

印楝种子品质性状的遗传多样性及稳定性分析

彭兴民, 吴疆翀, 王有琼, 郑益兴, 马李一, 张燕平

(中国林业科学研究院资源昆虫研究所, 云南 昆明 650224)

摘要:在云南印楝资源全面调查的基础上,以实生株系的种子为研究对象,运用 HPLC 技术分析种子印楝素组分含量,采用描述统计、方差分析、系统聚类和重复力估计,定性、定量分析印楝实生株系种子品质的遗传多样性及稳定性。结果表明:云南引种栽培印楝实生株系的种子品质存在广泛变异,种子印楝素 A、B、AB 含量和印楝素 A 与印楝素 B 含量比的变异幅度分别为 0.28%~0.85%、0.04%~0.39%、0.37%~1.15% 和 1.69~8.25;种子印楝素 A、B、AB 含量分为 3 个类型:高含量型($azA \geq 0.69\%$ 、 $azB \geq 0.25\%$ 、 $azAB \geq 0.92\%$)、低含量型($azA \leq 0.44\%$ 、 $azB \leq 0.10\%$ 、 $azAB \leq 0.51\%$)和中等含量型($azA = 0.68\% \sim 0.45\%$ 、 $azB = 0.24\% \sim 0.11\%$ 、 $azAB = 0.91\% \sim 0.52\%$);按此标准将高印楝素 AB 含量型分为“印楝素 AB 优异型($azAB \geq 1.15\%$)”、“印楝素 A 优、B 劣型”($azA \geq 0.85\%$ 、 $azB \leq 0.21\%$)、“印楝素 A 劣、B 优型”($azA \leq 0.67\%$ 、 $azB \geq 0.39\%$)和“印楝素 AB 含量高型”($azAB = 1.05\% \sim 0.92\%$);反映在重复力上,印楝实生株系种子印楝素 A、AB 的重复力分别为 0.206 3、0.325 2,都属于“中”重复力性状。“印楝素 AB 优异型”即具有优异种子品质性状的植株是印楝药用原料林培育的繁殖材料;“印楝素 A 优、B 劣型”和“印楝素 A 劣、B 优型”即种子品质性状优缺点互补的植株是药用印楝品质育种的杂交亲本。

关键词:印楝;遗传资源;印楝素;遗传多样性;重复力

中图分类号:Q946.8 S722.5

文献标识码:A

Genetic Diversity and Stability of *Azadirachta indica* Seed Quality Characters

PENG Xing-min, WU Jiang-chong, WANG You-qiong, ZHENG Yi-xing, MA Li-yi, ZHANG Yan-ping

(Research Institute of Resource Insects, Chinese Academy of Forestry, Kunming 650224, Yunnan, China)

Abstract: Based on fully investigation of neem resources in Yunnan, the azadirachtin content of seedling colonies were tested by HPLC. The genetic diversity and stability of *Azadirachta indica* seed quality characters were qualitatively and quantitatively analyzed by means of descriptive statistics, ANOVA, hierarchical clustering, and repeatability estimation. The results showed that: ① The seed quality varied in a wide range, with variation of azadirachtin A, azadirachtin B, azadirachtin A&B, and ratio of azadirachtin A to B as 0.28%~0.85%, 0.04%~0.39%, 0.37%~1.15% and 1.69~8.25, respectively. ② The azadirachtin content of seeds could be divided into three types: High ($azA \geq 0.69\%$, $azB \geq 0.25\%$, and $azAB \geq 0.92\%$), Low ($azA \leq 0.44\%$, $azB \leq 0.10\%$, and $azAB \leq 0.51\%$), and Medium ($azA = 0.68\% \sim 0.45\%$, $azB = 0.24\% \sim 0.11\%$, and $azAB = 0.91\% \sim 0.52\%$). The type “High” could be further divided into “Superior azA&B ($azAB \geq 1.15\%$)”, “Superior azA with poor azB ($azA \geq 0.85\%$, $azB \leq 0.21\%$)”, “Superior azB with poor azA ($azA \leq 0.67\%$, $azB \geq 0.39\%$)”, and “High

收稿日期: 2015-08-03

基金项目: 国家“十一·五”科技支撑计划项目(2006BAD18B0302);国家“十二·五”科技支撑计划项目(2012BAD21B04) 和国家自然科学基金(31270710)

作者简介: 彭兴民(1962—),高级工程师,主要研究方向:植物引种、种质创新与新品种选育. E-mail: penggong007@21cn.com

azA&B (azAB = 1.05% ~ 0.92%)”。③ The repeatability of azA and azAB were 0.206 3 and 0.325 2 respectively, with a “medium” repeatability. ④ The seeds of type “Superior azA&B” were the ideal materials for officinal neem breeding, and the type “Superior azA with poor azB” and “Superior azB with poor azA” could be cross parents in further officinal neem breeding to provide potential complementary.

