

國立臺灣大學生物資源暨農學院農藝學系

碩士論文

Department of Agronomy

College of Bioresources and Agriculture

National Taiwan University

Master Thesis

籼稭稻雜交 BC₁F₁ 與 F₂ 族群之不平衡分離

Segregation distortion in the BC₁F₁ and F₂ populations
from a cross between *indica* and *japonica* rice.

曾馨儀

Hsin-Yi Tseng

指導教授：胡凱康 博士

Advisor: Kae-Kang Hwu, Ph.D.

中華民國 99 年 6 月

June, 2010

國立臺灣大學碩士學位論文

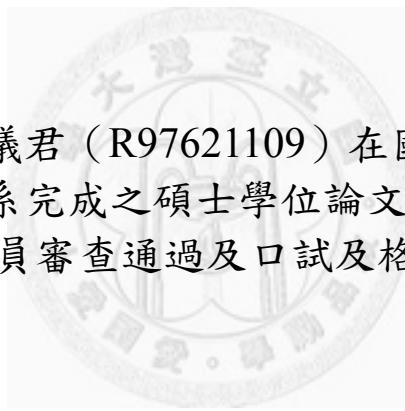
口試委員會審定書

籼梗稻雜交 F_2 與 BC_1F_1 族群不平衡分離之研究

Segregation distortion in the F_2 and BC_1F_1
populations
from a cross between *indica* and *japonica* rice.

本論文係曾馨儀君（R97621109）在國立臺灣大學生物資源暨農學院農藝學系完成之碩士學位論文，於民國 99 年 6 月 10 日承下列考試委員審查通過及口試及格，特此證明

口試委員：



國立臺灣大學農藝學系助理教授

陳凱儀 博士

國立臺灣大學農藝學系助理教授

劉力瑜 博士

國立臺灣大學農藝學系助理教授

林彥蓉 博士

國立臺灣大學農藝學系副教授

胡凱康 博士（指導教授）

中文摘要

不平衡分離是指雜交後代族群的對偶基因或基因型頻度偏離孟德爾定率的一種現象，造成不平衡分離的原因眾多且複雜，可將不平衡分離發生的類型分成配子型與合子型。

為了解不平衡分離的現象，建立以台中秈 10 號 (TCS10) 與台梗 2 號 (TK2) 為親本之 F_2 與 4 個正反回交 (BC_1F_1) 族群，以卡方適合度檢定回交族群分子標誌的分離比，再以 EM 演算法 (expectation and maximum algorithm) 計算不平衡分離的位置與效應的最大概度估計值。實驗結果發現存在配子型的不平衡分離基因座 (segregation distortion loci, SDL)，在 F_1 作為父本的回交族群中 ($TCS10/F_1, TK2/F_1$)，定位到第 3 條染色體的 RD0306 – RD0307 與第 6 條染色體的 RD0612，這兩個 SDL 存活力皆接近於 0；在 F_1 作為母本的回交族群中 ($F_1/TCS10, F_1/TK2$)，定位到第 6 條染色體 RD0603 – RD0605，SDL 在 $F_1/TCS10$ 與 $F_1/TK2$ 回交族群中的存活力分別為 0.69 與 0.46。此外，在以 F_1 為雌親的回交族群 ($F_1/TCS10$) 中，第 11 條染色體的 RD1101-RD1102 間也定位到一個 SDL，SDL 存活力為 0.59。定位到的 4 個 SDL 皆偏向秈型對偶基因。然而，4 個回交族群中並無發現有合子的效應發生。 F_2 族群基因型頻度的表現也符合受到配子型不平衡基因影響的結果。

另一方面，為了解不平衡分離是否會對連鎖距離及 QTL (quantitative trait locus) 的偵測造成影響，及 EM 演算法的準確度，本實驗也利用模擬族群的方式來檢驗。透過模擬族群的結果顯示，在一條染色體中存在有 1 個 SDL 或 2 個 SDL 獨立在不同染色體中時並不影響連鎖距離，也不會影響 QTL 的偵測或 EM 演算法的準確度。只有在同一條染色體中存在有 2 個 SDL 時會對連鎖圖譜造成影響，2 個 SDL 作用方向相同時會造成連鎖距離的縮短；相反的，2 個 SDL 作用方向相反時會造成連鎖距離的增加。

Abstract

Segregation distortion is the deviation of the segregation ratio of a locus from the expected Mendelian ratio. Many causes will lead to segregation distortion, and they could be classified into gametic effect and zygotic effect.

In order to understand this phenomenon, a F_2 and four reciprocal backcross populations from a cross between Taichung Sen 10 (*indica*) and Taikeng 2 (*japonica*) rice were created. Chi-square goodness-of-fit tests were used to determine whether the segregation ratios of backcross populations were deviated from expectation. The EM algorithm was employed to obtain the maximum likelihood estimators of different populations. The results show that there are SDL of gametic effect in the backcross, but they have different effects on different mating types. When F_1 was served as paternal parent in the backcross populations ($TCS10/F_1$ 、 $TK2/F_1$), SDL were detected on the interval between RD0306 and RD0307 of chromosome 3 and RD0612 of chromosome 6. Both of the viabilities of SDL were nearly 0. When F_1 was used as maternal parent in the backcross populations ($F_1/TCS10$ 、 $F_1/TK2$), SDL was detected on the interval between RD0603 and RD0605 of chromosome 6. The viabilities of SDL was 0.69 in $F_1/TCS10$ population, and 0.46 in $F_1/TK2$ population. Additional SDL was detected on the interval between RD1101 and RD1102 of chromosome 11 in the backcross population from a cross between F_1 and TCS10. The viability of this SDL was 0.59. The four SDL both deviated toward *indica* allele. However, no zygotic effect in four backcross populations was found. The genotypic frequencies of F_2 appeared to be a combination of gametic effects without additional zygotic effect.

In the meanwhile, to understand how SDL affect the genetic distance、QTL detection and the accuracy of EM algorithm, simulation experiments were carried out. According to the simulation result, the genetic distance、QTL detection and the accuracy

of EM algorithm will not affect by either one SDL nor two SDL on different chromosomes. The only way that the genetic distance is affected by two SDL on the same chromosome. While the effect of two SDL are the same, the genetic distance will reduce. Otherwise, the genetic distance will increase by the two SDL with different direction.



內容目錄

口試委員會審定書	i
中文摘要	ii
Abstract	iii
內容目錄	v
圖目錄	vi
表目錄	vii
壹、前言	1
貳、前人研究	3
參、材料與方法	14
一、試驗族群	14
二、水稻葉片 DNA 萃取與定量	16
三、基因型定型分析	18
四、花粉充實率檢定	23
五、以 EM 演算法計算不平衡分離基因座的位置與其效應之最大概度 法估計值	24
六、模擬族群	28
1. 檢測兩分子標誌間重組率的模擬	28
2. 檢測 EM 演算法是否可適用於估計單一 SDL 的位置與效應	30
3. 檢測 QTL 的估計是否會受到影響	30
肆、結果	32
一、建立連鎖圖譜	32
二、不同族群不平衡分離的現象	57
三、比較不同族群不平衡分離的現象	66
四、以 EM 演算法計算單一 SDL 的位置與效應的最大概似估計值	70
五、模擬族群	73
1. 模擬族群連鎖距離比較	73
2. 以 EM 演算法計算單一 SDL 的位置與效應的最大概度估計值	74
3. 模擬族群之 QTL 偵測	74
伍、討論	90
一、不平衡分離的現象	90
二、不平衡分離的影響	93
陸、結論	96
柒、參考文獻	97
一、模擬族群連鎖距離比較	102
二、模擬族群外表型分布與 Normal Q-Q plot	112

圖目錄

圖一 不同族群分子標誌連鎖圖譜	40
圖二 12 條染色體上分子標誌兩兩重組率與 LOD 值	52
圖三 回交族群 12 條染色體私型對偶基因頻度圖	59
圖四 F ₂ 族群 12 條染色體上基因型頻度	63
圖五 花粉充實率情形	69
圖六 模擬族群中次族群兩兩分子標誌重組率與 LOD 值圖	76
圖七 模擬族群連鎖圖譜	79



表目錄

表一 12 條染色體上之分子標誌於不同族群的遺傳圖譜的位置 (cM) 與卡方適合度定結果.....	34
表二 以最大概度法估算不平衡分離基因座位置與其效應結果.....	72
表三 模擬族群存在兩連鎖 SDL 情況下正常族群與次族群的連鎖距離比較.....	80
表四 模擬族群使用 EM 演算法估計 SDL 的位置與效應.....	88
表五 模擬族群 QTL 偵測結果	89



壹、前言

水稻 (*Oryza sativa L.*) 是世界上重要的糧食作物之一，而亞洲是稻米主要的種植與食用地區 (Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2007)。水稻經過人類長期的選拔與馴化，使水稻具有廣泛的適應性與豐富的遺傳歧異度 (Garris *et al.*, 2005)。

目前主要的栽培種為籼稻 (*indica*) 和梗稻 (*japonica*) 兩個亞種，在水稻的育種改良上，可利用籼梗稻雜交，產生大量的遺傳變異，從中挑選優良的植株。另一方面，也可利用回交育種的方式將重要基因導入優良品種中。然而，水稻籼梗雜交為亞種間雜交，可能會發生生殖障礙，生殖障礙是物種形成 (speciation) 與物種分化 (differentiation) 的重要因素之一。生殖障礙會阻礙不同基因流動 (gene flow)，造成種間或亞種間雜交的困難。

生殖障礙發生的原因眾多且複雜，例如水稻的雜種不稔基因 (hybrid sterility gene, *S*) 與配子體基因 (gametophyte gene, *ga*) 等 (Kinoshita 1998)。在兩親本雜交時因染色體不正常配對或分離、競爭 (competition)、適應性 (fitness) 或選拔 (selection) 等問題造成基因無法完整的傳遞到下一代 (Lyttle, 1991)，而造成後代對偶基因或基因型頻度上的偏差。將影響基因頻度的基因座稱為不平衡分離基因座 (Segregation distortion loci, SDL)。生殖障礙發生的原因依植物的生命週期區分為下三種：(一) 產生配子時的減數分裂異常造成配子體死亡，(二) 產生配子後的配子體相互競爭問題，(三) 形成合子後合子發育不良或死亡，這些原因會造常後代的對偶基因或基因型頻度偏離孟德爾的遺傳定律，產生了分離率的不平衡分離 (segregation distortion, SD)。

目前研究不平衡分離的方式可利用分子標記對植株進行基因型定型分析 (genotyping)，根據其基因型判讀的結果繪製成連鎖圖譜 (linkage map)，再藉由卡方適合度檢定 (χ^2 goodness-of-fit test) 檢測分子標誌在後代族群中分離的情形，觀

察不平衡分離在染色體上所發生的位置與其效應，以及偏離的方向。另一方面，可利用 F_1 與兩親本進行正反回交的回交族群與 F_2 族群，區分不平衡分離基因座 (segregation distortion locus, SDL) 的類型為作用在形成合子 (zygote) 前的配子型效應或形成合子後的合子效應。更進一步的，可利用統計模式估計 SDL 的位置與效應。

本實驗利用已建立的以台中秈 10 號 (TCS10) 與台梗 2 號 (TK2) 為親本的回交 (TCS10/TK2//TCS10) 與 F_2 族群，使用相同雜交親本另外再建立三種回交族群 (TSC10//TSC10/TK2、TK2/TCS10//TK2、TK2//TCS10/TK2)，形成 1 個 F_2 族群與 4 個正反回交的回交族群，期望區別不平衡分離發生的原因為 F_1 在特定做為雌雄配子時的配子型不平衡分離，或是有偏向特殊基因型的合子型不平衡分離。另一方面，為了解 SDL 會不會對兩分子標誌間重組率的估計造成影響等問題，因此透過模擬族群的方式，分別檢測存在 SDL 與不存在 SDL 時是否存在差異，進行族群的模擬。



