

基于 SAS PROC MIXED 的印楝品种印楝素质量分数稳定性

彭俊杰^{1,2}, 吴疆翀¹, 彭兴民¹, 李 昆¹, 王有琼¹, 郑益兴¹, 张燕平¹

(1. 中国林业科学研究院 资源昆虫研究所, 云南 昆明 650224; 2. 易三仓大学 商学院, 曼谷 10240, 泰国)

摘要: 基于 SAS PROC MIXED 的印楝 *Azadirachta indica* 品种印楝素质量分数的稳定性, 探索建立高效、科学的印楝品种印楝素质量分数稳定性的分析方法, 探究稳定性类型和机制。在元阳、元江、元谋, 7 个印楝品种、单株小区、三重复、完全随机区组、多系受粉, 运用 HPLC 技术分析种子印楝素组分质量分数, 基于 SAS 软件 PROC MIXED 程序的 Stability Variance, Finlay-Wilkinson, Eberhart-Russell, AMMI-1 和 Environmental Variance 5 种模型, 进行品种种子印楝素质量分数稳定性参数估计、品种效应差异性检验和稳定性参数寻优, 用 Akaike 信息量准则(c_{AIC})评价和选择最佳模型, 推断稳定性类型和机制。结果表明: 5 种模型中 Finlay-Wilkinson 和 AMMI-1 模型的品种印楝素 A 和印楝素 B 质量分数的 c_{AIC} 值最小, 均分别为-17.3 和-5.8; 7 个品种的印楝素 A 和印楝素 B 质量分数的稳定性参数大小基本一致, 稳定性排序分别为 $Wx0423 > Wx0416 > Dhg0507 > \text{平均木(ck)} > At0515 > Ld0505 > Ww0401$ 和 $\text{平均木(ck)} > Wx0416 > Wx0423 > Dhg0507 > Ld0505 > Ww0401 > At0515$; 品种印楝素 A 和印楝素 B 质量分数的品种效应差异显著性分别为极显著($P < 0.01$)和显著($P < 0.05$), 证明品种印楝素 A 和印楝素 B 的稳定性随环境条件的变化会发生可预测的改变即动态稳定性, 其遗传机制受遗传控制。Finlay-Wilkinson 和 AMMI-1 适于印楝品种种子印楝素质量分数稳定性分析, 而 Stability Variance, Eberhart-Russell, Environmental Variance 模型并不适用; 品种印楝素 A 和印楝素 B 质量分数的稳定性均为动态稳定性, 稳定性绝大部分依赖于个体缓冲性。多种模型分析基础上的稳定性综合评估更高效更科学。表 5 参 25

关键词: 林木育种学; 印楝; 品种; 印楝素; 稳定性; 模型; 机制

中图分类号: S722.5; S759.3 **文献标志码:** A **文章编号:** 2095-0756(2019)04-0713-10

Stability of azadirachtin contents in neem cultivars based on SAS PROC MIXED

PENG Junjie^{1,2}, WU Jiangchong¹, PENG Xingmin¹, LI Kun¹, WANG Youqiong¹, ZHENG Yixing¹,
ZHANG Yanping¹

(1. Research Institute of Resource Insects, Chinese Academy of Forestry, Kunming 650224, Yunnan China;
2. Graduate School of Business, Assumption University, Bangkok 10240, Thailand)

Abstract: The analysis method, type, and mechanism of the stability of azadirachtin content in neem (*Azadirachta indica*) cultivars were discussed in order to explore the methods to establish the stability analysis of the quality and quantity fraction of neem cultivars, and probes into the stability types and mechanisms. Based on data obtained from the mass fraction of azadirachtin in seven neem clonal seeds, the effects of five analytical models (Stability Variance, Finlay-Wilkinson, Eberhart-Russell, AMMI-1, and Environmental Variance) from the stability assessment of azadirachtin components were compared using a SAS PROC MIXED procedure. An Akaike Information Criterion (c_{AIC}) of maximum likelihood value was also conducted to evaluate and select the optimal model and to deduce stability types and mechanisms. Seeds were collected from 6 superior cultivars

收稿日期: 2018-08-21; 修回日期: 2018-10-29

基金项目: “十三五”国家重点研发计划项目(2017YFC0505101); 国家自然科学基金资助项目(31500515, 31770669)

作者简介: 彭俊杰, 博士研究生, 从事资源植物学研究。E-mail: jjpengCN@163.com。通信作者: 彭兴民, 高级工程师, 从事植物引种、种质创新与新品种选育研究。E-mail: penggong007@21cn.com

(Ld0505, At0515, Ww0401, Dhg0507, Wx0423, Wx0416) of pesticide type neem and average neem (ck), and the experiment was designed with random complete block design, with 7 cultivars being one plot and 3 repetitions (plants spacing 4 m × 4 m), and then azadirachtin concentrations in seed kernels were tested. The results showed that the c_{AIC} values of azadirachtin A and azadirachtin B of Finlay-Wilkinson and AMMI-1 models were the minimum, respectively -17.3 and -5.8. The stability parameters of the mass fraction of azadirachtin A and azadirachtin B were basically the same, and the stability sequencing was $Wx0423 > Wx0416 > Dhg0507 > average\ wood\ (ck) > At0515 > Ld0505 > Ww0401$ and $average\ wood\ (ck) > Wx0416 > Wx0423 > Dhg0507 > Ld0505 > Ww0401 > At0515$. The significant difference in effect between azadirachtin A and azadirachtin B was extremely significant ($P < 0.01$) and significant ($P < 0.05$), respectively. It was proved that the stability of azadirachtin A and azadirachtin B would change predictably with the change of environmental conditions, namely dynamic stability, and their genetic mechanism was controlled by heredity. Finlay-Wilkinson and AMMI-1 are suitable for the Stability analysis of the quality quantity fraction of neem seeds, while the Stability Variance, Eberhart-Russell and Environmental Variance models are not applicable. The stability of azadirachtin A and azadirachtin B was dynamic, and the stability was mostly dependent on individual buffering. The comprehensive evaluation of stability based on multi-model analysis is more efficient. [Ch, 5 tab. 25 ref.]