Key words: *Azadirachta indica*; genetic resources; azadirachtin; genetic diversity; repeatability

印楝(*Azadirachta indica* A. Juss.)为楝科(Meliaceae)常绿乔木^[1]。我国引种印楝资源丰富,主要分布于云南、四川、广东和海南等省,云南印楝的面积最大,达1.00万 hm^2 ^[2],是印楝品质育种的珍贵基因库。近年来,由于市政工程建设破坏、农业产业结构调整的毁林和自然死亡等因素导致印楝人工林面积逐年减少,遗传资源的安全性受到威胁。因此,进一步开展印楝遗传多样性的评价及利用研究,对这一宝贵资源的科学保护与持续利用具有重要意义。

迄今为止,从印楝种仁、叶、果实、树皮、根等不同部位分离和鉴定出来的化合物超过300个,包括:萜类、硫化物、多酚(黄酮及其甙)、香豆素、单宁、脂肪酸、碳氢化合物(多糖)、蛋白质(氨基酸)等多种化合物类型,这些化合物中绝大多数具有重要的生物活性。萜类化合物是最重要的成分,有百余种之多,随着科学研究的深入,仍不断有新的成分被分离出来,较为主要的是四环三萜的印楝素(azadirachtin,简称为az),分子式为 $\text{C}_{35}\text{H}_{44}\text{O}_{16}$ ^[3]。印楝素有多个结构相近的类似物,它们被称为azadirachtin A、B、D、E、F、G、H、I、K、L、M、O、P、Q等活性成分;azadirachtin A (azA)和azadirachtin B (azB)是印楝素中的主要活性成分^[4]。印楝素的形成和积累通常有种属^[5-7]、种源或群体^[8-11]、个体^[12-15]、器官^[16-17]和生长发育期^[18-19]的特异性。获取印楝种子,确切地说是种子内的次生代谢物质——印楝素,是印楝栽培的主要目的之一。目前,印楝素的总含量即azA与azB之和(azadirachtin A B, azAB)是评定印楝种子品质优劣的主要指标^[20-21]。关于引种印楝实生株系种子印楝素组分含量遗传多样性的系统研究,鲜见报道。本研究以云南引种印楝233株实生株系的种子为试材,从种子印楝素组分含量方面探讨了印楝实生株系种子品质的遗传多样性及稳定性,旨在为印楝种质资源的保护与利用提供理论依据,并为药用印楝品质育种提供性状优异的育种材料。

1 材料与方 法

1.1 材 料

研究对象为药用印楝表型选择的候选优树、优势木和平均木,共233株,取样方法见文献[15]。供选对象包括2000年以前定植的全部种源试验林,以及各级政府、企业营建的示范林和集中连片、面积较大的生态林,包括云南的元谋、元江、红河、元阳、建水、个旧市等县(市)的干热河谷地区,共选元谋县的元马镇、黄瓜园镇、老城乡、物茂乡,元江县的澧江镇,红河县的迤萨镇,元阳县的南沙镇、马街乡、上新城乡,建水县的坡头乡,以及个旧市的曼耗镇、保和乡等12个乡(镇)31个选优样区,选优样区基本情况如表1。

果实成熟中期,10:00时,在树冠南面的中部人工采集样品;分株等量采收样品,每份样品300粒·株⁻¹;过熟果(果皮变黄)不采,只采青色果,采下青色果存放2d,拣变黄变软的果实调制,青色、硬果除去;人工清洗,自然风干。18株高印楝素含量植株(azAB > 0.92%)及其对照(平均木)共25株,重复收集3年(2006年、2007年、2013年)。

1.2 方 法

采用宗乾收等^[22]提出的“印楝种仁中印楝素含量的快速液相色谱分析”法分析种子azA和azB含量。azA和azB的结构如图1。绘制印楝At0515种子印楝素组分的HPLC检测图 and 对应标准曲线(图2);计算azA和azB总含量(azAB)、azA与azB含量比(azadirachtin A B ratio, azABratio)。

1.3 数 据 统 计 分 析

运用SAS 9.0 system for windows (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.)软件进行样本数据描述统计量的计算、频率分布直方图编制及正态性检验即Kolmogorov-Smirnov test (K-S检验法),以及高印楝素含量种质印楝素组分含量的方差分析^[23];重复力计算参照续九如的公式^[24]。采用NTSYS PC 2.11e软件(Applied Biostatistics Inc., Setauket, USA)^[25]计