貳、前人研究

孟德爾的兩大遺傳定律：分離率 (law of segregation) 和獨立分配律 (law of independent assortment)，奠定了古典遺傳學的基礎，解釋了多數有性生殖的遺傳方式。然而，在遠源雜交的物種上會常會觀察到不平衡分離 (segregation distortion) 的現象，或有時候稱為傳遞率偏差 (transmission ratio distortion, TRD)，是指雜交後代族群的對偶基因或基因型頻度偏離孟德爾定率的一種現象。在許多物種中都有不平衡分離的例子，例如向日葵 (*Helianthus argophyllus*) (Quillet *et al.*, 1995)、果蠅 (*Drosophila melanogaster*) (Lyttle, 1993)、玉米 (*Zea mays*) (Lu *et al.*, 2002)、猴子花 (*Mimulus guttatus*) (Hall and Willis, 2005)、阿拉伯芥 (*Arabidopsis thaliana*) (Törjék *et al.*, 2006)、番茄 (*Lycopersicon esculentum*) (Moyle and Graham, 2006)、水稻 (*Oryza sativa*) (Zhao *et al.*, 2006) 與棉花 (*Gossypium arboreum*) (Li *et al.*, 2007) 等。

Fishman 等人對不平衡分離有了一系列的研究，他們所使用的材料為兩個不同種的猴子花：*M. guttatus* (G) 和 *M. nasutus* (N)，前者主要的授粉方式為利用昆蟲幫助授粉的異交，後者為閉花授粉的自交，且兩者在開花時間與花的外型上有極大的差異，種種原因使它們產生了交配前的生殖隔離，但是儘管有這些生殖隔離的機制，在野外還是可以經常看見他們的雜交體產生，因此這些材料很適合拿來研究物種的演化過程。

Fishman 等人 (2001) 以猴子花 *M. guttatus* ($2n=28$) 與 *M. nasutus* ($2n=28$) 為兩親本，以 N/G 產生 F_1 ，之後自交建立 F_2 族群，利用 AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism, AFLP) 等分子標記對試驗族群進行不平衡分離的卡方適合度檢定與 Bayesian 定位法，255 個分子標誌裡有幾乎一半 (49%) 的分子標誌偏離了孟德爾的遺傳比例，他們綜合兩者結果發現至少有 11 個不平衡傳遞率基因座 (transmission ratio distorting loci, TRDLs) 散佈在猴子花 14 對染色體上，且大多數是偏向 *M. guttatus* 對偶基因或 *M. guttatus* 同質結合型，而缺乏 *M. nasutus* 同質結

合型。

Fishman 等人 (2005) 年建立另外四種正反回交族群 ($G/N/G$ 、 $N/N/G$ ； $N/G/N$ 、 $N/G/G$) 進行不平衡分離的分析，分析發生嚴重不平衡分離的第 11 個連鎖群，結果顯示不平衡分離只發生在以 F_1 作為雌親本的組合 ($N/G/N$ 、 $N/G/G$)，推測不平衡分離的發生是因為雌配子存在減數分裂驅動基因座 (meiotic drive locus, D)；而為了驗證該不平衡分離的正確性，建立以 F_1 為母本、*M. nasutus* 為輪迴親父本的 NILs (near isogenic lines) 族群，發現與 D 基因座緊密連鎖的分子標誌 MgSTS87 位置上，仍然有大於 90% 的 NILs 植株表現出異質結合型。

Fishman 等人 (2008b) 研究 *M. guttatus* (G) 與 *M. nasutus* (N) 花粉競爭的問題。同樣利用之前建立的四種正反交來檢測不平衡分離的問題，他們說明了不同存活力基因會在不同回交族群中看到的不同結果：第一，若是有同種花粉競爭優勢的問題，則不平衡分離會發生在以 F_1 當作雄親的兩個組合中 (N/F_1 、 G/F_1)，而不發生在以 F_1 當雌親的兩個回交組合中 (F_1/N 、 F_1/G)。第二，若有雌配子的減數分裂驅動基因存在，則不平衡分離會發生在以 F_1 當作雌親的兩個組合中 (F_1/N 、 F_1/G)，而不發生在以 F_1 當雄親的兩個回交組合中 (N/F_1 、 G/F_1)。第三，若 F_1 當作雄親或雌親與某一親本回交都發生不平衡分離，則為合子的效應。結果發現不同連鎖群中 G 的花粉有很強烈的競爭優勢，且大部分與花柱有關 (style-dependent)，少部分與花柱無關 (style-neutral)，即在 G 的花柱背景下，後代大多偏向 G 的對偶基因。不同區域存在不同的效應。在 Diaz 等人 (1999) 的實驗中也發現 G 和 N 的混合花粉授粉中，G 的花粉具有幾乎 100% 的優勢在 G 的柱頭中。研究中也發現不只有雄配子的競爭效應，還有其他複雜的機制參與，推測物種分歧的演化過程中由雌雄配子共同演化出特殊的交配系統。

不平衡分離現象的發生可能有很多原因：非生物性的原因如統計的取樣問題 (sampling error)、基因型定型錯誤 (genotyping error)、資料遺失 (missing data) 等 (Plomion *et al.*, 1995)，非生物性的問題並不會遺傳到下一代，也不會有大規模的不

平衡分離，原因也較單純，因此很容易做區別。生物性的原因眾多且複雜，在兩親本雜交時因染色體不正常配對或分離、競爭 (competition)、適應性 (fitness) 或選拔 (selection) 等問題造成基因無法完整的傳遞到下一代 (Lyttle, 1991)，而造成後代對偶基因或基因型頻度上的偏差。因此，不平衡分離也被視為一種生殖障礙，阻止了不同基因間的流動 (Harushima *et al.*, 2001)，可能因此形成物種的分化。在遺傳模式方面，也有一些學者提出有關雜交不稔 (hybrid sterility) 或雜種衰退 (hybrid breakdown) 的遺傳模式，解釋了導致生殖障礙的基因間交互作用。

一般有性生殖的植物，如水稻，其生命週期可以被區分成單倍體 ($1n$) 的配子體世代 (haploid gametophyte generation) 與兩倍體 ($2n$) 的孢子體世代 (diploid sporophyte generation)。被子植物具有兩種配子體：雌配子體與雄配子體，其卵細胞與精細胞各自帶有單套的染色體。雌配子體指成熟的胚囊 (embryo sac) 或大配子體 (megagametophyte)，大部分包含三個反足細胞 (antipodal cell)、兩個助細胞 (synergid cell) 與一個卵細胞 (egg cell)，中央為具有兩個極核的中央細胞 (central cell) (劉等，1997)。雄配子體指成熟的花粉粒或小配子體 (microgametophyte)。成熟的花粉粒落到柱頭上萌發出花粉管，花粉管延伸至子房中，精細胞進入胚囊後進行雙重授精，一個精核與卵細胞結合，之後發育為二倍體的胚，或稱為合子 (zygote)，另一個精核與中央細胞的兩個極核結合，之後發育為三倍體的胚乳，胚與胚乳發育為種子，種子再發育成植株，完成了世代的交替 (楊，2005)。

在任何時期都有可能發生不平衡分離，因此依照上述生命週期的進行，將不平衡分離在世代中發生的時期可以區分為三種：(一) 發生在減數分裂時期的染色體階段，例如減數分裂驅動 (meiotic drive) (Fishman and Saunders, 2008a)、重排 (rearrangement) 與易位 (translocation) 等現象而造成的非整倍體 (aneuploidy) 等 (Fishman *et al.*, 2001)，造成染色體配對上的異常或減數分裂無法進行或配子的敗育 (Rick, 1966) 等。(二) 發生在受精作用之前的雄配子效應或雌配子效應，植物在配

子體時期經常會面臨到競爭或淘汰的問題，如同種花粉競爭優勢 (conspecific pollen precedence) (Fishman *et al.*, 2008b; Howard, 1999)、花粉-雌蕊不和合 (pollen-pistil incompatibilities) (Herrero and Dickinson, 1979)、花粉的附著能力 (Liu *et al.*, 2004)、花粉管萌發速率不同 (Diaz and Macnair, 1999) 等。(三) 發生在受精作用之後的合子效應，可能會發生合子敗育 (zygote abortion) (Matsubara *et al.*, 2003) 或雜種衰退 (hybrid breakdown) (Jiang *et al.*, 2008) 等。

然而，孢子體與配子體之間也可能會有交感作用的發生，雜交不稔 (hybrid sterility) 性狀就是一個常見的例子，帶有異質結合的 F₁ 植株所產生的特定基因型的配子容易造成敗育。在水稻籼梗雜交中，S5 基因與 Sa 基因是兩個已被選殖的雜交不稔基因，分別影響雜交種 F₁ 的雌配子與雄配子的發育 (Chen *et al.*, 2008; Long *et al.*, 2008)，受影響的配子基因型無法傳遞到後代亦會造成後代發生不平衡分離。

通常需要特別設計試驗做更細部的基因型分析，否則難以區分不平衡分離是發生在減數分裂時期的染色體階段、受精作用之前的配子效應或受精作用之後的合子效應 (Vogl and Xu 2000; Fishman *et al.* 2001, 2005, 2008)。因此，將不平衡分離的作用型式分成在配子體世代作用的配子型不平衡分離與在孢子體世代作用的合子型不平衡分離。配子體世代是從減數分裂開始到發育成成熟配子的階段，配子攜帶著單套的對偶基因，若發生配子型不平衡分離，則會影響後代對偶基因 (allele) 的頻度；孢子體世代則從合子發育開始到發育成種子直到長成植株的階段，合子攜帶著雙套的對偶基因，若發生合子型不平衡分離，則會影響後代基因型 (genotype) 的頻度。

在研究這一類的問題時，可分成不同的角度來分析。首先，可以從形態發育上觀察，觀察各種部位或時期的情況，利用組織切片或染色技術來確認細胞是否正常的發育，或是觀察授粉時花粉的附著與萌發狀況，藉此找到癥結所在。另一方面，可以利用基因型定型分析的結果觀察對偶基因或基因型頻度的偏離，利用

SDL 與分子標誌連鎖的關係，找出染色體的哪些區段上的分子標誌發生偏離，且可發現偏離的趨勢，依照被影響的基因型式，可分成影響對偶基因頻度的配子型不平衡分離，或是影響基因型頻度的合子型不平衡分離。更進一步的，從統計的角度來看，可建立不同的遺傳模式，計算模式的最大概度值，找出最適合的解釋模式，並估計出 SDL 的位置與效應，對資料賦予更精確的解釋，且可以同時找到所有影響的因子和他們之間的交互作用。

先從形態觀察的角度來看，在籼梗雜交的 F₁ 發育上，與雌配子或雄配子形成的過程中，都有發現發育異常的例子。

Liu 等人 (2004) 也對籼梗雜交的不稔性進行詳細的研究：他們所使用的材料為兩個籼稻品種 (Nanjing 11 和 IR36) 與一個梗稻品種 (Akihikari) 做雜交親本，產生亞種間 (Nanjing 11 / Akihikari) 與亞種內 (Nanjing 11 / IR36) 雜交 F₁。觀察亞種間與亞種內雜交的雌雄配子發育、花粉的育性、花粉在柱頭上附著與萌發的情形與受精比率。結果顯示雌雄配子的發育過程都有敗育的情形，且亞種間雜交的雌、雄配子敗育率遠高於亞種間雜交。另外，花粉在柱頭上的附著率與授精的比例在亞種間雜交遠低於亞種內雜交，籼梗雜交也遭遇到花粉管萌發困難的問題，這些結果都顯示水稻亞種間的雜交牽涉到形成合子前與形成合子後的生殖隔離機制。

Zeng 等人 (2009) 描述胚囊敗育是籼梗雜交發生不稔的主要原因之一，他們使用了兩個不同的梗稻品種 (Liaojing 944 與 Taichung 65) 作為雌親，一個籼稻品種 (Guangluai No. 4) 當作雄親，產生兩種雜交 F₁，觀察三種親本與兩種 F₁ 的雌配子發育過程。結果在 F₁ 大孢子發育時期與雌配子體發育時期都有不同形式的異常，但仍有部分正常發育的胚囊。將異常的結果分成五個部份：大部分的異常是發生在減數分裂之後，當大孢子要發育成單核時期時發生退化，使胚囊不發育，其他四種是發生在八個核的胚囊時期；第二種是不正常的小胚囊，胚囊大小只有正常

成熟胚囊大小的一半；第三種是胚囊內沒有卵器（包含一個卵細胞與兩個助細胞），但具有兩個極核的中央細胞依然存在；第四種為胚囊內無雌性生殖單位（包含卵器與中央細胞）；第五種為胚囊內有不正常的極核。這些敗育的雌配子會導致雄配子無法正常受精或正常發育成種子。