Key words: forest tree breeding; neem (*Azadirachta indica*); cultivars; azadirachtin; stability; models; mechanisms

印楝 *Azadirachta indica* 是世界著名农药植物^[1-2]。印楝素 (azadirachtin) 因发现于印楝而得名, 是目前世界上最优秀的天然产物农药。印楝素是印楝素 A, B, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N 等一系列类似化合物的统称, 其中印楝素 A 和印楝素 B 是主要成分。自然界中印楝素资源十分有限, 来源仅限于印楝属 *Azadirachta* 植物, 原产植物的生物合成仍是唯一的获得方式^[3]。研究认为: 印楝人工林种子印楝素性状表型变异丰富^[4-6], 研究和利用印楝品种印楝素质量分数的基因型(G)与环境(E)互作效应, 进行品种印楝素质量分数稳定性和适应性育种, 是提高品种印楝素生产力的重要途径之一。因此, 开展印楝品种印楝素质量分数稳定性研究具有重要意义。生物体能自我调节其遗传型或表现型的状态以适应于变动的环境, 使其生长发育和主要性状保持相对稳定的能力称为稳定性(stability)^[7]。植物品种稳定性分析发端于多点试验基因型与环境互作效应(GE)的解析。所以, 对基因型与环境互作效应的准确估计是合理评估植物品种稳定性的基础。品种稳定性分析有许多模型与方法。有学者认为不同稳定性分析模型适用于不同的试验数据, 模型选择对品种稳定性评价有较大影响, 并提出应在多种模型分析基础上的稳定性综合评估和可统一运用 SAS 中的 PROC MIXED 程序进行分析的分析策略^[8-9]。印楝种源^[4-5]、优树^[10-12]、品比试验品种^[13]种子印楝素组分稳定性已有研究, 但多点试验品种种子印楝素组分稳定性研究未见报道。本研究以多点试验 7 个农药型印楝品种种子印楝素组分质量分数为分析数据, 基于 SAS PROC MIXED 程序, 比较 5 种常用品种稳定性分析模型在印楝品种种子印楝素组分稳定性分析中的分析效果, 用 Akaike 信息量准则(c_{AIC})评价和选择最佳模型; 根据稳定性类型的定义和稳定性形成机制的缓冲性学说推断稳定性类型和机制, 保证印楝品种印楝素质量分数稳定性分析的有效性和科学性, 丰富植物品种稳定性研究理论及实践, 所获结果为农药型印楝品质育种提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 试验数据及其转换

试验数据取自本项目组开展的农药型印楝品种多点试验。试验地点为云南省元阳县、元江县和元谋县; 试验品种为 6 个农药型印楝优良品种及平均木(ck): 冷墩 0505(Ld0505), 阿土 0515(At0515), 乌湾 0401(Ww0401), 大黑公 0507(Dhg0507), 万星 0423(Wx0423), 万星 0416(Wx0416)和平均木(ck)。通过优树选择^[10-12]、品种品比试验^[13]选出; 试验采用随机完全区组设计, 7 个品种为 1 小区, 3 重复(区组), 多系授粉, 株行距为 4 m × 4 m。样地管理、样株抚育基本一致, 种子样品的采收、调制、保存和印楝素组分质量分数测定分析由专人完成。种子印楝素 A 和印楝素 B 质量分数用宗乾收等^[14]的方法分

析, 印楝素 AB 的计算式: 印楝素 AB=印楝素 A+印楝素 B。

种子印楝素 A、印楝素 B 和印楝素 AB 质量分数数据首先用 Excel 2007 软件进行描述统计和隶属函数法转换^[11]; 转换后数值再整理成一个品种-地点两向表, 以变量 T, G 和 E 分别代表印楝素 A 或印楝素 B 或印楝素 AB, 品种和环境。其中每一个数值是相应品种在相应试验点内各重复的平均值。印楝素 A, 印楝素 B, 印楝素 AB 的品种-地点两向表分别以 wdxazA, wdxazB, wdxazAB 文件名存入 SAS 逻辑库的 sasuser。

1.2 稳定性分析模型与方法

Stability Variance, Finlay-Wilkinson, Eberhart-Russell, AMNM-1 和 Environmental Variance 等 5 种模型是最有代表性也最为常用的稳定性分析模型。由于供试数据为品种-环境组合处理均值(无重复数据), 因此, 本研究的 5 种稳定性分析模型与方法为处理均值的模型形式, 5 种稳定性分析模型的一般表达式, 采用胡希远等^[9]的处理均值模型形式。

1.3 稳定性模型分析的程序

上述模型统一运用 SAS 软件的 PROC MIXED 程序模块进行分析。具有 UN(1), FA1(1), FA(1), FA1(1), UN 方差协方差结构的线性混合模型依次等价于 Stability Variance, Finlay-Wilkinson, Eberhart-Russell, AMMI-1, Environmental Variance 模型^[15], 固定效应方差参数采用限制性极大似然法(REML)估计, 效应差异显著性 t 测验的自由度采用 Satterthwaite 法估算, 即利用 PROC MIXED 进行数据分析时, 在 MODEL 语句中增加“ddfm=Satterthwaite”。基于处理均值数据的各稳定性模型分析的 SAS 程序如表 1 所示。