表 1 印楝选优样区概况

选优样区	种源或产地	种植时间/年	海拔/m	经度/N	纬度/E	选择时间	样地数/个
元谋宜林种源试验林(1)	推荐种源 ¹	1998	1 326	101°49'	25°57'	2001.9.18	4
元谋黄瓜园雷布村示范林(2)	缅甸种源 ²	2000	1 300	101°47'	25°56'	2001.9.17	1
元谋雷达连种源试验林(3)	印度种源	1999	1 318	101°43'	25°44'	2001.9.17	4
元谋万星公司种源试验林(4)	推荐种源 ²	1999、2000	1 198	101°51'	25°42'	2001.9.18	8
元谋万星公司示范林 I (5)	缅甸种源 ²	2000	1 194	101°51'	25°40'	2004.9.26	2
元谋万星公司示范林 II (6)	缅甸种源 ³	2001	1 192	101°51'	25°41'	2007.9.21	1
元谋万星公司示范林 III (7)	缅甸种源 ²	2003	1 106	101°49'	25°51'	2007.9.21	1
元谋南门山示范林(8)	缅甸种源 ¹	1999	1 325	101°53'	25°37'	2005.9.05	2
元谋小丙令示范林(9)	缅甸种源 ²	2003	1 135	101°51'	25°48'	2004.9.26	2
元谋物茂子元公司林地(10)	缅甸种源 ²	2004	1 106	101°49'	25°57'	2007.9.21	3
元江昆虫所站内种源试验林(11)	印度种源	1996	406	101°59'	23°36'	1999.7.18	4
元江县林业局果木林场种源试验林(12)	推荐种源 ³	1998、1999	428	101°59'	23°35'	2001.7.22	8
元江大明庵种源试验林(13)	推荐种源 ⁴	2000	486	101°57'	23°34'	2001.7.22	6
红河大黑公示范林 I (14)	缅甸种源 ²	2002	553	102°34'	23°19'	2005.8.26	2
红河大黑公示范林 II (15)	缅甸种源 ²	2002	553	102°36'	23°17'	2005.8.26	2
红河勐龙行道树(16)	缅甸种源 ²	2002	502	102°24'	23°21'	2007.8.23	2
元阳坡脑村示范林 I (山顶)(17)	缅甸种源 ²	2000	426	102°38'	23°18'	2004.8.14	2
元阳坡脑村示范林 II (山腰)(18)	缅甸种源 ²	2000	412	102°38'	23°18'	2004.8.14	2
元阳坡脑村示范林 III (山脚)(19)	缅甸种源 ²	2000	406	102°38'	23°18'	2004.8.14	2
元阳攀枝花村示范林(20)	缅甸种源 ²	2000	426	102°38'	23°18'	2005.8.23	4
元阳南沙镇州长样板林(21)	印度种源	2003	222	102°50'	23°13'	2005.8.25	2
元阳风口山示范林 I - 上(22)	缅甸种源 ²	2003	341	103°00'	23°10'	2007.8.25	1
元阳风口山示范林 II - 下(23)	缅甸种源 ²	2003	325	103°00'	23°10'	2007.8.25	1
元阳蛮堤村光明公司生态经济林(24)	缅甸种源 ²	2003	197	103°03'	23°08'	2007.8.22	4
元阳呼山 1 号村(25)	缅甸种源 ²	2002	422	102°41'	23°23'	2006.8.05	1
建水阿土村行道树 I (26)	缅甸种源 ²	2003	220	102°52'	23°13'	2005.8.25	2
建水阿土村行道树 II (27)	缅甸种源 ²	2003	222	102°52'	23°14'	2007.8.21	2
个旧冷墩行道树 I (28)	缅甸种源 ²	2003	223	102°55'	23°12'	2005.8.25	2
个旧冷墩行道树 II (29)	缅甸种源 ²	2003	220	102°55'	23°13'	2006.8.05	3
个旧黄草坝子元公司生态经济林 I (30)	缅甸种源 ²	2004	256	103°11'	23°06'	2007.8.22	1
个旧黄草坝子元公司生态经济林 II (31)	缅甸种源 ²	2004	251	103°13'	23°07'	2007.8.22	1

注:世界印楝组织推荐种源^{1,2,3,4}分别为:MYA/Mon、MYA/Yez、MYA/Man、SEN/Ban; ND/Man、IND/Kal、IND/Kul、IND/New、MYA/Sal、MYA/Sas、MYA/Bag、MYA/Yei; MYA/Mon、MYA/Yez、MYA/Man、SEN/Ban、THA/Tun、THA/Non、IND/Man、IND/Kal 和 THA/Non、MYA/Sal、MYA/Sas、MYA/Bag、MYA/Yei、NEP/Lam。印度种源为 Mandore India, Kalyani India, Kulapachta India, New Delhi India。缅甸种源^{1,2,3,4}分别为: Sagaing, Myanmar; Magway, Myanmar; Mandalay, Myanmar; Bago, Myanmar。

