 接骨木属和英蒾属的系统地位探讨

Dahlgren^[16] 研究认为接骨木属和英蒾属应从忍冬科中独立出来成立接骨木科(Sambucaceae)和英蒾科(Viburnaceae)。Wilkinson^[17] 根据接骨木属和英蒾属花部的解剖结构彼此相似这一点, 认为两者是科内最相近的, 并提出了忍冬科的接骨木属——英蒾属类群可能起源于原始的山茱萸科复合群(Cornaceous complex)。孢粉学的研究发现, 接骨木属和英蒾属的花粉大小明显比其他属偏小, 显示两者具有一定的相似性^[18]。徐炳声应用数值统计法对忍冬科各属间系统关系的研究也发现, 接骨木属和英蒾属之间的相似性远远超过它们同忍冬科其他属之间的关系。但是 Bohm 等^[19] 关于忍冬科化学分类的研究不支持把接骨木属独立出来成立新科, 后来增令杰等^[20] 的研究也验证了 Bohm 等的结论。从本文的研究结果看, 接骨木属和英蒾属之间并未表现出较强的相似性, 同时这两属与忍冬科其他属间的距离关系并不远, 所以支持将接骨木属和英蒾属归入忍冬科这一现行的分类方法。

参 考 文 献

- [1] Muller J. Botany Review, 1981, 47(4): 1.
- [2] Griffiths P R, de Haseth J A. Fourier Transform Infrared Spectroscopy. New York: Wiley-Interscience. 1986.
- [3] CHENG Cun-gui, RU AN Yong-ming, LI Bing-lan(程存归, 阮永明, 李冰岚). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2004, 24(11): 1355.
- [4] CHENG Cun-gui, SU N Cui-rong, PAN Yuan-jiang(程存归, 孙翠荣, 潘远江). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2004, 24(9): 1055.
- [5] CHENG Cun-gui, SHI Hong-qi, ZHU Xiao-jun, et al(程存归, 施红旗, 朱晓军, 等). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2004, 24(11): 1342.
- [6] HONG Qing-hong, LI Dan-ting, HAO Chao-yun(洪庆红, 李丹婷, 郝朝运). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2005, 25(8): 1246.
- [7] WANG Si-hong, YIN Qi-fan, FAN Yan-ling, et al(王思宏, 尹起范, 范艳玲, 等). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2004, 24(8): 957.
- [8] Kim S W, Ban S H, Cho S, et al. Plant Cell Rep, 2004, 23: 246.
- [9] GUO Shui-liang, LI Pei-ling, FANG Fang, et al(郭水良, 李佩玲, 方芳, 等). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2005, 25(5): 693.
- [10] Metcalfe R. Kew Bulletin, 1952, 247.
- [11] Donoghue M J. Ecology, 1983, 79: 969.
- [12] XU Bing-sheng(徐炳声). Acta Phytotaxonomica Sinica(植物分类学报), 1983, 21(1): 26.
- [13] Takhtajan A L. Systema Magnoliophytorum. Leningrad: Nauka, 1987. 79.
- [14] TANG Yan-cheng, LI Liang-qian(汤彦承, 李良千). Acta Phytotaxonomica Sinica(植物分类学报), 1994, 32(3): 197.
- [15] Zhang W H, Chen Z D, Li J, et al. Molecular Phylogenetics and Evolution, 2003, 26: 176.
- [16] Dahlgren R M T. Botanical Journal of the Linnean Society, 1980, 80: 91.
- [17] Wilkinson A M. American Journal of Botany, 1949, 36: 481.
- [18] Section of Palynology of Botany Institute of Chinese Academy of Sciences(中国科学院植物研究所形态室孢粉组). Pollen Morphology of Chinese Plants(中国植物花粉形态). Beijing: Science Press(北京: 科学出版社), 1960.
- [19] Bohm B A, Glennie C W. Canadian Journal of Botany, 1971, 49: 1799.
- [20] ZENG Ling-jie, XING Jun-bo, LI Ping(增令杰, 邢俊波, 李萍). China Journal of Chinese Materia Medica(中国中药杂志), 2000, 25(3): 184.

The Applications of Fourier Transform Infrared Spectroscopy in Resolving Some Taxonomic Doubts of Caprifoliaceae

HAO Chao-yun, CHENG Cun-gui, LIU Peng*

Department of Biological Science, Zhejiang Normal University, Jinhua 321004, China

Abstract Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) provides biochemical profiles containing overlapping signals from a majority of the compounds that are present when whole samples are analyzed. The spectra of the xylem of 112 samples belonging to 12 species and 5 genera in Caprifoliaceae were determined directly with FTIR spectrometry and OMNI-sampler. Based on the indices of wave number-absorbance, the phylogenetic relationships of the 12 species were analyzed by the methods of principal coordinate analysis (PCO) and cluster analysis. The results showed that the infrared spectra of the 12 plant species are fingerprint-like patterns which are highly typical for different taxa. Genus *Heptacodium* has close relation with the tribe Linnaeae, and Lonicereae, showing that its systematic position is probably located between the two tribes. There is no obvious difference between *Viburnum* and *Sambucus*, so the authors thought it would be better to put the two genera in Caprifoliaceae. Therefore, the infrared spectra are of taxonomic value at the level of species and genera, and this technique could be widely used for identification and classification of other taxa when standard spectra are available.

Keywords FTIR; cluster analysis; Principal coordinate analysis; Phylogenetic relationship; Caprifoliaceae

(Received Nov. 7, 2005; accepted Mar. 8, 2006)

* Corresponding author