表 1 针对品种-环境处理均值数据 5 种稳定性分析模型的 SAS 程序编码

Table 1 Syntax for the SAS commands to fit 5 stability analysis models for cultivar-environment treatment mean data	
模型	语句*
5 种模型	proc mixed data=sasuser.wdxazA 或 sasuser.wdxazB 或 sasuser.wdxazAB scoring= 20; class G E; model T=G/ddfm= satterthwaite;
模型	语句
Stability Variance 模型	random int/ sub= E; repeated G/ sub= E type= un(1); run;
Finlay-Wilkinson 模型	repeated G/ sub= E type= FA1(1); run;
Eberhart-Russell 模型	repeated G/ sub= E type= FA(1); run;
AMMI-1 模型	random int/ sub= E; repeated G/ sub= E type= FA1(1); run;
Environmental Variance 模型	repeated G/ sub= E type= un; run;

说明: * 本行所列语句应出现在其他语句之前

1.4 模型评价与选择

上述各种模型采用 REML 拟合时, 以似然值的信息量准则评价和选择最佳模型, 如 Akaike 信息量准则(Akaike's information criterion, c_{AIC})^[9]:

$$c_{AIC} = -2\ln L + 2q \quad (1)$$

式(1)中: $\ln L$ 为模型拟合极大似然值的自然对数值; q 为模型中待估计方差协方差参数的数目。式(1)中右边第 1 项可解释为衡量模型对试验数据拟合优良度的一个度量, 第 2 项可解释为对增加模型参数个数的一种平衡。当有若干个模型可供应用时, 数据拟合效果好, 而又尽可能节省参数数目的模型, 即 c_{AIC} 值最小的模型为最佳模型。在利用 SAS 中的 PROC MIXED 程序进行分析时, c_{AIC} 值将由该程序自动给出。

按照刘录祥等^[16]的稳定性类型的定义界定印楝品种种子印楝素组分质量分数稳定性类型, 根据 ALIARD 等^[7]的缓冲性学说, 结合当前最新研究成果, 解释印楝品种种子印楝素组分质量分数稳定性形成机制。

2 结果与分析

2.1 品种-环境组合处理均值的描述统计

表 2 为 7 个品种-环境组合处理均值的描述统计结果。方差、标准误是比较理想的描述数据变异程

度的特征值，也是常用的以品种平均数为参照数的稳定性参数。从方差、标准误可以看出，在试验环境范围内7个印楝品种种子印楝素主要组分质量分数的变异幅度或稳定性不同。

表2 品种-环境组合处理均值的描述统计

Table 2 Description statistics of cultivar-environment combination process

试验	印楝素 A/(mg·g ⁻¹)							环境指数	环境指数离差
	Ww0401	Dhg0507	Wx0416	Wx0423	Ld0505	At0515	ck		
元阳	6.5	6.5	5.5	6.3	8.6	7.1	4.5	-5.25	0.01
元江	7.0	6.6	5.9	6.4	7.8	7.3	5.0	-5.24	0
元谋	7.1	7.0	5.5	6.0	8.2	7.8	4.9	-5.23	-0.01
平均值	6.9	6.7	5.6	6.2	8.2	7.4	4.8	-5.24	-
方差	0.001 0	0.000 7	0.000 5	0.000 4	0.001 6	0.001 3	0.000 7	-	-
标准误/%	3.21	2.65	2.31	2.08	4.00	3.61	2.65	-	-
平均标准误比数 a_i	1.10	0.90	0.79	0.71	1.37	1.23	0.90	-	-

试验	印楝素 B/(mg·g ⁻¹)							环境指数	环境指数离差
	Ww0401	Dhg0507	Wx0416	Wx0423	Ld0505	At0515	ck		
元阳	2.2	1.4	1.0	1.1	2.4	2.1	0.9	-1.19	-0.01
元江	1.8	1.4	0.9	1.0	2.5	2.4	0.9	-1.19	-0.01
元谋	1.4	1.3	1.0	1.0	2.3	1.6	0.9	-1.21	0.01
平均值	1.8	1.4	1.0	1.0	2.4	2.0	0.9	-1.20	-
方差	0.001 6	0	0	0	0.000 1	0.001 6	0	-	-
标准误/%	4.00	0.58	0.58	0.58	1.00	4.04	0	-	-
平均标准误比数 a_i	2.60	0.38	0.38	0.38	0.65	2.63	0	-	-

试验	印楝素 AB/(mg·g ⁻¹)							环境指数	环境指数离差
	Ww0401	Dhg0507	Wx0416	Wx0423	Ld0505	At0515	ck		
元阳	8.7	7.9	6.5	7.4	11.0	9.2	5.3	-6.43	0
元江	8.8	8.0	6.8	7.4	10.3	9.7	5.7	-6.42	0.01
元谋	8.5	8.3	6.5	7.0	10.5	9.4	5.8	-6.43	0
平均值	8.7	8.1	6.6	7.3	10.6	9.4	5.6	-6.43	-
方差	0.000 2	0.000 4	0.000 3	0.000 5	0.001 3	0.000 6	0.000 7	-	-
标准误/%	1.53	2.08	1.73	2.31	3.61	2.52	2.65	-	-
平均标准误比数 a_i	0.65	0.89	0.74	0.98	1.54	1.07	1.13	-	-

说明：-表示该项不存在

标准误与平均标准误比数(a_i)也是常用的以品种平均数为参照数的稳定性参数。根据表2各印楝品种种子印楝素组分质量分数的 a_i 大小，可进行印楝品种印楝素质量分数稳定性大小的初步排序。

印楝素 A: Wx0423 (0.71) > Wx0416 (0.79) > Dhg0507 (0.90) = ck (0.90) > Ww0401 (1.10) > At0515 (1.23) > Ld0505 (1.37)。