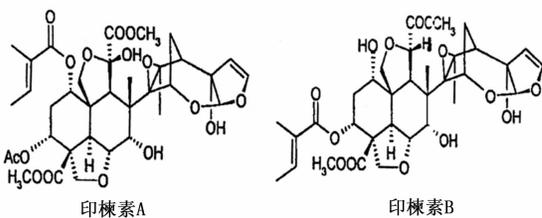


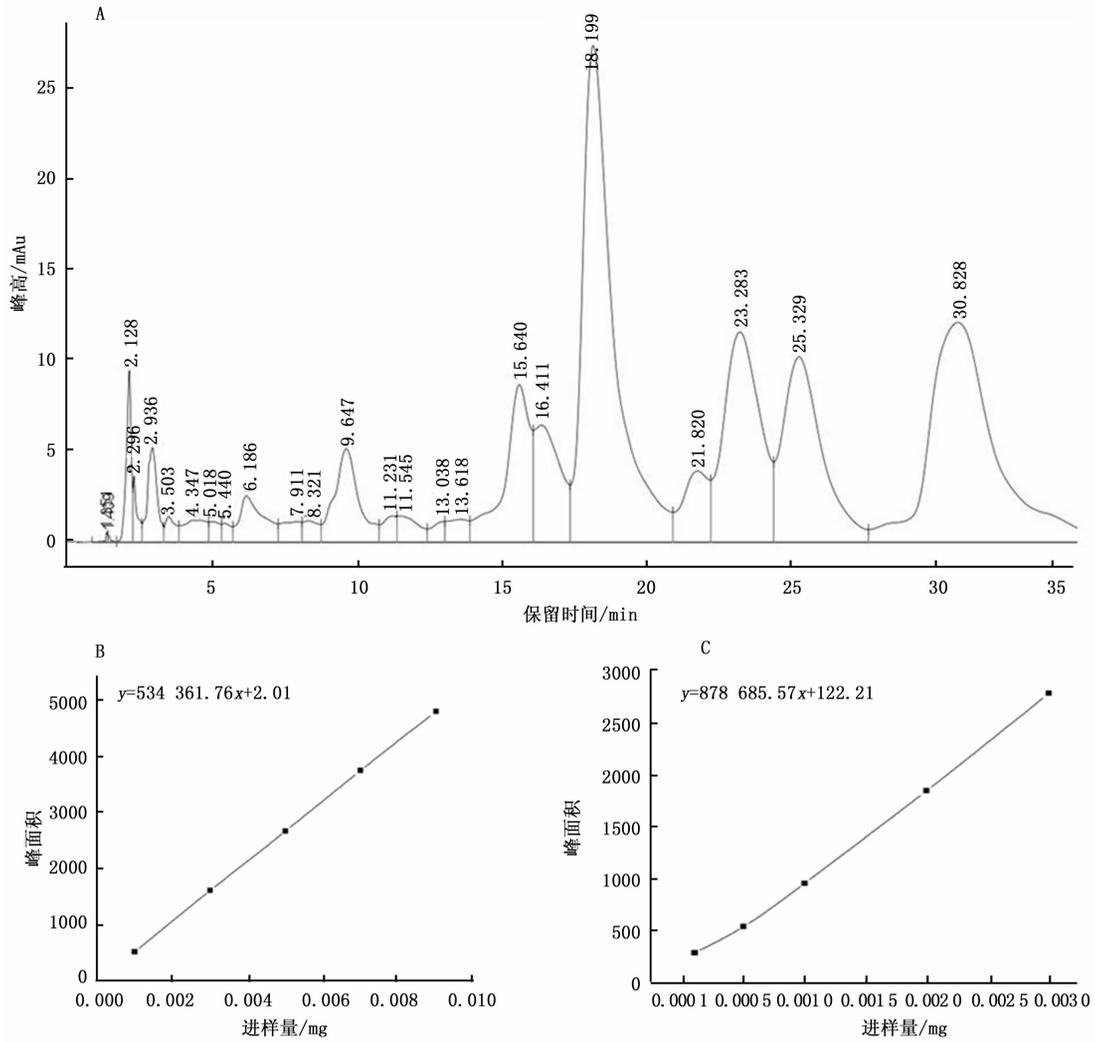
图 1 印楝素 A 和印楝素 B 的结构

算高印楝素含量种质 DIST 距离系数,并用 UPGMA 聚类算法进行系统聚类,最后用 Mantel 检测分析高印楝素含量种质种子印楝素组分含量的空间距离

(cophenetic values) 和距离矩阵 (distance matrix) 间的同表象相关性,以验证聚类是否能有效表示高印楝素含量种质的相似(异)性。用于方差分析的数据经隶属函数法转换,转换公式^[20]:

$$U_{in} = \frac{X_{in} - X_{imin}}{X_{imax} - X_{imin}}$$

式中, U_{in} 指第 n 个性状第 i 个指标的原始数据经转换后的隶属函数值; X_{in} 指第 n 个性状第 i 个指标的原始测定结果; X_{imax} 和 X_{imin} 分别指性状组中第 i 个指标的最大和最小值。



(A) 为 Ai0515 印楝素主要组分 HPLC 色谱图; (B) 为印楝素 A 标准曲线; (C) 为印楝素 B 标准曲线

图 2 印楝素主要组分色谱图及对应标准曲线

2 结果与分析

2.1 印楝实生株系种子印楝素组分含量的遗传多样性

233 株印楝实生株系种子印楝素组分含量的描述统计量的计算结果显示(表 2), 233 株种子印楝素

A、印楝素 B、印楝素 AB 含量和印楝素 A 与印楝素 B 含量比的变异幅度分别为 0.28% ~ 0.85%、0.04% ~ 0.39%、0.37% ~ 1.15% 和 1.69 ~ 8.25, 个体间差异分别为 3.04、9.75、3.11 和 4.88 倍, 证明印楝实生株系种子印楝素组分含量变异较大。

表 2 印楝素组分含量样本分布情况

测量指标	样本容量	最小值/%	最大值/%	极差	均数/%	标准偏差	偏度	峰度	95% 置信区间下限、上限
azA	233	0.28	0.85	0.57	0.55	0.104	0.109	-0.043	0.54, 0.56
azB	233	0.04	0.39	0.35	0.12	0.040	0.617	0.945	0.16, 0.17
azAB	233	0.37	1.15	0.78	0.71	0.146	0.166	-0.019	0.69, 0.73
azABratio	233	1.69	8.25	6.56	4.33	1.581	1.074	1.194	3.53, 3.83

注: azB、azABratio 的位置度量为中位数, 变异度量为四方位距。

233 株种子印楝素组分含量的分布基本上呈正态分布(图 3 A、B、C、D), 即极端类型的个体少, 中间类型的个体多。K-S 检验结果: 印楝素 A 含量的

Kolmogorov-Smirnov 统计量 $D = 0.057, Pr = 0.060$ (图 3 A); 印楝素 AB 含量的 $D = 0.043, Pr > 0.150$ (图 3 C); 印楝素 A、AB 含量的 $Pr > D$, 说明样本数