而在試驗族群中發生不平衡分離的分子標誌在不同染色體的特定區域上有群集的現象（熱點），其特定區域大多與配子體基因（gametophyte gene, *ga*）或雜種不稔基因的所在位置重疊，故推論不平衡分離的現象應該與這一類型的基因有關（徐等 1995, Li *et al.*, 2008, Zhao *et al.*, 2006）。

徐等人（1995）年建立以秈稻 Zhaiyeqing 8 為母本、粳稻 Jingxi 17 為父本的雜交 F₂ 族群，利用限制性片段長度多型性（restriction fragment length polymorphism, RFLP）分子標誌對試驗族群進行不平衡分離的卡方適合度檢定 (χ^2 goodness-of-fit test)，發現部分發生不平衡分離的分子標誌分別在第 3、7、12 條染色體的特定區域上有群集（cluster）的現象，稱之為熱點（hot spot）。劉等人（1997）年使用相同親本所建立的雙單倍體族群（double haploid, DH）檢測到的 10 個不育基因（sterility gene, *S*）中的兩個不育基因：stj-3 和 stj-12 與徐等人（1995）在第 3、12 條染色體上不平衡分離的熱點位於染色體相同位置，顯示不育基因是造成不平衡分離的原因之一。

黃等人（2003）建立以粳稻台農 69 號為母本、粳稻越光為父本的雜交 F₂ 族群，發現在水稻亞種內的粳稻雜交族群中也會發生高比例的不平衡分離；推論由於台農 69 號是種間雜交後代，帶有的野生稻基因，因此也可能存在著雜種不育基因，使 F₂ 出現高度偏離的現象。對作物育種而言，基因型頻度偏低的狀況會影響目標基因的選拔。

Li 等人（2008）利用 *Oryza sativa* 與 *Oryza glaberrima* 進行種間雜交產生的 BC₁F₁ 族群定位花粉不稔基因與小穗不稔基因，更進一步使用 BC₇F₁ 定位這些不稔

基因，發現第3條染色體與第7條染色體上的不稔基因位置與BC₁F₁發生不平衡分離的區域有重疊，推測不平衡分離是由不稔基因所造成的。

為了區別不平衡分離的效應是來自雌配子或雄配子時，可利用正反回交(reciprocal backcross)的方式(Harushima *et al.*, 1996)來區分。在兩親本的生育能力皆為正常情況下，利用兩親本雜交所得的F₁植株分別作為父本或母本與其他兩親本回交的後代可觀察後代不平衡分離的表現是作用於雌配子或雄配子或同時作用於雌雄配子(Faris *et al.*, 1998)。若不平衡分離只有在F₁做為某一親本時出現，且都偏向某種對偶基因時，則可區分出不平衡分離是發生在雌配子世代或雄配子世代，且偏向某一種對偶基因，即為佔優勢的對偶基因。

為了區別不平衡分離的效應是否為合子效應時，可利用F₂族群來檢測，F₂族群可產生所有可能的基因型組合，許多互補的隱性基因也在F₂時才會表現，如雜種衰退(Matsubara *et al.*, 2003)等，然而F₂族群不平衡分離的表現是綜合配子型與合子型不平衡分離的表現，因此可配合回交族群的結果來區分這些效應。

Kumar等人(2007)利用四倍體(AABB)栽培種硬粒小麥(*Triticum turgidum ssp. durum*)“Langdon”(C)與兩種以Langdon為遺傳背景的野生二粒小麥(*T. turgidum ssp. dicoccoides*)5B染色體置換系(disomic substitution line, D and E)作為試驗材料(即只有5B染色體被置換為野生二粒小麥，其他背景都是C)，建立六種正反回交族群(D//C/D、C//C/D；C/D//C、C/D//D；E//C/E、C/E//E)，發現不平衡分離只發生在以F₁作為父本的組合下(D//C/D、C//C/D、E//C/E)，推測不平衡分離的發生是來自於雄配子效應，然而，這些族群發生不平衡分離的區域不完全相同，在不同區域上具有優勢的對偶基因也不同，顯示不同區域之間發生的不平衡分離可能具有不一樣的作用機制；除了單純的雄配子效應外，部分雄配子會傾向與某種雌配子結合，顯示雌配子與發生不平衡分離的雄配子之間可能具有交感作用。

Törjék 等人 (2006) 反過來利用不平衡分離的現象找到對於調控生育力具有上位交感作用的兩基因座。先建立以阿拉伯芥品種 Col-0 與 C24 為親本的正反交重組自交系 (Recombinant inbred lines, RILs)，利用單一核苷酸多型性 (single nucleotide polymorphism, SNP) 分子標記對試驗族群進行不平衡分離的卡方適合度檢定，再進行分子標記兩兩之間的連鎖失衡檢定；深入分析後發現衰退的生育力為兩基因交感所致，第四條染色體上 Col-0 同質結合型存在下，會使得第五條染色體末端 C24 同質結合型減少。另外，Törjék 等人為了驗證衰退的生育力是來自於雄配子或雌配子效應，利用顯微鏡觀察植株的花器，發現發生生育力衰退的植株中多數植株的雄蕊上只帶有少數或根本沒有花粉，且角果較短；再將生育力衰退的植株與正常的植株進行正反交，兩者都可以產生種子，且種子可正常發育，表示雌配子並沒有受到存活力基因的影響，顯示主要效應應該發生在雄配子的發育過程中。

大部分在建立連鎖圖譜時若遇到有不平衡分離現象發生時，大部分的作法是將這些分子標誌丟棄，但這種做法也同時影響分子標誌的密度及造成許多有用資訊的流失，且若存活力基因的效應大則影響不平衡分離的區域不僅是相鄰的分子標誌而已，也會影響附近分子標誌的分離，因此有必要研究不平衡分離對連鎖圖譜建立的影響，及對 QTL 分析的影響等 (Xu, 2008)。除了可以發展高密度連鎖群圖譜來偵測 SDL 的存在外 (Harushima *et al.*, 1996)，許多學者進一步也用統計的方式，建構不同的模式來估計 SDL 的位置與效應。

最早 Hedrick 與 Muona (1990) 提出簡單的最大概度法 (maximum likelihood method) 計算存活力基因的選拔系數 (selection coefficient) 與存活力基因與分子標誌的重組率，但是 Hedrick 與 Muona 所提出的存活力基因是隱性 (recessive) 的模式，Fu 與 Ritland (1994) 在文章中指出如果存活力基因是部分顯性則 Hedrick 與 Muona 的隱性模式是偏估 (biased) 的。

Lorieux 等人 (1995a; 1995b) 在研究中指出，若同一條染色體上存在有一個 SDL 時，使用 Bailey (1949) 所提出的傳統估計重組率的方法並不會影響重組率的估算，但同時存在兩個或兩個以上的 SDL 時，使用 Bailly 的估算法會與真正的重組率有偏差，也會影響兩分子標誌是否連鎖的判斷，另外，在分子標誌間的排序上也受到 SDL 的影響，因此對遺傳圖譜的建構造成很大的影響。另一方面，Lorieux 等人也指出顯性分子標誌 (dominant markers) 受到 SDL 的影響比共顯性分子標誌 (codominant markers) 更大。

不平衡分離的資料分布視為被不平衡分離基因 (segregation distortion loci, SDL) 影響個體的存活，而導致部分資料的缺失、隱藏，因此為一種不完全的資料 (incomplete data) 形式，而 EM 演算法 (expectation and maximum algorithm, EM algorithm) 的使用時機就是處理這種不完全資料的演算法 (Dempster *et al.*, 1977)。EM 演算法包含兩個主要的步驟：E-step (expectation step) 與 M-step (maximization)，在 E-step 中由現有的觀測值資料計算遺失資料的期望值，在 M-step 中利用 E-step 中計算出的期望值，即假設遺失資料已知的情況下對最大概似函數進行最大化求得參數的估計值，再將估計值重新帶入 E-step 中計算，經由反覆迭代 (iterative) 的運算方式計算至參數的估計值收斂為止。

Cheng 等人 (1996；1998) 針對 BC 與 F₂ 族群使用了 EM 演算法 (expectation maximization algorithm) 計算 SDL 與前後 marker 的重組率 c_1 、 c_2 與 SDL 的存活力 t 的最大概度估計值 (maximum likelihood estimator, MLE)。1996 年的文章使用的材料是籼梗稻雜交產生的 F₂ 族群，針對不同的情況做了不同遺傳模式的假設：不平衡分離是由於雌配子或雄配子的選拔、或是雌雄配子同時選拔、或者存活力是由於某一親細胞核的隱性致死基因搭配另一親的細胞質時表現出來，並針對三種不同的模式計算其卡方適合度，找出最適合的模式。1998 年的文章中使用的材料為兩個不同的大麥品種產生雙單倍體 (double-haploid, DH) 族群，同樣利用最大概度法與 EM 演算法估計 SDL 與前後 marker 的重組率 c_1 、 c_2 與 SDL 的存活力 t ，同

樣的方法也可應用在回交族群中，但是只有單一的回交或雙單倍體族群並不能分辨出是由於配子的效應或合子的效應所造成，必須做更進一步的實驗證實。Cheng 等人指出 EM 演算法估計 SDL 與分子標誌之間的重組率 c_1 、 c_2 與存活力 t 之間是獨立的，表示 c_1 、 c_2 的估計並不會受到存活力 t 的影響。

觀察到不平衡分離的現象後，可針對 SDL 的位置與效應進行估計，但和一般數量性狀基因座 (quantitative trait locus, QTL) 定位不同的是，SDL 所呈現的資料僅是存活個體的基因型資料，部分遭到淘汰的個體便無法得知其資訊 (Zhu and Zhang, 2007a)，至 2005 年，Luo 等人 (Luo *et al.*, 2005) 發展了類似定位 QTL 的方式，以 F_2 族群為例，將 SDL 存活與否視為由非遺傳的系統性環境效應 (systematic environmental effects)、加性效應 (additive effect)、顯性效應 (dominance effect) 及殘差 (residual error) 所共同影響一個假想的性狀，liability，若超過門檻值時個體存活，反之則死亡，利用這一套 liability 線型模式，也透過蒙地卡羅模擬 (Monte Carlo simulation) 的試驗結果顯示這種數量性狀的模式適用於單一 SDL 存在的情況，若同時存在兩個距離接近的 SDL 時，必須發展多點的模式。

Zhu 等人 (2007b; 2007c) 發展透過隱馬爾可夫鏈 (Hidden Markov chain) 模式的多點方法重建連鎖圖譜，可重建存同一條染色體中在兩個或兩個以上的 SDL 的連鎖圖譜，適用於 F_2 、回交、雙單倍體 (double haploid, DH)、重組自交系族群 (recombinant inbred line, RIL)，也同時考慮了顯性分子標誌 (dominant marker) 及遺失的分子標誌 (missing marker)，可以更廣泛的應用在分析上。

Xu 與 Hu (2010)也發展了用不平衡分離的分子標誌來定位 QTL，當 QTL 與 SDL 連鎖近時或重疊時此種聯合分析 (joint analysis) 可提供更好的偵測能力 (power)，但也只能使用區間定位法 (interval mapping)，要發展多點 QTL/SDL 聯合分析是比較困難的。

另一方面，Vogl 與 Xu (2000) 發展最大概度法和貝氏法 (Bayesian) 來定位 SDL 與估計 SDL 的效應。最大概度法是透過 EM 演算法來計算，Bayesian 法是透過馬爾可夫鏈 (Markov chain Monte Carlo, MCMC) 來估計，可檢測 SDL 的數量及位置與效應。Bayesian 法比 ML 法計算上較麻煩但可處理較複雜的情形，如 2 個 SDL 存在時。

一般水稻栽培種在正常生長狀況下皆可正常產生種子，繁殖下一代，但在部分籼稈雜交的雜交種 F_1 中，以 F_1 做為材料進行回交或自交時會發現不平衡分離的現象，因此推測為 F_1 在產生配子過程中有發生減數分裂驅動或配子存活等問題，或是 F_1 與其他親本雜交或自交產生特定基因型造成存活力的問題等造成後代觀察到不平衡分離的現象。2008 年吳建立以台中籼 10 號 (TCS10) 為輪迴親、梗稻台梗 2 號 (TK2) 為貢獻親的籼稈稻雜交 BC_1F_1 族群，其譜系為 TCS10/TK2//TCS10。發現第 3、6、11 條染色體上發生不平衡分離的分子標誌有「群集」的現象，且三者都傾向於籼稻同質結合型。另一方面，王於 2010 年也使用同樣的雜交親本建立 F_2 族群，發現在第 3、6、7 條染色體上的分子標誌也有群聚的不平衡分離，在第 3、6 條染色體為偏向籼稻同質結合型與異質結合型，或是偏向籼型對偶基因，在第 7 條染色體為偏向梗稻同質結合型與異質結合型，或是偏向梗型對偶基因。