印楝素 B: ck (0.00) > Dhg0507 (0.38) = Wx0416 (0.38) = Wx0423 (0.38) > Ld0505 (0.65) > Ww0401 (2.60) > At0515 (2.63)。

印楝素 AB: Ww0401 (0.65) > Wx0416 (0.74) > Dhg0507 (0.89) > Wx0423 (0.98) > At0515 (1.07) > ck (1.13) > Ld0505 (1.54)。

从7个品种种子印楝素组分质量分数的方差、标准误、标准误与平均标准误比数所呈现的稳定性大小综合看：Ld0505, At0515, Ww0401 印楝素 A 和印楝素 B 质量分数的稳定性较低；而 Dhg0507, Wx0423, Wx0416, ck 印楝素 A 和印楝素 B 质量分数的稳定性较高。

2.2 不同稳定性分析模型对印楝品种印楝素质量分数的稳定性评判

表3是5种模型对印楝品种印楝素组分稳定性参数的估计结果。结果表明：5种模型在品种印楝素组分稳定性评判上表现出既相似又有差异的稳定性参数估计性能，表现为 Finlay-Wilkinson 和 AMMI-1 模型均能完成印楝素 A, 印楝素 B 和印楝素 AB 的稳定性参数估计，Eberhart-Russell 模型只能完成印楝

素 A 和印楝素 AB 的稳定性参数估计, Stability Variance 模型仅能完成印楝素 A 的稳定性参数估计, 而 Environmental Variance 模型不能完成印楝素 A, 印楝素 B 和印楝素 AB 的稳定性参数估计; Finlay-Wilkinson 和 AMMI-1 模型不仅能完成品种印楝素 A, 印楝素 B 和印楝素 AB 的稳定性参数估计, 且稳定性参数估计结果基本一致(稳定性参数大小基本相同)。7 个印楝品种种子印楝素质量分数稳定性大小的排序如下。

印楝素 A: $W_x0423(|-0.018\ 95|) > W_x0416(0.021\ 00) > Dhg0507(0.045\ 58) > ck(0.058\ 51) > At0515(0.066\ 96) > Ld0505(|-0.074\ 26|) > W_w0401(0.074\ 64)$ 。

印楝素 B: $ck(|-2.19E-8|) > W_x0416(|-0.016\ 34|) > W_x0423(0.018\ 94) > Dhg0507(0.035\ 28) > Ld0505(0.051\ 62) > W_w0401(0.216\ 90) > At0515(0.225\ 40)$ 。

印楝素 AB: $W_w0401(1.29E-19) > W_x0423(|-0.012\ 87|) > Dhg0507(0.016\ 00) > W_x0416(0.019\ 02) > At0515(0.038\ 14) > ck(0.041\ 45) > Ld0505(|-0.060\ 47|)$ 。

Finlay-Wilkinson 和 AMMI-1 模型的品种印楝素 A 和印楝素 B 质量分数的稳定性参数大小排序基本一致, Dhg0507, W_x0423 , W_x0416 , ck 较 Ld0505, At0515, W_w0401 稳定; 品种印楝素 AB 质量分数是印楝素 A 和印楝素 B 质量分数之和, 其稳定性参数大小排序并没有表现出相应的排序。这些特性与方差、标准误、 α_i 呈现的稳定性特性基本一致。

表 3 不同分析模型的稳定性参数估计结果

Table 3 Parameter estimates of cultivar variability for different analysis models

试验	模型	不同品种稳定性参数						
		Ww0401	Dhg0507	Wx0416	Wx0423	Ld0505	At0515	ck
印楝素 A	Stability Variance	0.000 77	0.003 05	0.003 15	0.007 43	0.023 03	0.004 24	0.000 28
	Finlay-Wilkinson	0.074 64	0.045 58	0.021 00	-0.018 95	-0.074 26	0.066 96	0.058 51
	Eberhart-Russell	0.073 75	0.032 27	0.036 87	-0.004 61	-0.092 19	0.050 70	0.064 53
	AMMI-1	0.074 64	0.045 58	0.021 00	-0.018 95	-0.074 26	0.066 96	0.058 51
	Environmental Variance	-	-	-	-	-	-	-
印楝素 B	Stability Variance	-	-	-	-	-	-	-
	Finlay-Wilkinson	0.216 90	0.035 28	-0.016 34	0.018 94	0.051 62	0.225 40	-2.19E-8
	Eberhart-Russell	-	-	-	-	-	-	-
	AMMI-1	0.216 90	0.035 27	-0.016 34	0.018 94	0.051 61	0.225 40	-5.64E-6
	Environmental Variance	-	-	-	-	-	-	-
印楝素 AB	Stability Variance	-	-	-	-	-	-	-
	Finlay-Wilkinson	1.29E-19	0.016 00	0.019 02	-0.012 87	-0.060 47	0.038 14	0.041 45
	Eberhart-Russell	0.020 26	-0.005 06	0.030 39	0.020 26	-0.045 58	0.040 52	0.015 19
	AMMI-1	4.4E-20	0.016 00	0.019 02	-0.012 87	-0.060 47	0.038 14	0.041 45
	Environmental Variance	-	-	-	-	-	-	-