据服从正态分布。印楝素 B 含量的 $D=0.083, Pr < 0.010, Pr < D$ (图 3 B); 印楝素 ABratio 的 $D =$

$0.091, Pr < 0.010$ (图 3 D), 印楝素 B、ABratio 的 $Pr < D$, 说明样本数据不服从正态分布。

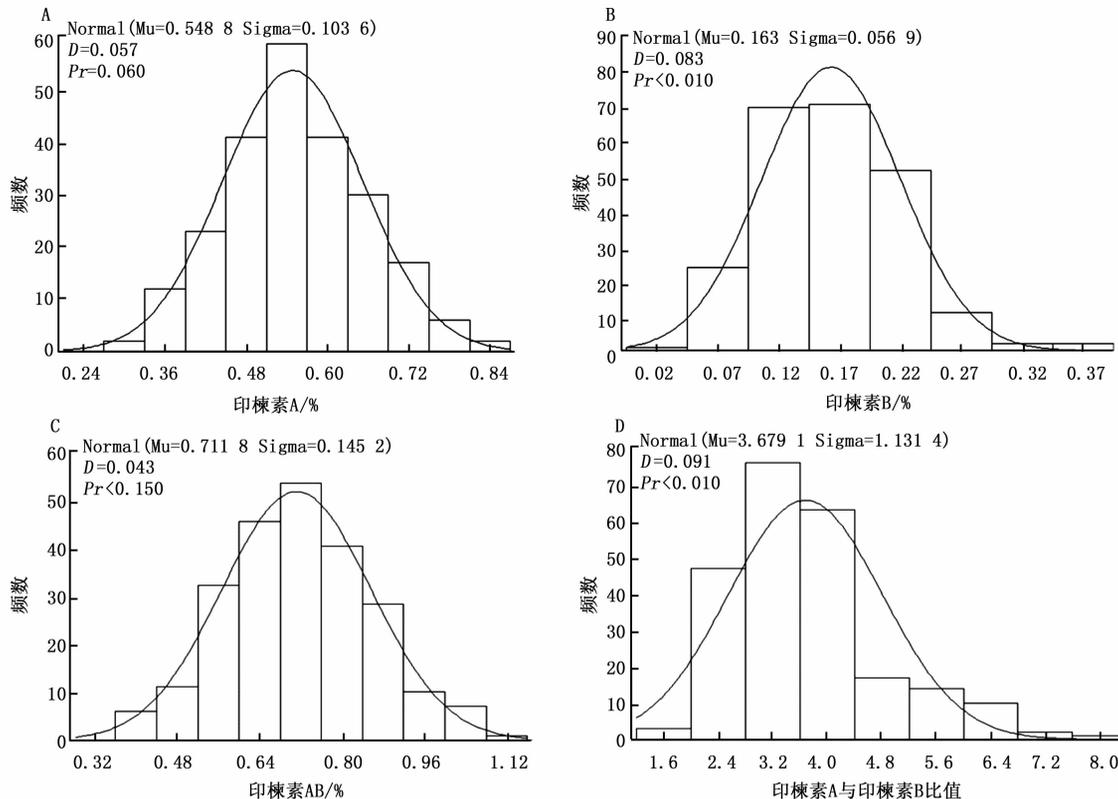


图 3 印楝素主要组分的直方图和正态拟合曲线

从偏度看,印楝素组分含量性状都呈正偏态。从峰度看,印楝素 B 和印楝素 ABratio > 0 , 表示数据中含有较多远离均值的极端值;印楝素 A 和印楝素 AB < 0 , 表示均值两侧的极端值较少。极端值的多少暗示种子品质性状的选择潜力,极端值多,表示选择潜力大,极端值少,则相反。印楝素 B 的极端值多,暗示印楝素 B 的选择潜力大;印楝素 A 和印楝素 AB 的极端值少,暗示印楝素 A 和印楝素 AB 的选择潜力较小。

2.2 印楝实生株系种子印楝素组分含量变异的类型

根据印楝素 A、B、AB 含量的分布,将 223 株印

楝素组分含量性状分为 3 类:高含量型 ($azA \geq 0.69\%、azB \geq 0.25\%、azAB \geq 0.92\%$)、低含量型 ($azA \leq 0.44\%、azB \leq 0.10\%、azAB \leq 0.51\%$) 和中等含量型 ($azA = 0.68\% \sim 0.45\%、azB = 0.24\% \sim 0.11\%、azAB = 0.91\% \sim 0.52\%$) (表 3)。按此标准, Ld0505、Ww0401、Ww0421、Ld0511、At0515、Dhg0507、Ww0418、Zz0501、Ld0506、Pzh0513、Ld0509、Ww0411、Dhg0506、Ww0402、Nms0509、Ld0507、Ld0513、At0517 共 18 株为高印楝素 AB 含量植株。

表 3 223 株种子印楝素组分含量变异的类型

性状	总样本数	高含量型			中等含量型			低含量型		
		变幅/%	平均值/%	样本数	变幅/%	平均值/%	样本数	变幅/%	平均值/%	样本数
azA	233	0.85 ~ 0.69	0.73	25	0.68 ~ 0.45	0.56	171	0.44 ~ 0.28	0.39	37
azB	233	0.39 ~ 0.25	0.28	15	0.24 ~ 0.11	0.17	183	0.10 ~ 0.04	0.08	35
azAB	233	1.15 ~ 0.92	1.00	18	0.91 ~ 0.52	0.71	198	0.51 ~ 0.37	0.44	17