參、材料與方法

一、試驗族群

試驗族群為以良質米品種台中秈 10 號 (*Oryza sativa L. spp indica* cv. Taichung Sen 10, TCS10) 與台梗 2 號 (*Oryza sativa L. spp japonica* cv. Taikeng 2, TK2) 為親本產生雜交種 F₁後，將 F₁植株套袋自交產生 F₂族群，另一方面，將 F₁分別作為父本與母本分別與兩親本回交產生 4 個正反回交族群：SF、KF、FS、FK，其譜系分別為：TCS10//TCS10/TK2、TK2//TCS10/TK2、TCS10/TK2//TCS10、TCS10/TK2//TK2。

台中秈 10 號由農委會台中區農業改良場育成，原品系名為台中秈育 229 號，育成經過為 1974 年第一期作以台中秈試 204 號為母本、嘉農秈育 14 號為父本進行雜交，1976 年一期作進行初級產量比較試驗，1977 年一期作至 1978 年二期作進行高級產量比較試驗，長秈稻地方試驗，稻米品質分析，1979 年第一期作登記命名推廣。其品種特性為高產、米粒細長、腹白無或稀少、直鏈性澱粉含量低、米質與食味優良；抗稻熱病、稍抗褐飛蟲；強稈不易倒伏、耐肥性佳，為主要秈稻栽培品種，也是良質米中唯一的秈稻品種（林 1980；許與楊 2009）。

台梗 2 號由農委會台南區農業改良場育成，原品系名為台南育 205，育成經過為 1982 年第一期作以台農 67 號與嘉農育 252 號雜交之 F₁為母本、臺南 9 號為父本進行雜交，1984 年第一期作選出，1989 年第一期作登記命名推廣。其品種特性為高產、米粒大而飽滿、腹白無或稀少、外觀品質良好、米質與食味品質優良；抗褐飛蟲與斑飛蟲、稍抗稻熱病；強稈不易倒伏、耐肥性佳、脫粒性適中，且因再生能力強而適合再生稻栽培，並於 2005 年第二屆、第三屆全國稻米品質競賽中，連續兩屆榮獲稻米品質競賽冠軍，亦為目前良質米推薦品種（莊等 1990）。

FS 回交族群由吳 (2008) 所建立，於 2006 年二期作末以 TCS10 為母本、TK2 為父本進行雜交產生正交 F₁，2007 年一期作 F₁經基因型定型分析 (genotyping) 檢

測後共有 2 株雜交成功的 F₁，2007 年一期作末期以 F₁ 植株為母本、TCS10 為父本進行回交，產生 BC₁F₁ 種子，2007 年二期作開始進行 BC₁F₁ 的基因型定型分析，共 254 株回交成功的植株。F₂ 族群由王（2010）所建立，於 2006 年二期作末以 TK2 為母本、TCS10 為父本進行雜交產生反交 F₁，2007 年一期作 F₁ 經基因型定型分析（genotyping）檢測後共有 4 株雜交成功的 F₁，於 2007 年第一期作末期以 4 株反交 F₁ 植株（TK2/TCS10）套待產生自交 F₂ 種子，待種子成熟後加以收穫、保存，於 2008 年第一期作種植 F₂ 植株，並待植株長至 4 至 5 葉齡時準備剪取植株葉片，以萃取 DNA 並進行基因型定型分析，共抽取 286 株 F₂ 植株葉片。

SF、FK、KF 族群使用正交 F₁ 植株進行回交。於 2008 年第一期作、2008 年第二期作、2009 年第一期作、及 2009 年第二期作於台大試驗農場生產 SF、FK、KF 回交族群，共產生 330 粒 SF 回交族群種子，286 粒 FK 回交族群種子，301 粒 KF 回交族群種子，共 194 株萌芽成功的 SF 回交族群植株，160 株萌芽成功的 FK 回交族群植株，78 株萌芽成功的 KF 回交族群植株。2009 年二期作於嘉義農試所進行 FK 與 KF 回交族群的種子生產，共獲得 FK 種子 160 粒，KF 種子 105 粒，共 96 株萌芽成功的 FK 回交族群植株，80 株萌芽成功的 KF 回交族群植株。經基因型定型分析，檢測後 SF 回交族群共有 31 株成功回交植株，FK 回交族群共有 186 株成功回交植株，KF 回交族群共有 87 株成功回交植株。

二、水稻葉片 DNA 萃取與定量

試驗中使用的水稻葉片 DNA 萃取法修改自 Dolye 等人 (1990) 的 CTAB 法：

以 75% 酒精擦拭 0.05 g 新鮮水稻葉片表面後裝入 2.0 mL 離心管中，以冷凍乾燥機 (Cat. No.: FD-5030，泛群科技有限公司) 乾燥 24 小時。乾燥完成後於每管加入約 0.5 g 的玻璃珠，以組織研磨機 (TissueLyser, Cat. No.: 85210, QIAGEN) 連續震盪兩次 30 秒，待葉片完全研磨成粉末後倒出玻璃珠，加入 800 μ L CTAB-PVP 溶液 [2% hexade cyltrimethyl ammonium bromide (CTAB), 1.4 M NaCl, 20mM ethylene diamine tetra acetic acid (EDTA), 100mM Tris-HCl (pH 8.0), 100mM Trisma Base (pH 8.0), 0.2% 2-mercaptoethanol (β -ME), 1% polyvinylpolypyrrolidone (PVP), 20mM RNaseA]，劇烈搖晃至混合均勻。

將樣品放入預熱 65°C 的水浴槽中處理 1 小時，完成後以 16000 xg (14299 rpm) 離心 10 分鐘。離心結束後將上清液倒入新的 1.5 mL 離心管中，並加入 500 μ L 氯仿/異丙醇 [Chloroform/Isoamylalcohol (24:1)] 以試管震盪器 (Vortex-Genie 2, Cat. No.: SI-0236, Scientific Industries, Inc.) 劇烈震盪 30 秒，再以 16000 xg (14299 rpm) 離心 10 分鐘。離心結束後吸取 400 μ L 上清液至內裝 200 μ L 5M NaCl 的 1.5mL 離心管中，在加入 360 μ L (0.6 倍體積) 異丙醇 (Isopropanol)，靜置於室溫下過夜。

靜置過夜後以 5009 xg (8000 rpm) 離心 5 分鐘。離心結束後倒出上清液並加入 1mL wash buffer (0.2 M sodium acetate, 75%EtOH)，以 16000 xg (14299 rpm) 離心 5 分鐘。離心結束後倒出上清液並加入 1mL 75% 酒精，以 16000 xg (14299 rpm) 離心 5 分鐘。離心結束後倒出上清液並將離心管倒置於桌面上乾燥 30 分鐘。待管內完全乾燥後加入 50 μ L TE 溶液 [10 mM Tris(pH 8.0), 10 mM EDTA(pH 8.0)]，使 DNA 完全溶解於 TE 溶液中作為原始 DNA 溶液。

取 2 μ L 原始 DNA 溶液 (溶於 50 μ L TE 溶液的 DNA 樣品) 加上 1 μ L 追蹤染

劑 (6× loading dye) (0.2% bromophenol blue, 0.2% xylene cyanol FF, 60% glycerol, 60mM EDTA)，以 1% 洋菜膠片 [Agarose I, 0.5× Tris-borate EDTA (TBE) buffer] 進行 100 伏特、60 分鐘的電泳；電泳完畢後，將膠片以 0.5 µg/mL ethidium bromide (EtBr) 染色 15 分鐘、再以蒸餾水退染 15 分鐘，最後將膠片放置於 UV 燈箱上觀察 DNA 品質、並拍照紀錄。

再取 1.5 µL 原始 DNA 溶液以分光光度計 (NanoDrop-1000, Thermo Scientific) 進行 DNA 濃度定量。定量完成後依定量結果將原始 DNA 溶液以 QH₂O 稀釋至 10 ng/µL 作為進行聚合酵素連鎖反應 (Polymerase chain reaction, PCR) 的操作溶液，並將剩下的原始 DNA 溶液放入 -20°C 冰箱中保存備用。



三、基因型定型分析

待植株生長達 3 至 4 葉齡後開始剪取葉片進行 DNA 萃取，並先選取每一條染色體上開頭各一個分子標誌進行第一次的基因型定型分析；再選取每一條染色體上尾端各一個分子標記進行第二次的基因型定型分析，觀察電泳照片並判讀該基因型：在 FS 族群中，剔除具有梗型同質結合基因型的植株；在 FK 族群中，剔除具有私型同質結合基因型的植株；在 SF 與 KF 族群中，保留具有異質結合型的植株。

利用剩下的分子標誌繼續完成基因型定型分析，將表現出私稻同質結合基因型的記成 I、梗稻同質結合基因型的記成 J、表現出異質結合基因型的記成 H。待所有資料點匯整完畢後進行下一步的資料分析。

在試驗中的 InDel 與 SSR PCR 反應中，每一個反應的總體積為 10 μL ，其中包括 4.08 μL QH₂O、1 μL 10× buffer (內含 2 mM MgCl)、0.8 μL dNTP (2.5 mM)、1 μL 正向引子 (4 μM)、1 μL 反向引子 (4 μM)、0.12 μL Taq DNA polymerase (5U/ μL) (Yeastern Biotech Co., Ltd.)、2 μL DNA (10ng/ μL)。PCR 反應在熱循環反應器 (GeneAmp® PCR system 9700, Applied Biosystems) 中進行。

進行 InDel PCR 的反應條件為 94°C 2 分；94°C 30 秒、55°C (依黏合溫度最佳化測試結果可改為 50°C 或 60°C) 20 秒、72°C 30 秒，循環 2 次；94°C 20 秒、55°C (50°C 或 60°C) 15 秒、72°C 20 秒，循環 34 次 (因不同分子標記的擴增效率不同，可正負加減 2 次循環)；72°C 4 分；反應結束後以 4°C 保存擴增產物。

在 10 μL InDel PCR 擴增產物中加入 1 μL 6× loading dye，並以 2% 洋菜膠片 [(Agarose I), 0.5× Tris-borate EDTA (TBE) buffer] 進行 300 伏特、共 20 分鐘的電泳；電泳完畢後將膠片以 0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ EtBr 染色 15 分鐘、再以蒸餾水退染 15 分鐘，最後將膠片放置於 UV 燈箱上觀察、並拍照紀錄。

進行 SSR PCR 的反應條件為 94°C 2 分；94°C 1 分、55°C (依黏合溫度最佳化測試結果可改為 50°C 或 60°C) 30 秒、72°C 1 分，循環 2 次；94°C 20 秒、55°C (50°C 或 60°C) 20 秒、72°C 30 秒，循環 34 次 (因不同分子標記的擴增效率不同，可正負加減 2 次循環)；72°C 3 分；反應結束後以 4°C 保存擴增產物。

高解析度的 6% 聚丙烯醯胺凝膠每 100 mL 中含有 75 mL QH₂O、10 mL 5× TBE buffer、15 mL acrylamide solution (acrylamide:bis = 19:1) (40%)；混合後以 700 μL ammonium persulfate [10% (w/v)] 與 80 μL tetramethylethylenediamine (TEMED) 為催化劑，將未凝固的凝膠灌製成厚 1 公厘的膠片。待 1 小時膠片凝固後，先以含有 10% EtBr 的 0.5× TBE buffer 預染 2 小時，再將加有 1 μL 6× loading dye 的 10 μL SSR PCR 擴增產物進行 300 伏特、共 90 分鐘的電泳；電泳完畢後將膠片放置於 UV 燈箱上觀察、並拍照紀錄 (Wang *et al.*, 2003)。



四建立連鎖圖譜、不平衡分離的分析、繪製兩兩標誌間的重組率與 LOD 值圖

利用統計套裝軟體 R (version 2.9.2) 之 R/qtl 套件 (Broman *et al.*, 2003) 進行連鎖圖譜的建立、不平衡分離的分析、繪製兩兩標誌間的重組率與 LOD 值圖。