说明: -表示该项不存在

2.3 不同稳定性分析模型对印楝品种效应的差异性检验

表 4 是 5 种模型得到的印楝品种效应(均值)的差异性检验结果。5 种模型在印楝品种种子印楝素组分的差异性检验上有既相似又有差异的差异性检验性能。表现为 Finlay-Wilkinson 和 AMMI-1 模型均能完成品种印楝素 A, 印楝素 B 和印楝素 AB 的差异性检验, Eberhart-Russell 模型只能完成品种印楝素 A 和印楝素 AB 的差异性检验, Stability Variance 模型仅能完成品种印楝素 A 的差异性检验, 而 Environmental Variance 模型不能完成品种印楝素 A, 印楝素 B 和印楝素 AB 的差异性检验; Finlay-Wilkinson 和 AMMI-1 模型不仅能完成品种印楝素 A, 印楝素 B 和印楝素 AB 的差异性检验, 且差异性检验结果基本一致(F 值基本相同), 品种印楝素 A 和印楝素 AB 的差异达极显著水平($P < 0.01$), 品种印楝素 B 的差异达显著水平($0.05 > P > 0.01$)。表明 Finlay-Wilkinson 和 AMMI-1 模型对印楝品种种子印楝素质量分数参数的估计结果是科学的, 7 个印楝品种种子印楝素质量分数差异性真实存在。

表4 不同分析模型 F 检验的结果Table 4 F test of cultivar based on different analysis models

试验	N_{DF}	模型														
		Stability Variance			Finlay-Wilkinson			Eberhart-Russell			AMMI-1			Environmental Variance		
		D_{DF}	F	P	D_{DF}	F	P	D_{DF}	F	P	D_{DF}	F	P	D_{DF}	F	P
印楝素 A	6	10.2	172.90	<0.000 1	2.55	85.77	0.004 3	2.01	273.91	0.003 6	2.55	85.77	0.004 3	-	-	-
印楝素 B	6	-	-	-	2.18	55.59	0.013 3	-	-	-	2.18	55.59	0.013 3	-	-	-
印楝素 AB	6	-	-	-	2.20	275.19	0.002 2	2.36	706.66	0.000 5	2.20	275.19	0.002 2	-	-	-

说明： N_{DF} (Num DF)和 D_{DF} (Den DF)分别为 F 检验的第 1 自由度和第 2 自由度。-表示该项不存在

2.4 不同稳定性分析模型的拟合效果

5 种模型固定效应方差参数采用 REML 拟合, 依据极大似然理论的信息量准则(c_{AIC})进行最佳模型的评价与选择。表 5 为 5 种模型拟合得到的 c_{AIC} 值。结果表明: 5 种模型在印楝品种印楝素组分固定效应方差参数拟合效果上有既相似又有差异的拟合性能。表现为 Finlay-Wilkinson 和 AMMI-1 模型的品种印楝素 A, 印楝素 B 和印楝素 AB 稳定性参数寻优均能收敛, Stability Variance 模型的品种印楝素 B 和印楝素 AB 参数寻优不能收敛, Eberhart-Russell 模

表5 不同稳定性分析模型的 c_{AIC} 值Table 5 c_{AIC} values of different stability models (smaller c_{AIC} value indicates better fitting models)

试验	模型				
	Stability variance	Finlay-Wilkinson	Eberhart-Russell	AMMI-1	Environmental variance
印楝素 A	-12.5	-17.3	-12.5	-17.3	-
印楝素 B	-	-5.8	-	-5.8	-
印楝素 AB	-	-34.4	-17.3	-34.4	-

说明: -表示参数寻优未达到收敛

型的品种印楝素 B 参数寻优不能收敛, 而 Environmental Variance 模型的品种印楝素 A, 印楝素 B 和印楝素 AB 参数寻优均不能收敛。Finlay-Wilkinson 和 AMMI-1 模型的品种印楝素 A, 印楝素 B 和印楝素 AB 稳定性参数寻优不仅均能收敛, 且拟合结果基本一致(c_{AIC} 值基本相同)和拟合效果表现最佳(c_{AIC} 值均较小), 具有较好的统计性能, 而其余 3 种模型部分或全部印楝素组分统计表现不佳(c_{AIC} 值均较大), 部分或全部未表现出统计性能。

2.5 品种稳定性的类型及其形成机制

从 7 个品种印楝素组分稳定性的差异性检验结果(表 4)看, 品种印楝素 A, 印楝素 B 和印楝素 AB 稳定性的差异性达显著水平, 表明品种印楝素 A, 印楝素 B 和印楝素 AB 的稳定性随环境条件的变化会发生可预测的改变。按照刘录祥等^[16]的稳定性类型的定义, 品种印楝素组分质量分数稳定性均属于动态稳定性。进一步从 7 个品种不同环境的印楝素组分质量分数与相应的环境指数(表 2)看, Wx0416, Wx0423, Ld0505, ck 的印楝素 A 和印楝素 B 质量分数与相应的环境指数并没有平行一致性(质量分数高低不随环境指数大小的变化而变化), 动态稳定性差; 而 Ww0401, Dhg0507, At0515 的印楝素 A 和印楝素 B 质量分数与相应的环境指数具有平行一致性(质量分数高低随环境指数大小的变化而变化), 动态稳定性好。

7 个品种是纯合的基因型或遗传上同质的群体, 根据 ALIARD 等^[7]的稳定性形成机制缓冲性学说, 各品种印楝素 A, 印楝素 B 和印楝素 AB 的稳定性绝大部分依赖于个体缓冲性, 也就是说品种各株系本身包括复杂的不同遗传型, 每个遗传型能适应不同范围的环境条件, 即具备个体缓冲性。这可能与印楝的异花授粉特性有关。

3 讨论

3.1 品种稳定性分析方法及分析结果

基于 SAS PROC MIXED 程序的品种稳定性分析策略与方法, 具体是运用 SAS 软件 PROC MIXED 程序的 5 种常用品种稳定性分析模型模块进行品种稳定性参数估计、品种效应差异检验和模型评价与选择。本研究试验范围地处热带和亚热带干热河谷, 7 个参试品种在热带—亚热带气候和多系授粉条件下, 品种印楝素组分质量分数的稳定性随环境条件的变化会发生可预测的改变。印楝素 A 的稳定性排