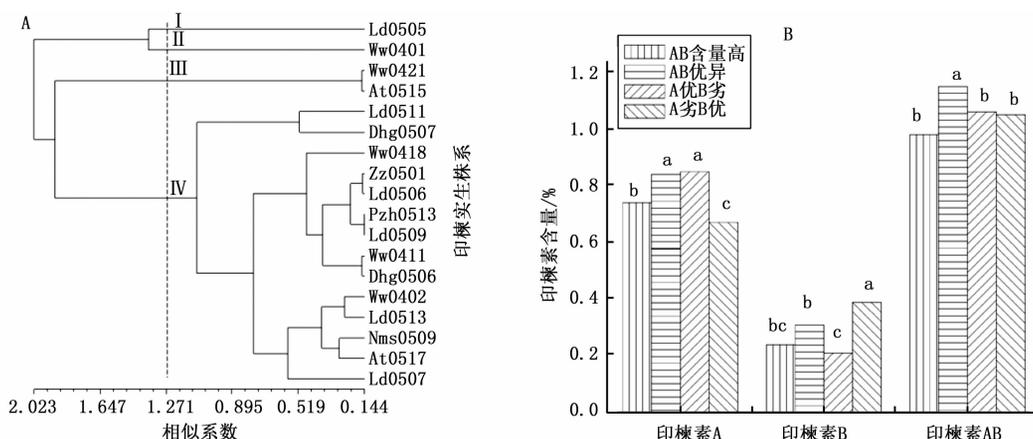
在 18 株高印楝素 AB 含量 ($azAB > 0.92\%$) 植株中,按高印楝素 A 含量型 ($azA > 0.69\%$) 和高印楝素 B 含量型 ($azB > 0.25\%$) 标准,将高印楝素 AB 含量植株又再分为“印楝素 AB 优异型”、“印楝素 A

优、B 劣型”、“印楝素 A 劣、B 优型”和“印楝素 AB 含量高型”: Ld0505 (I 类) 为印楝素 AB 优异型; Ww0401 (II 类) 为印楝素 A 优、B 劣型; Ww0421、At0515 (III 类) 为印楝素 A 劣、B 优型; 其余植株 (IV

类)为“印楝素 AB 含量高型”(图 4 A)。

“印楝素 AB 优异型”、“印楝素 A 优、B 劣型”、“印楝素 A 劣、B 优型”和“印楝素 AB 含量高型”间印楝素组分含量平均值的差异显著性见图 4 B。“印楝素 AB 优异型”的种子印楝素 AB 含量、“印楝

素 A 优、B 劣型”的印楝素 A 含量和“印楝素 A 劣、B 优型”的印楝素 B 含量较其它种质的差异显著($p < 0.05$),表明 3 类种质种子印楝素组分含量的优异性真实存在。



A 为基于高印楝素含量种质印楝素组分含量的聚类;B 为基于 4 类高印楝素含量种质印楝素组分含量的差异比较(a、b、c, Duncan Grouping 表示值,字母相同者为差异不显著($p > 0.05$),字母不同者为差异显著($p < 0.05$))。

图 4 基于高印楝素含量种质印楝素组分含量的聚类 and 差异比较(Mantel 检测, $r = 0.89153$, $p = 1.0000$)

2.3 印楝实生株系种子印楝素组分含量的稳定性

18 株高印楝素含量植株及其对照种子印楝素组分含量的方差分析如表 4。印楝株间印楝素 A、AB 差异显著($p < 0.05$),而印楝素 B 差异不显著($p > 0.05$);印楝株间印楝素 A、AB 的决定系数分别达 0.459 5、0.539 9,即可解释的模型效应为 50% 左右,说明试验结果基本可靠。反映在重复力上,印楝株系种子印楝素 A、AB 的重复力分别为 0.206 3、0.325 2,都属于“中”重复力性状。表明在印楝素 A、AB 含量的总体变异中,分别约 1/5 和 1/3 变异与遗传差异有关,约 4/5 和 2/3 变异与环境因子的差

别有关,或者说在印楝人工林种子印楝素 A、AB 含量的总体变异中,印楝素 A、AB 含量变异的 1/5 和 1/3 是由人工林中株间的遗传差异造成的,其余 4/5 和 2/3 由人工林中株间的环境差异造成的。说明印楝人工林株间种子印楝素 A、AB 含量的差异受遗传效应、特殊环境效应和永久环境效应影响。参照续九如^[21]的多次测定时准确度增进图,准确度增进曲线要到 K 值为 10~12 次才趋于缓和。也就是说,要获得印楝种子品质的准确度量值,应该连续观测 10~12 年才比较可靠。

表 4 18 株高印楝素含量植株及其对照种子印楝素组分含量的方差分析

性状	方差来源	自由度	离差平方和	均方	F 值	Pr > F	决定系数	重复力
azA	个体间	24	0.252 3	0.010 5	1.77	0.044 3	0.459 5	0.206 3
	个体内	50	0.296 7	0.005 9				
	总和	74	0.549 0					
azB	个体间	24	0.063 4	0.002 6	0.88	0.619 3	0.297 9	-
	个体内	50	0.149 4	0.002 9				
	总和	74	0.212 9					
azAB	个体间	24	0.435 1	0.018 1	2.45	0.003 8	0.539 9	0.325 2
	个体内	50	0.370 7	0.007 4				
	总和	74	0.805 8					