本實驗所使用的分子標誌為 122 個 InDel (insertion-deletion, InDel) 分子標誌與 27 個簡單重複序列 (simple sequence repeat, SSR) 分子標誌，共 149 組分子標誌，平均分布於 12 條染色體上。

InDel 分子標誌為吳 (2008) 所自行設計，在 TCS10 與 TK2 之間具有多型性，並能在電泳膠片上表現共顯性、可明顯區分出兩親本基因型與異質結合型的片段。

另外在部分染色體區段上連鎖距離過大的區域另外尋找簡單重複序列 (simple sequence repeat, SSR) 分子標誌來填補。

以吳 (2008) 所建立的連鎖圖譜為參考，根據國際水稻基因體定序計畫 (International Rice Genome Sequencing Project, IRGSP) 網站下載所提供的遺傳圖譜與其相對應的 BAC clone 相關資料，在大於 20 cM 的區域尋找該區域相對應的 BAC clone，將此 BAC clone 的名稱在 Gramene 生物基因組資料庫 (<http://www.gramene.org/>) 中搜尋該 BAC clone 上所具有的 SSR 分子標誌。

另一方面，在 Gramene (<http://www.gramene.org/markers/microsat/>) 下載 IRGSP 於 2005 年發表水稻基因體實體圖譜 (Rice genome physical map) 時附有的 18,828 組 SSR 分子標記相關資料，查詢在 BAC clone 上挑選的 SSR 分子標誌的引子序列及片段大小等相關資料，挑選的 SSR 分子標記經黏合溫度最佳化測試後，確認該 SSR 分子標誌在 TSC10 與 TK2 之間具有多型性，並能在電泳膠片上表現共顯性、可明顯區分出兩親本型與異質結合型的片段。

若電泳膠片上該分子標誌只表現顯性、無多型性或根本沒產物，便回頭在與該分子標記相對應的 BAC clone 附近尋找其他 SSR 多型性，並再次進行測試；若

相對應的 BAC clone 已經沒有其他 SSR 多型性，便回頭到 IRGSP (2005) 所提供的遺傳圖譜上相鄰的 BAC clone 附近尋找其他 SSR 多型性，並再次進行測試；重複尋找新的 SSR 多型性並再次進行測試的步驟，直到確認該 SSR 分子標記在 TSC10 與 TK2 之間具有多型性，並能在電泳膠片上表現共顯性為止。

將每個族群中的個體進行基因型定型分析後，將資料整理成 R/qtl 所需的格式後便開始進行後資料分析。

- 資料匯入

將各個族群的基因型資料整理成表，給定各分子標誌所對應的染色體編號，因本實驗並無調查外表形資料，故隨機產生每個個體的外表形資料，以 csv 檔案格式存取，以 `read.cross()` 匯入 R/qtl。匯入成功後以 `summary()` 檢視資料。

- 計算連鎖距離

以 `est.map()` 計算每條染色體上分子標誌的重組率，並使用 Kosambi 函數 (Kosambi, 1943) 轉換成連鎖距離，計算完連鎖距離後使用 `replace.map()` 將連鎖距離加入原來的族群中，即完成族群的資料。

- 繪製連鎖圖譜

以 `plot.map()` 繪製族群的連鎖圖譜，另外可利用微軟 Excel 巨集 MapDraw (Liu and Meng, 2003) 繪製分子標誌連鎖圖譜。

- 繪製兩兩標誌間的重組率與 LOD 值圖

以 `plot.rf()` 繪製兩兩標誌間的重組率與重組率 0.5 的 LOD (logarithm of the odds) 值圖，檢測兩兩分子標誌是否有連鎖關係。圖形的上三角為兩兩標誌間的重組率，下三角為兩兩標誌間的 LOD 值，圖形以顏色代表重組率與 LOD 值的高低，紅色代表重組率低與 LOD 值高，藍色代表重組率高與 LOD 值低。

- 不平衡分離的分析

以 `geno.table()` 列出各分子標誌的各種基因型統計值，並計算分子標誌是否符

合孟德爾的分離比，在 F_2 族群中，各分子標誌期望的基因型分離比為 1:2:1，在 BC_1F_1 族群中，各分子標誌期望的基因型分離比為 1:1，利用卡方適合度檢定後 (χ^2 goodness-of-fit test) 再將統計值轉換成 p 值 (p-value)。並列出所有 p 值小於 0.05 與 0.01 的分子標誌，並將其視為發生了不平衡分離的分子標誌。



四、花粉充實率檢定

選取正在開花的稻穗，將已開過花小穗剪去，並剪去下部未成熟的小穗，每穗僅留下尚未開花且已成熟的小穗，將小穗以Farmer's solution（95%酒精：冰醋酸 = 3 : 1）固定24小時，之後將小穗以蒸餾水沖洗三次後移至70%酒精中保存，放置於4°C冰箱中備用。

水稻正常花粉呈圓球形，並累積大量澱粉，通常可用碘-碘化鉀 (I_2-KI) 染成藍紫色；發育不良的花粉常呈畸形，不積累澱粉，用 I_2-KI 染色，不呈藍紫色，而呈黃褐色，因此以1% 溶液檢測TCS10、TK2與 F_1 的花粉充實情形。

每小穗取一花藥置於載玻片上，以鑷子將花藥切半，吸取200 μl 的1% I_2-KI 溶液滴於花藥上，並將花粉從花藥中擠出，染色後以拭鏡紙吸除多餘的溶液，並移去花藥，以100倍顯微鏡觀察 (Zeiss Axio imager M1) 並拍照 (Zeiss AxioCam MRm相機)，每張照片約包含100~300粒花粉，之後以sigmascan Pro (Version 5.0.0, Systat Software Inc., San Jose, USA) 影像軟體進行染色花粉數的計算，並計算無充實花粉的數量及每個小穗的花粉充實率：

$$\text{花粉充實率} = \frac{\text{充實花粉數}}{(\text{無充實花粉數} + \text{充實花粉數})} \times 100\%$$

一共觀察102個TCS10小穗，94個 F_1 小穗，85個TK2小穗。

五、以 EM 演算法計算不平衡分離基因座的位置與其效應之最大概度法估計值

本篇使用 Cheng 等人 (1996, 1998) 的 EM 演算法估算未知參數 SDL 的位置與存活率的最大概似估計值 (maximum likelihood estimation, MLE)，並計算模式存活力基因存在時的 LOD 值，當 LOD 值大於 3 時認定 SDL 存在，其模式及估算程序參考吳 (2008)，如下。

假設有兩個連續的分子標誌基因座，依序分別為 A、B，則未知的存活力基因 V 可能落於 A 與 B 之間。

模式：假設 A 與 B 之間存在有一個存活力基因 V



該存活力基因 V 與分子標記 A、B 之間的重組率分別為 c_1 與 c_2 ，回交共產生八種的可能後裔基因型 (但一次只會觀測到其中四種類型)；將某類型中所有可能基因型的頻度 f_k 先以存活力基因頻度 g_i 加權後，再加總可得該類型的期望基因型頻 f'_k ：

$$f'_k = f_{2k-1}g_1 + f_{2k}g_2 \quad (k = 1, 2, 3, 4)$$

其中四種分子標記基因型類型的 f_i 值與 g_i 值如下：

基因型類型	觀測個數	Viability Locus 基因型	
		V_1	V_2
A_1B_1	a'_1	$f_1 = (1 - c_1)(1 - c_2)$	$f_2 = c_1c_2$
A_1B_2	a'_2	$f_3 = (1 - c_1)c_2$	$f_4 = c_1(1 - c_2)$
A_2B_1	a'_3	$f_5 = c_1(1 - c_2) = f_4$	$f_6 = (1 - c_1)c_2 = f_3$
A_2B_2	a'_4	$f_7 = c_1c_2 = f_2$	$f_8 = (1 - c_1)(1 - c_2) = f_1$

以 t 表示相對於正常配子或合子的存活率，將其定義在 $0 \leq t \leq 1$ 的範圍內，因

此，當 V_1 的存活率 $> V_2$ 的存活率： $g_1 = \frac{1}{1+t}$ ， $g_2 = \frac{t}{1+t}$ ；當 V_1 的存活率 $< V_2$ 的存活率： $g_1 = \frac{t}{1+t}$ ， $g_2 = \frac{1}{1+t}$ 。另外以 a_i 表示在完整資料下可獲得的期望基因型個數（且標記基因型類型的觀測個數為 a'_i 時），例如基因型 $A_1V_1B_1$ 的期望個數為 a_1 ，基因型 $A_1V_2B_1$ 的期望個數為 a_2 ，則 $a'_1 = a_1 + a_2$ ，且 $a_1 = \frac{f_1 g_1}{f'_1}$ ， $a_2 = \frac{f_2 g_2}{f'_1}$ ，若以一般通式表示為：

$$a'_k = a_{2k-1} + a_{2k} \text{，且 } a_{2k-1} = a'_k \times \frac{f_{2k-1} g_1}{f'_k} \text{， } a_{2k} = a'_k \times \frac{f_{2k} g_2}{f'_k} \quad (k=1,2,3,4) \quad (1)$$

在完整資料下假設 $V_1 > V_2$ ，則對數最大概似函數（省略常數部分後應稱為 c_1 、 c_2 與 t 的 supporting function）為：

$$\begin{aligned} L &= \log \left\{ \left[\frac{(1-c_1)(1-c_2)}{1+t} \right]^{a_1} \times \left[\frac{c_1 c_2 t}{1+t} \right]^{a_2} \times \left[\frac{(1-c_1)c_2}{1+t} \right]^{a_3} \times \left[\frac{c_1(1-c_2)t}{1+t} \right]^{a_4} \right. \\ &\quad \left. \times \left[\frac{c_1(1-c_2)}{1+t} \right]^{a_5} \times \left[\frac{(1-c_1)c_2 t}{1+t} \right]^{a_6} \times \left[\frac{c_1 c_2}{1+t} \right]^{a_7} \times \left[\frac{(1-c_1)(1-c_2)t}{1+t} \right]^{a_8} \right\} \\ &= \log \left\{ \left[(1-c_1)(1-c_2) \right]^{a_1} \times [c_1 c_2 t]^{a_2} \times \left[(1-c_1)c_2 \right]^{a_3} \times [c_1(1-c_2)t]^{a_4} \right. \\ &\quad \left. \times [c_1(1-c_2)]^{a_5} \times [(1-c_1)c_2 t]^{a_6} \times [c_1 c_2]^{a_7} \times [(1-c_1)(1-c_2)t]^{a_8} \times \left(\frac{1}{1+t} \right)^n \right\} \quad (2) \\ &= a_1 \log[(1-c_1)(1-c_2)] + a_2 \log[c_1 c_2 t] + a_3 \log[(1-c_1)c_2] \\ &\quad + a_4 \log[c_1(1-c_2)t] + a_5 \log[c_1(1-c_2)] + a_6 \log[(1-c_1)c_2 t] \\ &\quad + a_7 \log[c_1 c_2] + a_8 \log[(1-c_1)(1-c_2)t] - n \log(1+t) \\ &= \sum_{i=1}^8 a_i \log f_i + (a_2 + a_4 + a_6 + a_8) \log t - n \log(1+t) \end{aligned}$$

以 L 對 t 偏微分，

$$\frac{\partial L}{\partial t} = \frac{a_2 + a_4 + a_6 + a_8}{t} - \frac{n}{1+t}$$

令上式為 0，解得 t 為：

$$t = \frac{a_2 + a_4 + a_6 + a_8}{a_1 + a_3 + a_5 + a_7} \quad (3)$$

而當 $V_1 < V_2$ 時，則對數最大概似函數為：

$$\begin{aligned} L &= a_1 \log[(1-c_1)(1-c_2)t] + a_2 \log[c_1 c_2] + \cdots + a_8 \log[(1-c_1)(1-c_2)] - n \log(1+t) \\ &= \sum_{i=1}^8 a_i \log f_i + (a_1 + a_3 + a_5 + a_7) \log t - n \log(1+t) \end{aligned}$$

以 L 對 t 偏微分，

$$\frac{\partial L}{\partial t} = \frac{a_1 + a_3 + a_5 + a_7}{t} - \frac{n}{1+t}$$