序为 $W_x0423 > W_x0416 > Dhg0507 > ck > At0515 > Ld0505 > W_w0401$, 印楝素 B 的稳定性排序为 $ck > W_x0416 > W_x0423 > Dhg0507 > Ld0505 > W_w0401 > At0515$; 印楝素 AB 质量分数是印楝素 A 和印楝素 B 质量分数之和, 但其稳定性排序并没有表现出相应的排序, 这可能因其是复合性状(由若干构成性状经代数运算得到性状值的性状)的缘故, 因为复合性状的遗传效应比构成性性状(单独测量得到性状值的性状)更复杂。研究还表明: W_x0416 , W_x0423 , $Ld0505$, ck 的印楝素 A 和印楝素 B 质量分数高低不随环境指数大小的变化而变化, 动态稳定性差; 而 W_w0401 , $Dhg0507$, $At0515$ 的印楝素 A 和印楝素 B 质量分数高低随环境指数大小的变化而变化, 动态稳定性好。

3.2 品种稳定性分析方法的选择

5 种模型统一运用 SAS 软件的 PROC MIXED 程序模块进行分析时, 以似然值的信息量准则(c_{AIC})评价和选择最佳模型。 c_{AIC} 值是衡量模型对试验数据拟合优良度的一个度量和对增加模型参数个数的一种平衡。 c_{AIC} 值最小表示数据拟合效果好, 而又尽可能节省参数数目, 该模型为最佳模型。5 种稳定性分析模型在印楝品种印楝素组分稳定性分析中的分析性能既相似又有差异, 表现为 Finlay-Wilkinson 和 AMMI-1 模型的稳定性参数大小、差异性检验 F 值基本相同和稳定性参数寻优均能收敛, Akaike 信息量准则基本一致(c_{AIC} 值基本相同、且均较小); 而 Stability Variance, Eberhart-Russell, Environmental Variance 模型的稳定性参数大小、差异性检验 F 值各不相同和稳定性参数寻优部分或全部不能收敛, Akaike 信息量准则不一致(c_{AIC} 值各异、且均较大)。Finlay-Wilkinson 和 AMMI-1 模型适于印楝品种种子印楝素质量分数稳定性分析, 其余模型则不适用。

需要说明的是, Finlay-Wilkinson 和 AMMI-1 具有相似稳定性评判结果, 这可能是两者虽然形式不同(有无环境主效应 u_j 分析项), 但实际地点间环境主效应 u_j 差异不显著所致。而 Finlay-Wilkinson 和 Eberhart-Russell 虽然形式相同, 但 d_{ij} 和 f_{ij} 假设不同, 导致稳定性参数估计性能不同。Environmental Variance 模型由于待估参数较多, 在数据较少或品种数多于试验环境数时难以取得模型估计值^[9]。Stability Variance 模型由于它是从基因型与环境互作效应入手估算品种稳定性参数, 仅表示了互作大小, 没有反映出基因型随环境变化的反应方式; 由于不同品种可能处在不同的基因型值水平, 其稳定性参数间难以直接比较, 结果也不如回归法精确^[17-18]。另外, AMMI-1 模型是品种稳定性非线性方法的代表, 是一个模型系列, 本研究只对具有一项乘积项的 AMMI 模型即 AMMI-1 模型进行了比较分析, 其他 AMMI 模型分析的效果尚需进一步研究。

还需特别指出的是, 上述基于 SAS 软件中 PROC MIXED 程序的 5 种稳定性分析都是基于传统的固定效应模型, 采用品种-环境组合的处理均值数据(无重复数据)进行分析, 是一种稳定性分析的简化方法^[9]。基于 SAS 软件中 PROC MIXED 程序中的“ESTIMAT”语句, 采用多点试验有重复观测值数据可进行随机效应模型(random-effects model)的区域试验品种评价, 对随机效应采用最佳线性无偏预测(BLUP), 准确地说经验性最佳线性无偏预测(eBLUP), 随机效应方差参数采用限制性极大似然法(REML)估计, 能够利用方差参数提供的信息减小试验误差对效应排序的影响, 从而使效应排序比利用 BLUE 的效应排序更准确。因此, 近年来不断有学者建议在作物品种试验分析中将品种、环境和品种-环境互作效应三者之一或全部看作随机效应, 并采用线性混合模型 BLUP 进行评价^[9]。为了使印楝素质量分数的稳定性分析更加科学, 尚需开展经验性最佳线性无偏预测(eBLUP)。

3.3 品种稳定性的类型及其形成机制

刘录祥等^[16]认为: 品种稳定性分为动态稳定性和静态稳定性。按照稳定性类型划分标准, 本研究 7 个品种印楝素 A, 印楝素 B 和印楝素 AB 质量分数均值的差异性达显著水平, 表明品种印楝素 A, 印楝素 B 和印楝素 AB 的稳定性随环境条件的变化会发生可预测的改变即动态稳定性。

就品种稳定性形成机制, 许多研究者从遗传学、形态生理学和物候学等方面进行过探讨, 创立了缓冲性学说^[7]和因子补偿学说^[16]。比较而言, 缓冲性学说基于品种个体基因型和群体遗传组成; 而因子补偿学说则不考虑品种本身的遗传组成, 只基于影响性状的主要构成因子。它们各自反映了品种稳定性的不同侧面, 2 种解释都成立。本研究各品种均为无性系, 是纯合的基因型或遗传上同质的群体, 各品种间印楝素 A, 印楝素 B 和印楝素 AB 的稳定性绝大部分依赖于个体缓冲性。也就是说品种各株系本身包括复杂的不同遗传型, 每个遗传型能适应不同范围的环境条件, 即具备个体缓冲性。这可能与印楝的异