3 结论与讨论

3.1 印楝实生株系种子品质的遗传多样性

印楝资源遗传多样性方面的研究是印楝种质保

护与利用的重要基础,近几年已取得了一定进展。Kundu^[26]等位酶标记实验结果表明,印楝居群的遗传多样性水平较高($p = 93.78\%$ 、 $H_e = 0.34$);彭兴民等^[27]表型变异研究结果证实,印楝实生种群间

的表型分化系数 $V_{ST} = 0.1188$,表明种群间的表型分化程度高。本研究结果表明,云南引种栽培印楝实生株系种子品质性状存在广泛变异,种子印楝素 A、B、AB 含量和印楝素 A 与印楝素 B 含量比的变异幅度分别为 0.28%~0.85%、0.04%~0.39%、0.37%~1.15% 和 1.69~8.25,个体间差异分别为 3.04、9.75、3.11 和 4.88 倍;按种子印楝素 A、B、AB 含量的分布,将种子印楝素 A、B、AB 含量性状分为高含量型、低含量型和中等含量型 3 类;按印楝素组分含量划分标准,在高印楝素 AB 含量型植株中,将高印楝素 AB 含量植株分为“印楝素 AB 优异型”、“印楝素 A 优、B 劣型”、“印楝素 A 劣、B 优型”和“印楝素 AB 含量高型” 4 类。

3.2 印楝实生株系种子品质的稳定性

重复力作为一个重要的遗传参数,被称为“在数量性状中最容易估计,而且最迫切的头一个参数”。其主要用途之一是可以作为广义遗传力的上限估计值^[24]。不同生物性状的遗传率不相同,至于遗传率达到什么程度算高还是算低,并没有一个统计的标准,不过一般认为:高遗传率 > 50%,中遗传率 = 50%~20%,低遗传率 < 20%^[28]。印楝素 A 和印楝素 AB 的广义遗传力(重复力)分别为 0.2063、0.3252,都属于“中”重复力性状。表明在印楝人工林种子印楝素 A、AB 含量的总体变异中,印楝素 A、AB 含量变异的 1/5 和 1/3 是由人工林中株间的遗传差异造成,其余 4/5 和 2/3 由人工林中株间的环境差异造成。说明印楝人工林株间种子印楝素 A、AB 含量的差异受遗传效应、特殊环境效应和永久环境效应影响。

决定样本重复数是重复力的另一主要用途^[24]。参照续九如^[24]的多次测定时准确度增进图,准确度增进曲线要到 K 值为 10~12 次才趋于缓和。也就是说,要获得印楝种子品质的准确度量值,应该连续观测 10~12 年才比较可靠。

在植物育种中,知道遗传率的高低,对育种工作有帮助。遗传率高的性状,选择比较容易;遗传率低的性状,选择比较难。育种时,通过杂交方法增加性状的遗传变异,同时又力求栽培条件取得一致,以降低环境变异,这样遗传率增大,育种进程得以加速。

3.3 印楝种子品质性状的独特性及利用的问题

我国印楝引种和资源培育方面的研究,取得了丰硕的成果^[29]。按我国印楝栽培区划,印楝云南引种栽培区,是我国印楝引种试验的主要实施地,也是

我国最大的印楝中心栽培区和主要栽培区^[30]。从表 1 看,云南引种印楝,引种地或国家多(据不完全统计至少十余个国家,且既有国际印楝组织推荐种源,还有国际印楝组织推荐种源所在国的其它种源)、引种时间长(历时近 10 年)和引种繁殖材料(种子)量大(以百吨计)。因此,云南引种印楝资源是印楝育种的基因库。本研究挖掘出来的“印楝素 AB 优异型”,种子印楝素 A 和印楝素 B 总含量 > 1,在世界上也属高含量。“印楝素 AB 优异型”,可作为高品质的原种,或扦插,或嫁接,直接用于药用原料林培育。

正确地选择和选配亲本是果树杂交育种成败的关键,尽可能使亲本间优缺点互补是杂交亲本选配的原则之一。印楝亦如此。本研究同时获得的“印楝素 A 优、B 劣型”和“印楝素 A 劣、B 优型”,印楝素 A 和印楝素 B 性状优异、互补,进一步挖掘利用的潜力大,是难得的印楝素品质育种材料。对于“印楝素 A 优、B 劣型”和“印楝素 A 劣、B 优型”,可作为印楝素品质杂交育种的亲本,进行品质杂交育种,通过培育和选择,以期育成综合性状比较全面的优良品种。

参考文献:

- [1] 彭兴民,吴疆翀,郑益兴,等. 印楝属(*Azadirachta* A. Juss.) 植物分类及分布的研究现状[J]. 植物遗传资源学报,2012,13(4):583-588.
- [2] 龙廷位. 云南省退耕还林工程造林树种及其成效分析[J]. 林业建设,2008(4):18-22.
- [3] 谭卫红,宋湛谦. 印楝的化学成分及其生物活性[J]. 东北林业大学学报,2005,33(6):76-78.
- [4] 樊会丹,张从海,严胜骄,等. 印楝素的合成、结构修饰及生物活性研究进展[J]. 有机化学,2009,29(1):20-33.
- [5] 李晓东,赵善欢. 楝科植物次生化合物及其构效关系[J]. 华南农业大学学报,1997,18(3):29-32.
- [6] Schmutterer H. The tree and its characteristics[M] // Schmutterer H. The Neem Tree: Source of Unique Natural Products for Integrated Pest Management, Medicine, Industry and Other Purposes. Weinheim, Germany: VCH Verlagsgesellschaft, 1995:585-666.
- [7] Schmutterer H, Doll M. The Marrango or Philippine Neem Tree, *Azadirachta excelsa* (= *A. integrifoliola*): A New Source of Insecticides with Growth - Regulating Properties [J]. Phytoparasitica, 1993,21(1):79-86.
- [8] Ermel K. Azadirachtin content of neem seed kernels from different regions of the world[M] // Schmutterer H. The Neem Tree: Source of Unique Natural Products for Integrated Pest Management, Medicine, Industry and Other Purposes. Weinheim, Germany: VCH Verlagsgesellschaft, 1995:89-92.

- [9] Kaushik N, Singh B G, Tomar U K, *et al.* Regional and habitat variability in azadirachtin content of Indian neem (*Azadirachta indica* A. Jussieu) [J]. *Current Science*, 2007, 92, (10): 1400 - 1406.
- [10] Momchilova S, Antonova D, Marekov I., *et al.* Fatty acids, triacylglycerols, and sterols in Neem oil (*Azadirachta indica* A. Juss) as determined by a combination of chromatographic and spectral techniques [J]. *Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies*, 2007, 30, (4): 11 - 25.
- [11] Demirbas A. Potential Resources of Non-edible Oils for Biodiesel [J]. *Energy Sources, Part B: Economics, Planning, and Policy*, 2009, 4(3): 310 - 314.
- [12] Gupta V K, Ahlawat S P, Kumar RV, *et al.* Effect of season and year on azadirachtin A and oil content in neem (*Azadirachta indica* A. Juss) seeds and relationship of azadirachtin A and oil content with rainfall, temperature and humidity [J]. *Current Science*, 2010, 99(7): 953 - 956.
- [13] Tomar U K, Singh G, Kaushik N. Screening *Azadirachta indica* tree for enhancing azadirachtin and oil contents in dry areas of Gujarat [J]. *Journal of Forestry Research*, 2011, 22(2): 217 - 224.
- [14] 吴疆翀, 彭兴民, 郑益兴, 等. 印楝素含量与种子形态及成熟期关系的初步研究 [J]. *林业科学研究*, 2006, 19(5): 590 - 594.
- [15] 彭兴民, 吴疆翀, 张燕平, 等. 印楝农药原料林优树选择方法与标准 [J]. *福建林学院学报*, 2010, 30(3): 265 - 269.
- [16] 赵善欢. 参加第三届国际印楝会议的收获 [J]. *农药译丛*, 1987, 9(1): 1 - 4.
- [17] 张 兴, 赵善欢. 国产印楝树皮中印楝素测试初报 [J]. *西北农业大学学报*, 1992, 20(4): 90 - 94.
- [18] Yakkundi S R, Thejavathi R, Ravindranath B. Variation of azadirachtin content during growth and storage of Neem (*Azadirachta indica*) seeds [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1995, 43(9): 257 - 259.
- [19] Johnson S, Morgan E D, Peiris C J. Development of the Major Triterpenoids and Oil in the Fruit and Seeds of Neem [J]. *Annals of Botany*, 1996, 78: 383 - 388.
- [20] 彭兴民, 吴疆翀, 王有琼, 等. 药用印楝表型选择的因子分析及综合评价 [J]. *林业科学研究*, 2015, 28(4): 464 - 472.
- [21] 张志祥, 程东美, 徐汉虹, 等. 印楝素 A 和印楝素 B 的生物活性及增效作用 [J]. *华中农业大学学报*, 2004, 23(5): 515 - 518.
- [22] 宗乾收, 林 军, 武永昆, 等. 印楝种仁中印楝素含量的快速液相色谱分析 [J]. *农药*, 2003, 42(4): 23 - 24.
- [23] 阮桂海. SAS 统计分析实用大全 [M]. 北京: 清华大学出版社, 2003.
- [24] 续九如. 重复力及其在树木育种中的应用 [J]. *北京林业大学学报*, 1988, 10(4): 97 - 102.
- [25] Rohlf F J. NTSYSpc version 2. 1: Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System [EB/OL]. New York: Applied Biostatistics Inc., (2000 - 09 - 08) [2014 - 11 - 21]. <http://www.exeter-software.com/cat/ntsyspc/ntsyspc.html>.
- [26] Kundu S K. Comparative analysis of seed morphometric and allozyme data among four populations of neem (*Azadirachta indica*) [J]. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 1999, 46: 569 - 577.
- [27] 彭兴民, 吴疆翀, 郑益兴, 等. 云南引种印楝实生种群的表型变异 [J]. *植物生态学报*, 2012, 36(6): 560 - 571.
- [28] 赵寿元, 乔守怡. 现代遗传学 [M]. 北京: 高等教育出版社, 2001.
- [29] 赵粉侠, 彭兴民, 张燕平. 印楝引种栽培及研究进展 [J]. *陕西林业科技*, 2004(2): 63 - 70.
- [30] 赖永祺. 印楝栽培 [M]. 昆明: 云南科技出版社, 2003.