令上式為 0，解得 t 為：

$$t = \frac{a_1 + a_3 + a_5 + a_7}{a_2 + a_4 + a_6 + a_8}$$

所得 t 值正好為另一種情況下的倒數。

在對 c_1 與 c_2 偏微分之前，先將共同的部分簡單合併為：

$$\begin{aligned} L &= (a_1 + a_8) \log[(1-c_1)(1-c_2)] + (a_2 + a_7) \log[c_1 c_2] + (a_3 + a_6) \log[(1-c_1)c_2] \\ &\quad + (a_4 + a_5) \log[c_1(1-c_2)] + (a_2 + a_4 + a_6 + a_8) \log t - n \log(1+t) \\ \frac{\partial L}{\partial c_1} &= \frac{(a_1 + a_8)(-1+c_2)}{(1-c_1)(1-c_2)} + \frac{a_2 + a_7}{c_1} - \frac{a_3 + a_6}{1-c_1} + \frac{a_4 + a_5}{c_1} \\ \frac{\partial L}{\partial c_2} &= \frac{(a_1 + a_8)(-1+c_1)}{(1-c_1)(1-c_2)} + \frac{a_2 + a_7}{c_2} + \frac{a_3 + a_6}{c_2} - \frac{a_4 + a_5}{1-c_2} \\ S_{c_1} &= \frac{a_2 + a_4 + a_5 + a_7}{c_1} - \frac{a_1 + a_3 + a_6 + a_8}{1-c_1} = 0 \\ S_{c_2} &= \frac{a_2 + a_3 + a_6 + a_7}{c_2} - \frac{a_1 + a_4 + a_5 + a_8}{1-c_2} = 0 \end{aligned}$$

最終可解得 c_1 與 c_2 為：

$$c_1 = \frac{a_2 + a_4 + a_5 + a_7}{n} \quad (4)$$

與

$$c_2 = \frac{a_2 + a_3 + a_6 + a_7}{n} \quad (5)$$

在對 c_1 與 c_2 偏微分後的函數式中並不包含 t 的成分，因此 c_1 與 c_2 估計不會受到存活力方向的影響。

在計算開始時，先填入 $c_1 = c_2 = 0.25$ 與 $t = 1$ 的起始值，依此計算出受限於觀測個數 a'_k 之下的各個 a_i 值，也就是 EM 演算法中的 E-step；再將所得到的各個 a_i 值視為觀測值，以最大概似法估計新的 c_1 、 c_2 與 t 值，也就是 EM 演算法中的 M-step。以新的估計值取代起始值（或上一輪的估計值），反覆運算至全部新舊估計值間的差距均小於 0.00001 為止。

由 EM 演算法求得的參數估計值 c_1 、 c_2 與 t 值後，便計算當存活基因存在時 $t = t$ 與存活基因不存在時 $t = 1$ 時的 LOD 值，其 LOD 值的估算式為：

$$\begin{aligned} LOD &= \log_{10} \frac{(f'_1)^{a'_1} (f'_2)^{a'_2} (f'_3)^{a'_3} (f'_4)^{a'_4}}{\left(\frac{1-r}{2}\right)^{a'_1} \left(\frac{r}{2}\right)^{a'_2} \left(\frac{r}{2}\right)^{a'_3} \left(\frac{1-r}{2}\right)^{a'_4}} \\ &= a'_1 \log_{10} \left(\frac{2f'_1}{1-r}\right) + a'_2 \log_{10} \left(\frac{2f'_2}{r}\right) + a'_3 \log_{10} \left(\frac{2f'_3}{r}\right) + a'_4 \log_{10} \left(\frac{2f'_4}{1-r}\right) \end{aligned}$$

六、模擬族群

在 SDL 存的的情況下，為了了解 SDL 會不會對兩分子標誌間重組率 (recombination rate, r) 的估計造成影響，或是 EM 演算法是否可準確估計 SDL 的位置與效應，或是 SDL 會不會影響 QTL 的估計等問題，因此透過模擬族群的方式，設定不同族群大小、不同 SDL 存活力與 SDL 數目不同、方向不同等條件，分別檢測存在 SDL 與不存在 SDL 時是否存在差異，使用 R/qtl (Broman *et al.*, 2003) 進行族群的模擬。

1. 檢測兩分子標誌間重組率的模擬

模擬設置條件為：

模擬族群類型：BC₁F₁ 族群

模擬次數 = 1000；

族群大小數 (n) = 300、1000；

染色體數目 = 2；

每條染色體上的分子標誌數目 = 11 (染色體兩端皆設置有分子標誌)；

兩相鄰分子標誌區間 = 10 cM；

SDL 存活力 (t) = 1、0.5、0.1；

SDL 數目 = 1、2

當 SDL 數目 = 2 時，

兩 SDL 方向：相同、相反；

兩 SDL 位置：位於同一條染色體上、位於不同染色體上；

在族群大小的設定方面，假設一般情況下的族群大小為 300，另外也模擬當大族群 n = 1000 時的情況，目的為減少小族群下取樣的差異；分子標誌的數目與區間為假設一般染色體長度為 100 cM；在存活力大小的設定方面，假設 t =

1 時為無 SDL 存在下的正常族群， $t = 0.5$ 為一般 SDL 效應大小， $t = 0.1$ 為嚴重的不平衡分離；在 SDL 數目的設定方面，考慮一條染色體上有一個或兩個 SDL 存在，可包含大部分的情況，也可藉此推測 3 個 SDL 以上的情況，並將 SDL 位置直接設於分子標誌上以方便計算，藉由比較族群無 SDL 存在下與有 SDL 存在下分子標誌區間的重組率是否有差異，藉以了解存在 SDL 是否會影響重組率的估算，及其他與 SDL 連鎖的分子標誌區間的重組率會不會受到影響。

模擬族群的步驟如下：

- (1) 設置各種條件值：族群大小數、SDL 存活力大小等
- (2) 以 sim.map() 模擬族群的連鎖圖譜
- (3) 以 sim.cross() 模擬無 SDL 下的正常族群，視為母族群
- (4) 將正常族群之基因型資料、外表型資料及分子標誌的連鎖距離取出
- (5) 檢視每個個體在 SDL 位置的基因型，若個體基因型為存活力高的基因型則個體存活，若為存活力低的基因型，則再抽取一個 uniform 分布 ($\text{min} = 0, \text{max} = 1$) 的隨機數字，若隨機數字小於存活力，則此個體存活，反之個體死亡，將所有存活個體的基因型資料合併，視為次族群 (subpopulation)
- (6) 重新模擬族群大小為次族群的新族群
- (7) 將新族群中的基因型資料及外表型資料取代成次族群的資料
- (8) 重新計算新族群分子標誌間的重組率，即次族群分子標誌間的重組率，紀錄每條染色體中相鄰分子標誌的重組率，利用 Kosambi 函數轉換成連鎖距離
- (9) 模擬 1000 次，整理 1000 次的母族群與次族群的分子標誌區間資料
- (10) 使用 t-test 比較母族群與次族群分子標誌區間是否有差異

2. 檢測 EM 演算法是否可適用於估計單一 SDL 的位置與效應

模擬設置條件為：

模擬族群類型： BC_1F_1 族群

模擬次數 = 1000；

族群大小數 (n) = 300、1000；

染色體數目 = 2；

每條染色體上的分子標誌數目 = 11 (染色體兩端皆設置有分子標誌)；

兩相鄰分子標誌區間 = 10 cM；

SDL 存活力 (t) = 0.5、0.1；

SDL 數目 = 1



本模擬主要檢測 EM 演算法是否可適用於估計單一 SDL 位置與效應，族群模擬的方式如檢測兩分子標誌間重組率的模擬，最後再使用 EM 演算法計算 SDL 的位置與效應，模擬 1000 次後，比較母族群中設置 SDL 位置的分子標誌與前一個分子標誌 (標的分子標誌) 的連鎖距離是否與次族群中偵測出的 SDL 與標的分子標誌的連鎖距離相同，檢測的方式為 t-test。

3. 檢測 QTL 的估計是否會受到影響

模擬設置條件為：

模擬族群類型： BC_1F_1 族群

模擬次數 = 1000；

族群大小數 (n) = 300、1000；

染色體數目 = 2；

每條染色體上的分子標誌數目 = 11 (染色體兩端皆設置有分子標誌)；

兩相鄰分子標誌區間 = 10 cM；

SDL 存活力 (t) = 0.5、0.1；

SDL 數目 = 1

QTL：每條染色體上設置一個 QTL；

QTL 廣義遺傳率 : 0.1、0.2、0.3，廣義遺傳率的計算方式為

$$h^2 = \frac{\sigma_a^2 + \sigma_d^2}{\sigma_a^2 + \sigma_d^2 + \sigma_e^2}, \quad \sigma_a^2 \text{ 為加性效應變方}, \quad \sigma_d^2 \text{ 為顯性效應變方}, \quad \sigma_e^2 \text{ 為環境變方}$$

其中，設定 $\sigma_d^2 = 0$ ， $\sigma_e^2 = 1$

求得加性效應 (a) 為 0.471、0.707、0.926；

在基因型不符合孟德爾的分離比時，外表型的分布也會受到影響，因此希望透過模擬方式檢測 QTL 的偵測是否會受到影響，然而 QTL 的偵測是建立在外表型分布為常態分布時，因此若外表型分布不為常態分布時可透過變數轉換將外表型資料轉換成常態分布或無母數分析進行 QTL 的偵測，QTL 偵測的方法參考王 (2010)，以多重區間定位法 (Multiple Interval Mapping, MIM) 定位 (Kao *et al.*, 1999)，MIM 方法可將已經找到的 QTL 納入模式中考慮，再去找下一個 QTL，且 QTL 若有交感作用也會列入模式中考慮，使得較多的遺傳變異能被納入模式中，但本模擬種並未設置 QTL 間有交感作用。族群模擬的方式如檢測兩分子標誌間重組率的模擬，最後檢測母族群所偵測出的 QTL 的位置與效應是否與次族群所偵測出的 QTL 有差異。

肆、結果

一、建立連鎖圖譜

不同族群在指定 149 個分子標誌於 12 條染色體上的連鎖群與順序後，計算分子標誌間的連鎖距離，並繪製成連鎖圖譜，比較不同族群連鎖圖譜建構的結果。各個分子標誌在不同染色體上的遺傳位置如表一，連鎖圖譜如圖一。

FS 族群的連鎖距離總長為 1357.8 cM，平均連鎖距離為 9.1 cM，最大的區間為第 1 條染色體的 RM3148 – RD0102，連鎖距離為 24.4 cM。

FK 族群的連鎖距離總長為 1514.2 cM，平均連鎖距離為 10.2 cM，最大的區間為第 2 條染色體的 RD0204 – RD0205，連鎖距離為 29.3 cM；SF 族群的連鎖距離總長為 1553.8 cM，平均連鎖距離為 10.4 cM，最大的區間為第 10 條染色體的 RD0204 – RD0205，連鎖距離為 38.3 cM；KF 族群的連鎖距離總長為 1573.1 cM，平均連鎖距離為 10.6 cM，最大的區間為第 3 條染色體的 RD0301 – RD0302，連鎖距離為 31.0 cM；F₂ 族群的連鎖距離總長為 1413.7 cM，平均連鎖距離為 9.5 cM，最大的區間為第 7 條染色體的 RD0701 – RD0702，連鎖距離為 24.2 cM。

不同族群因族群大小數不同，所以分子標誌間連鎖距離的可信度也有所差異，族群數目越少，連鎖距離的變異程度越大；族群數目越大，連鎖距離的變異程度越小，可信度較高。比較 3 個族群數較大的族群：FS、FK、F₂ 族群，連鎖圖譜中連鎖距離最大與最小差異超過 10 cM 的區域有 3 個，分別為第 2 條染色體 RD0204 – RD0205 之間，差距為 10.4 cM、第 6 條染色體 RD0602 – RM3805 之間，差距為 12.9 cM、第 12 條染色體 RD1201 – RD1202 之間，差距為 15.7 cM。

比較不同族群每條染色體總長度最長與最短的差異結果，第 1 至 12 條染色體的總長度差異分別為：43.8 cM、14.7 cM、18.6 cM、13.8 cM、46.6 cM、41.3 cM、40.0 cM、10.1 cM、24.1 cM、24.3 cM、35.5 cM、30.4 cM。其中第 5 條染色體總長度差異最大，第 8 條染色體差異最小。

使用 149 個分子標誌計算兩兩分子標誌的重組率與檢測重組率是否為 0.5 的

LOD 值，將不同族群之兩兩標誌與 LOD 值轉換成圖示如圖二，圖型的上三角為重組率，下三角為 LOD 值。顏色越接近紅色代表重組率越接近 0 或 LOD 大於 12，表示連鎖緊密；越接近藍色代表重組率越接近 0.5 或 LOD 值接近 0，表示越沒有連鎖關係。