花授粉特性有关。自然授粉状态下印楝异交率高于 90%，而无性系多系杂交后各无性系间种子印楝素组分质量分数具有异质性($P < 0.01$)^[13]。印楝素主要储存在印楝种子胚乳(endosperm)中^[20]，属于子代组织部分，隶属于胚乳，是胚乳性状，其遗传表达除受子代胚乳基因型(三倍体)控制外，还可能受子代胚基因型(二倍体)或母体基因型(二倍体)控制，或兼而有之及上位性、环境互作，遗传特性独特。按现代遗传学和表观遗传学观点，遗传物质改变即基因组变异(polymorphism)和表观遗传变异(epigenetic variation)决定着植物的表型。小于 50 个碱基对(base pair, bp)的变异，包括单核苷酸变异(single nucleotide variant, SNV)和小插入缺失(small indel)；大于 50 bp 的基因组变异称为结构变异(structural variant, SV)，包括缺失(deletion)，插入(insertion)，倒位(inversion)，易位(translocation)以及更复杂的结构变化；大段的基因组拷贝数变异(copy number variation, CNV)也可以视为结构变异的一种，即非平衡性结构变异(unbalanced SV)，与之对应的是倒位、易位引起的不改变基因片段在全基因组拷贝数的平衡性结构变异(balanced SV)等基因组变异决定着植物的表型^[21]。组蛋白修饰、DNA 甲基化和 miRNA 等表观遗传变异也决定着植物的表型^[22]。以此推测，印楝品种印楝素质量分数稳定性的遗传机制可能受遗传控制，包括基因和表观遗传调控机制。印楝基因组测序已完成，但印楝素的生物合成途径至今仍未完全解析^[20,23-25]，控制印楝素合成和积累的关键基因或 QTL 仍未知。印楝品种印楝素质量分数稳定性的遗传机制尚需进一步研究。

稳定性作为高生产力水平下植物育种所追求的重要目标，是植物遗传育种工作者十分关心的问题。由于基因型与环境互作效应的存在，减少了同一基因型在不同环境条件下一致表现，从而使得基因型与表现型的相关性降低，在遗传育种试验中，降低了从表现型试验结果用以推断基因型的可信程度。开展植物育种工作，需要根据育种目标对基因型与环境互作效应加以仔细分析和充分利用。稳定性包括适应性和稳产性 2 个方面，对品种稳定性或适应性的评价主要依赖于稳定性参数的大小，而没有考虑品种平均产量高低的因素。实际上，当一个品种的平均产量相对于其他品种很高时，即使它的稳定性参数较大也是可以接受的，而只有当一个品种的产量较低时，它的稳定性才显得更重要。因此，在利用各种模型分析品种稳定性时，除了关注纯粹的稳定性参数大小外，还要结合各品种的平均产量等因素具体分析，才能对品种的稳定性或适应性做出更具实际意义的评价。如 Ld0505 和 At0515 的印楝素 AB 质量分数稳定性差，但其印楝素 AB 的产量较高，是推广良种的首选，分别在元阳和元江可获得更大收益。

4 结论

Finlay-Wilkinson 和 AMMI-1 模型适于印楝品种种子印楝素质量分数稳定性分析，其余模型则不适用；Ww0401, Dhg0507, At0515 的稳定性较 Wx0416, Wx0423, Ld0505, ck 好；印楝品种种子印楝素组分质量分数稳定性均为动态稳定性，稳定性绝大部分依赖于个体缓冲性。

5 参考文献

- [1] TOMILIN C D S. *The Pesticide Manual* [M]. 12th Ed. Berkshire: British Crop Protection Council, 2000.
- [2] 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.
PENG Xingmin, WU Jiangchong, ZHENG Yixing, et al. Classification and distribution of *Azadirachta*: a review [J]. *J Plant Genet Resour*, 2012, **13**(4): 583 – 588.
- [3] 徐汉虹, 赖多, 张志祥. 植物源农药印楝素的研究与应用[J]. 华南农业大学学报, 2017, **38**(4): 1 – 11.
XU Hanhong, LAI Duo, ZHANG Zhixiang. Research and application of botanical pesticide azadirachtin [J]. *J South China Agric Univ*, 2017, **38**(4): 1 – 11.
- [4] 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.
PENG Xingmin, WU Jiangchong, ZHENG Yixing, et al. Phenotypic variation in cultivated populations of *Azadirachta indica* in Yunnan, China [J]. *Chin J Plant Ecol*, 2012, **36**(6): 560 – 571.
- [5] 彭兴民, 吴疆翀, 郑益兴, 等. 云南引种印楝实生栽培种群表型的地理变异[J]. 林业科学研究, 2013, **26**(4): 399 – 405.

- PENG Xingmin, WU Jiangchong, ZHENG Yixing, *et al.* Geographic variation of morphological characters among cultivated neem (*Azadirachta indica*) populations in Yunnan, China [J]. *For Res*, 2013, **26**(4): 399 – 405.
- [6] ZHENG Yixing, WU Jiangchong, WANG Youqiong, *et al.* Seed yield and azadirachtin content of *Azadirachta indica* in four ecosystems of southwest China [J]. *Ind Crop Prod*. 2018, **122**(1): 23 – 37. doi: 10.1016/j.indcrop.2018.05.040.
- [7] ALLARD R W, BRADSHAW A D. Implications of genotype-environmental interactions in applied plant breeding [J]. *Crop Sci*, 1964, **4**(5): 503 – 508.
- [8] 王贤智. 大豆产量相关性状的遗传与稳定性分析及 QTL 定位研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2008.
WANG Xianzhi. *Inheritance, Stability Analysis and QTL Mapping of Yield Related Traits in Soybean* [D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2008.
- [9] 胡希远, 尤海磊, 宋喜芳, 等. 作物品种稳定性分析不同模型比较[J]. 麦类作物学报, 2009, **29**(1): 110 – 117.
HU Xiyuan, YOU Hailei, SONG Xifang, *et al.* Comparison of different models for crop stability analysis [J]. *J Tritic Crop*, 2009, **29**(1): 110 – 117.
- [10] 彭兴民, 吴疆翀, 程金焕, 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.
PENG Xingmin, WU Jiangchong, CHEN Jinhuan, *et al.* A study on method and standard of *Azadirachta indica* superior tree selection for pesticide raw material production plantations [J]. *J Fujian Coll For*, 2010, **30**(3): 265 – 269.
- [11] 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.
PENG Xingmin, WU Jiangchong, WANG Youqiong, *et al.* Factor analysis and comprehensive assessment of phenotypic selection of officinal neem superior trees [J]. *For Res*, 2015, **28**(4): 464 – 472.
- [12] 彭兴民, 吴疆翀, 王有琼, 等. 印楝种子品质性状的遗传多样性及稳定性分析[J]. 林业科学研究, 2015, **28**(6): 767 – 774.
PENG Xingmin, WU Jiangchong, WANG Youqiong, *et al.* Genetic diversity and stability of *Azadirachta indica* seed quality characters [J]. *For Res*, 2015, **28**(6): 767 – 774.
- [13] 彭兴民, 吴疆翀, 郑益兴, 等. 印楝无性系当代种子农药品质性状的遗传变异及农药型印楝优株评价[J]. 林业科学研究, 2017, **30**(6): 921 – 928.
PENG Xingmin, WU Jiangchong, ZHENG Yixing, *et al.* Genetic variation of azadirachtin quality in seeds of neem clones and evaluation of superior neem trees for pesticides [J]. *For Res*, 2017, **30**(6): 921 – 928.
- [14] 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.
ZONG Qianshou, LIN Jun, WU Yongkun, *et al.* Quantitative analysis of azadirachtin content of neem seeds by HPLC [J]. *Pesticides*, 2003, **42**(4): 23 – 24.
- [15] 胡希远, 尤海磊, 任长宏, 等. 基于协方差阵结构优选的作物品种区域试验分析[J]. 作物学报, 2009, **35**(11): 1981 – 1989.
HU Xiyuan, YOU Hailei, REN Changhong, *et al.* Analysis of crop variety regional trials based on selection of covariance structures [J]. *Acta Agron Sin*, 2009, **35**(11): 1981 – 1989.
- [16] 刘录祥, 赵锁芳. 作物品种的稳定性及适应性育种[J]. 陕西农业科学, 1992(6): 43 – 46.
LIU Luxiang, ZHAO Suolao. Stability and adaptability breeding of crop varieties [J]. *Shaanxi J Agric Sci*, 1992(6): 43 – 46.
- [17] 刘大群, 王恒立. 品种稳定性评价方法的比较和分析[J]. 作物学报, 1988, **14**(4): 290 – 295.
LIU Daqun, WANG Hengli. A comparison and analysis of variety stability methods [J]. *Acta Agron Sin*, 1988, **14**(4): 290 – 295.
- [18] 吴元奇, 潘光堂, 荣廷昭. 作物稳定性研究进展[J]. 四川农业大学学报, 2005, **23**(4): 482 – 489.
WU Yuanqi, PAN Guangtang, RONG Tingzhao. Study progress in chop stability [J]. *J Sichuan Agric Univ*, 2005, **23**(4): 482 – 489.
- [19] 任长宏, 格桑曲珍, 胡希远. 经验性最佳线性无偏预测(eBLUP)在油菜区域试验品种评价的效果[J]. 作物学报, 2017, **43**(3): 371 – 377.
REN Changhong, Gesangquzhen, HU Xiyuan. Performance of eBLUP in variety evaluation of regional rape trials in

- China [J]. *Acta Agron Sin*, 2017, **43**(3): 371 – 377.
- [20] KURAVADI N A, YENAGI V, RANGIAH K, *et al.* Comprehensive analyses of genomes, transcriptomes and metabolites of neem tree [J]. *Peer J*, 2015, **3**(1): e1066. doi: 10.7717/peerj.1066.
- [21] 龚强. 基因组变异的深度挖掘[D]. 北京: 中国科学院大学, 2013
GONG Qiang. *Intensive Detection of Genomic Variants* [D]. Beijing: University of Chinese Academy of Sciences, 2013.
- [22] 刘乐乐, 杜宁, 裴翠萍, 等. 植物群体表观遗传学研究进展[J]. 生态学杂志, 2017, **36**(9): 2615 – 2622.
LIU Lele, DU Ning, PEI Cuiping, *et al.* Advances in population epigenetics of plant [J]. *Chin J Ecol*, 2017, **36**(9): 2615 – 2622.
- [23] KRISHNAN N M, PATTNAIKL S, JAIN P, *et al.* A draft of the genome and four transcriptomes of a medicinal and pesticidal angiosperm *Azadirachta indica* [J]. *BMC Genomics*, 2012, **13**(464): 1471 – 2164.
- [24] PANDREKA A, DANDEKAR D S, HALDAR S, *et al.* Triterpenoid profiling and functional characterization of the initial genes involved in isoprenoid biosynthesis in neem (*Azadirachta indica*) [J]. *BMC Plant Biol*, 2015, **15**(1): 214. doi: 10.1186/s12870-015-0593-3.
- [25] BHAMBHANI S, LAKHWANI D, GUPTA P, *et al.* Transcriptome and metabolite analyses in *Azadirachta indica*: identification of genes involved in biosynthesis of bioactive triterpenoids [J]. *Sci Rep*, 2017, **7**(1): 5043. doi: 10.1038/s41598-017-05291-3.