同一條染色體上的分子標誌有連鎖的關係，故相鄰兩分子標誌重組率應小於 0.5；不同染色體間的分子標誌應為獨立分離，重組率應接近 0.5 或等於 0.5，因此，若兩不同染色體上的分子標誌有連鎖，則可能是兩分子標誌有交感，或是兩分子標誌皆有不平衡分離的現象，兩分子標誌都偏向同一種對偶基因或基因型，則可能會使重組率低於 0.5，使 LOD 值顯著（顯著值為 LOD 值 >3 ）；兩分子標誌偏向不同對偶基因或基因型，則可能會使重組率計算上高於 0.5，也會使 LOD 值顯著。

結果顯示除了同一條染色體上的分子標誌呈現連鎖之外，SF、KF 與 F₂ 族群中，第 3 條染色體與第 6 條染色體呈現重組率小於 0.5 的連鎖關係。



表一 12 條染色體上之分子標誌於不同族群的遺傳圖譜的位置 (cM) 與卡方適合度定結果 (待續)

Chromosome 1							Chromosome 2						
Marker ID	FS	FK	SF	KF	Direction	F ₂	Marker ID	FS	FK	SF	KF	Direction	F ₂
RD0101	0	0	0	0		0	RD0201	0.0 [*]	0	0	0	I	0
RM3148	2.7	3.8	6.5	2.3		3.2	RD0202	21.3 [*]	13.2	9.8	19.3	I	15.6
RD0102	27.1	30.9	23.2	27.1		25.3	RD0203	39.8	24.7	19.6	32.2		32.7
RD0103	30.2	34.6	36.4 [*]	32.9	J	27.6	RD0204	52.2	42	40	39.2		44.3
RM10452	41.3	53.8	69.5	48.3		45.3	RD0205	75.9	71.3	73.2	62.6 ^{**}	J	63.1
RD0105	59.1	70.5	79.3	67.6		63.3	RD0207	82.2	76.1	73.2	66.0 [*]	J	68.5
RD0106	63.8	78.1	85.8	73.4		68	RD0208	94.3	91.7	83	80.1		80.2
RD0107	67	84	89.1	83.9 [*]	J	72.1	RD0209	104.2	107.2	92.8	89.4		89.7
RD0108	71.3	89.4	95.6	86.2 ^{**}	J	75.8	RD0210	111	114.8	99.2	103.6		98.6
RM5638	83.5	99.2	105.4	101.6 ^{**}	J	85.6	RD0211	114.9	120.2	109	114.1		103
RD0110	86.2	102.5	108.6	102.7 ^{**}	J	89.5	RD0212	120.1	123.4	125.8	119.9		108.6
RD0111	97.4	110	115.1	114.4 ^{**}	J	100.1	RD0213	129.2	136.6	135.6	129.2		120.8
RD0112	107	128	121.6	131.1		110.2	RD0214	141.7	150.9	145.4	151.2		136.5
RD0113	113.3	139.4	134.8	142.8		120.8							
RD0114	118	148.7	155.2	154.5		128.1							
RD0115	125.1 [*]	158.5	171.9	171.2	J	137.4							
RD0116	139.3	170.5	185.1	184.1		152.7							
RM6141	160.7	192.2	209.4	204.8		170							
RM6840	165.6	198.7	209.4	204.8		174.9							

Note : * at 0.05 significant level ; ** at 0.01 significant level.

表一 12 條染色體上之分子標誌於不同族群的遺傳圖譜的位置與卡方適合度定結果 (待續)

Chromosome 3							Chromosome 4						
Marker ID	FS	FK	SF	KF	Direction	F ₂	Marker ID	FS	FK	SF	KF	Direction	F ₂
RD0301	0	0	0	0		0.0*	RD0401	0	0	0	0		0
RD0302	19.4**	11.5	16.7	31	J	12	RD0402	8.3	8.7	3.2	11.7		5.8
RD0303	32.7**	20.7	26.5	42.7*	J	24.6	RD0403	13.4	11.9	9.7	19.8		13.3*
RD0304	52.6	33.3	43.2	60.7**	I	42.9**	RD0404	21	18.4	16.2	26.7		18.6*
RD0305	62.2	50.1	56.4**	71.2**	I	57.6**	RD0405	32.2	28.2	19.4	31.3		25.5
RD0306	64.5	54.4	66.2**	81.7**	I	61.9**	RD0406	42.1	40.2	29.2	41.8		34.3
RD0307	82.1	74.2*	86.6**	98.4**	I	75.7**	RM1155	53	53.4	46	53.5		48.8
RD0308	88.1	85.1	96.4**	101.8**	I	83.6**	RD0407	66.6	66.6	49.2	64		65.4
RD0309	100.9	98.8	106.2**	114.7**	I	95.3**	RD0408	81.2	82.2	69.6	80.7		80.7**
RD0310	113.0**	109.2	116	121.7**	I	106.1**	RD0409	85.2	86.5	76.1	90		85.4
RD0311	123.7**	121.8	116	130.9**	I	120.9	RD0410	89.9	92.4	89.3	96.9		89.7
RD0312	134.1**	129.9	122.5	147.6	I	134.5*	RD0411	99.1	106.2	99.1	112.3		99.5
RD0313	142.9**	140.8	142.9	161.8	I	149.7**	RD0412	106.2	116.5	112.3	116.9		106.6
RD0314	158.7**	159.4*	156.1	174.7	I	164.4**	RD0413	108.9	120.8	118.8	122.7		112.6

表一 12 條染色體上之分子標誌於不同族群的遺傳圖譜的位置與卡方適合度定結果 (待續)

Chromosome 5								Chromosome 6							
Marker ID	FS	FK	SF	KF	Direction	F ₂	Marker ID	FS	FK	SF	KF	Direction	F ₂		
RD0501	0	0	0	0		0	RD0601	0	0	0	0		0		
RD0502	2.4	5.9	9.8	8.1		6.2	RD0602	1.6	8.1	0	4.6		2.4		
RD0503	14	17.4	30.2	19.8		16.1	RM3805	13	32.4 ^{**}	24.3	23.9	I	23.7		
RD0504	22.7	28.3 [*]	36.7	31.5	J	28	RD0603	22.6 [*]	37.8 ^{**}	27.6	36.8	I	32.6		
RD0505	40.8	45.1	53.4	45.7		43.8	RD0604	26.9 [*]	44.3 ^{**}	44.3	43.8	I	38.2		
RD0506	45.9	52.1 [*]	53.4	46.8	J	47.7	RD0605	37.7 ^{**}	58.1 ^{**}	57.5	47.2	I	49.9		
RD0507	60.9	70.6 [*]	73.8	58.5	J	60.9*	RD0606	37.7 ^{**}	58.6 ^{**}	57.5	48.4	I	50.7		
RD0508	72.5	85.6	90.6	71.4		70.4	RD0607	45.3	64.6 ^{**}	60.7	65.1	I	58.6		
RD0509	81.7	98.8	119.1	77.2		82.8	RD0608	52	71.6 ^{**}	64	72	I	66.1		
RD0510	89.6	106.3	125.6	91.4		93	RD0609	70.1	93.9	80.7 ^{**}	95.4	I	86.5 ^{**}		
RD0511	101.6	119	135.4	100.7		103.5	RD0610	89	107.1	90.5 ^{**}	114.7 ^{**}	I	102.5 ^{**}		
RD0512	105.6	128.8	152.1	120		110.2	RD0611	99.4	121.5	100.2 ^{**}	139.5 ^{**}	I	118.5 ^{**}		
							RD0612	105.8	124.7	110.0 ^{**}	148.8 ^{**}	I	123.0 ^{**}		
							RD0613	109.7	129.6	113.2 ^{**}	151.0 ^{**}	I	125.1 ^{**}		

表一 12 條染色體上之分子標誌於不同族群的遺傳圖譜的位置與卡方適合度定結果 (待續)

Chromosome 7							Chromosome 8						
Marker ID	FS	FK	SF	KF	Direction	F ₂	Marker ID	FS	FK	SF	KF	Direction	F ₂
RD0701	0	0	0	0.0 ^{**}	J	0	RD0801	0	0	0	0		0
RD0702	16.3	17.3	9.8	22.0 ^{**}	J	24.2 ^{**}	RD0802	9.6	14.4	16.7	19.3		10.7
RD0703	22.6	26	23	27.8 [*]	J	32.3 [*]	RD0803	21.8	27.5	33.4	37.3		22.3
RD0704	32.2	35.8	23	35.9 [*]	J	38.4 [*]	RD0804	32.2	39	39.9	55.2		36.8
RD0705	52.5	53.7	29.5	60.7		57.0 ^{**}	RD0805	39	45.5	43.1	58.6		44.4
RD0706	64.5	64.1	42.7	74.9		68.1 [*]	RD0806	49.4	55.9	49.6	70.3		55.9 [*]
RD0707	70.5	68.4	52.5	81.8		76.6	RM8265	59.3	69.1	59.4 [*]	74.9	J	68.3 [*]
RD0708	80	79.3	69.2	103.8		90.1	RD0808	68.7	83.4	69.2 [*]	80.7	J	77.7
RD0709	87.2	85.2	75.7	119.2		98.2	RD0809	71.1	85	69.2 [*]	87.6 [*]	J	79.6
RD0710	98	93.9	92.3	123.8		108.1	RM3845	84.6	94.8 [*]	82.4	96.9	I	85.6
RD0711	107.9	104.9	95.5	135.5		114.9	RD0811	105.1	112.2	106.8 [*]	107.4	J	102.7
							RD0812	111	119.2	110	117.8		109.1

表一 12 條染色體上之分子標誌於不同族群的遺傳圖譜的位置與卡方適合度定結果 (待續)

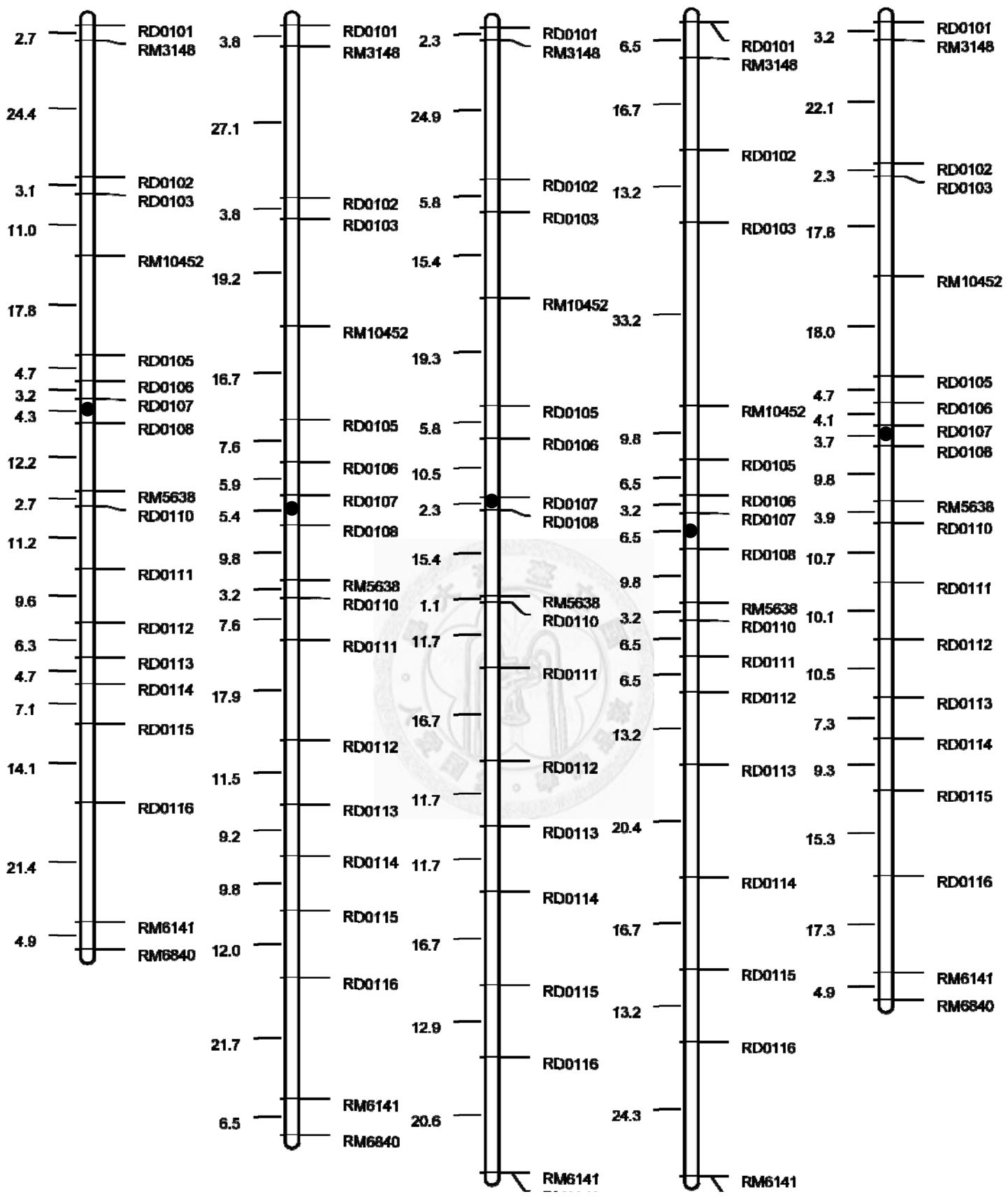
Chromosome 9							Chromosome 10						
Marker ID	FS	FK	SF	KF	Direction	F ₂	Marker ID	FS	FK	SF	KF	Direction	F ₂
RD0901	0	0	0	0		0	RD1001	0	0	0	0		0
RD0902	7.9	4.3	3.2	4.6		5.2	RD1002	12.4 [*]	12	38.3	10.5	J	9.4
RD0903	10.2	10.8	6.5	9.2		9.5	RM6142	25.7	24.1	41.5 [*]	16.2 ^{**}	J	17.4
RD0904	16.1	15	19.7	10.4		14.2	RM5806	36.1 [*]	33.9	44.7	26.7 [*]	J	27.6
RD0905	30.3	27.7	29.5	23.3		23.5	RD1005	41.5 [*]	42	54.5	31.3 [*]	J	34.4
RD0906	49.7	50.7	49.9	40		37.7	RD1006	51.1	54.6	64.3	49.2		43.2
RD0907	57.2	65.0 [*]	63.1	52.9	J	48.9	RD1007	57	61.6	77.5	62.2		58.9
RD0908	60	72.6	83.5	64.6		57.4	RD1008	64.1	67	87.3	69.1		69
RM6830	64.7	79.6	83.5	66.9		62.8	RD1009	76.2	79.1	100.5	84.5		85.3
RD0910	82.1	91.7	103.9	87.5		79.8							

表一 12 條染色體上之分子標誌於不同族群的遺傳圖譜的位置與卡方適合度定結果 (續)

Chromosome 11							Chromosome 12						
Marker ID	FS	FK	SF	KF	Direction	F ₂	Marker ID	FS	FK	SF	KF	Direction	F ₂
RD1101	0.0 **	0	0	0	I	0	RD1201 ^a	0.0 *	0.0 **	0.0 **	0	J、I、J	0
RD1102	12.9 **	8.1	9.8	15.4	I	10.5	RD1202	12.9	28.5	9.8 *	23.7	J	16.3
RD1103	26.6 *	26.1	30.2	30.8	I	27.1	RM247	27.3 *	43.5	30.2 *	37.9	J	31.4
RD1104	30.5 *	34.2	40	40.1	I	33.5	RD1204	32.3 **	47.2	30.2 *	48.3	J	38.6
RD1105	36.1	44.5	53.2	43.6		37.7	RD1205	42.7	59.9	46.9 **	55.3	J	47.9
RD1106	45.2	56.6	69.9	49.3		43.1	RD1206	46.3	70.8	50.2 *	63.4	J	56.1
RD1107	54.8	72.1	83.1	62.3		53.7	RD1207	56.6	80.6	78.7	70.3		65.7
RD1108	71.5	84.7	99.8	84.3		70.4	RM3331	62.9	87.6	78.7	77.3		74.2
RD1109	81.5	94	113	98.4		79.1	RD1210	84.6	114	103.1	100.7		95.8
RD1110	88.2	101.6	126.2	105.3		89.3	RD1211	91.8	122.1	116.3	110		103.9
RD1111	98.6	109.1	132.7	113.4		97.2							

a : there are different directions in different populations

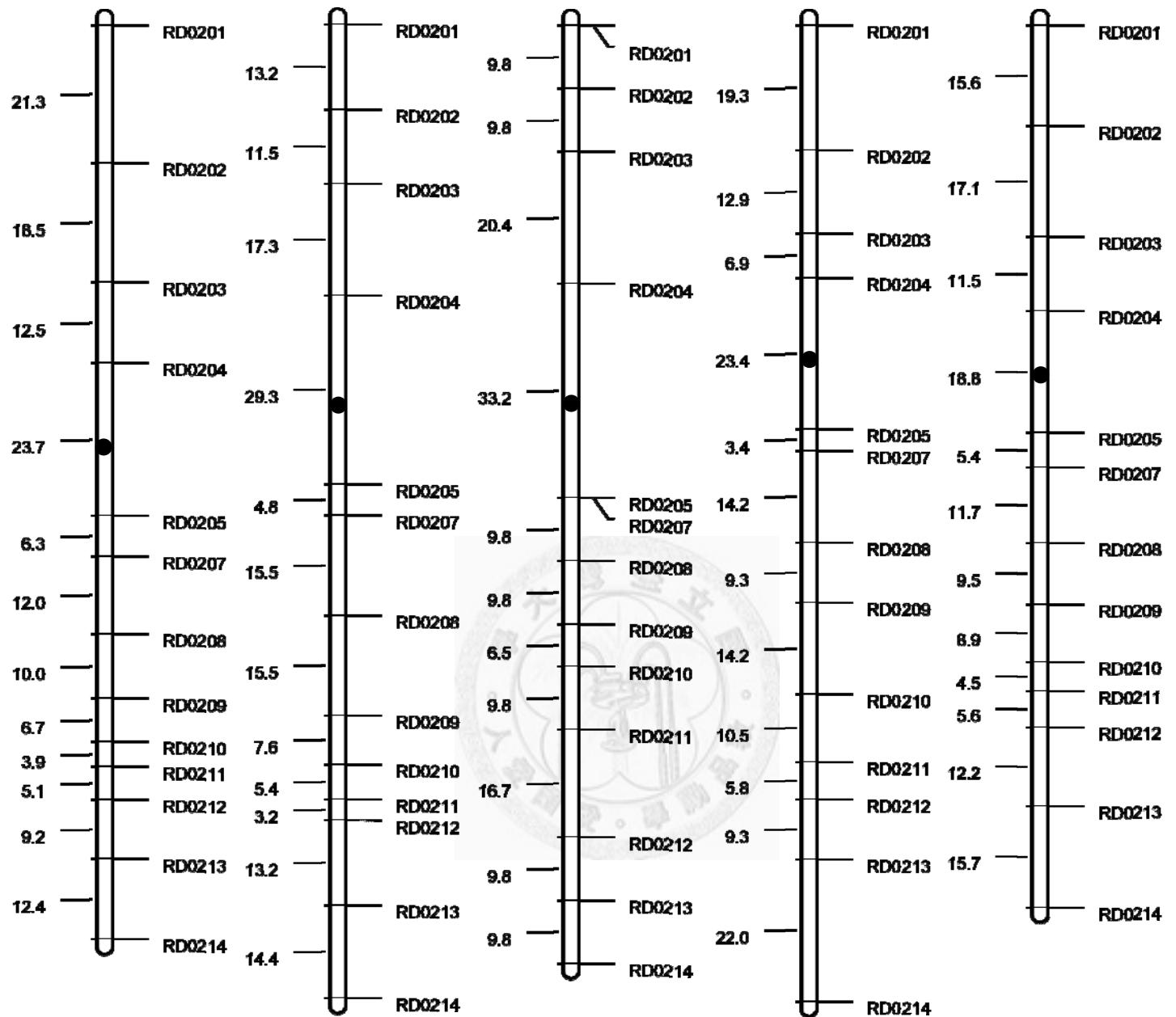
Chromosome 1



群

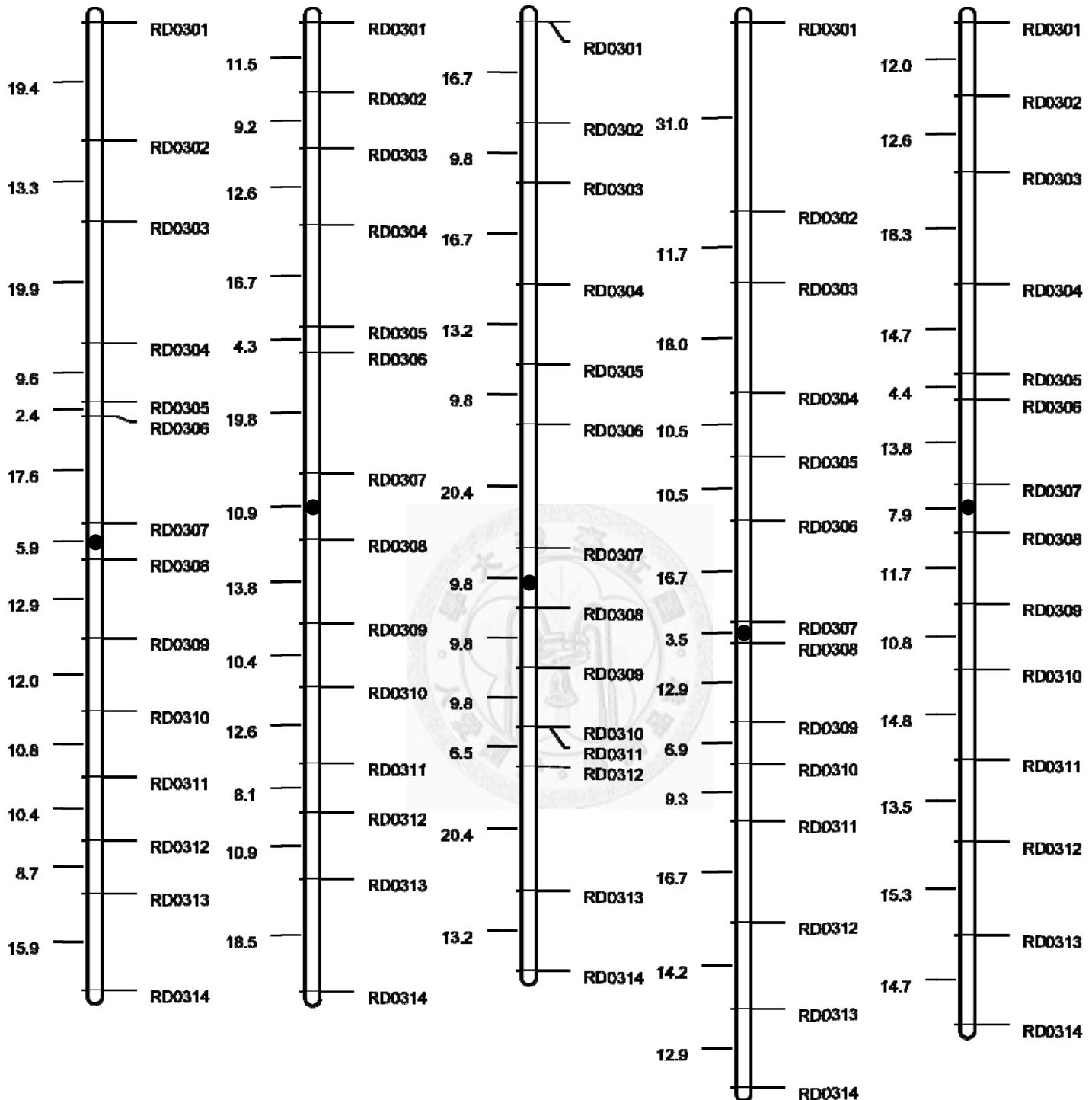
圖一 不同族群分子標誌連鎖圖譜 (待續)。依照試驗族群分子標誌間連鎖距離所繪製的連鎖圖譜，黑色點為中節位置。(a) FS 族群 (b) FK 族群 (c) SF 族群 (d) KF 族群 (e) F₂ 族群

Chromosome 2



圖一 不同族群分子標誌連鎖圖譜 (待續)

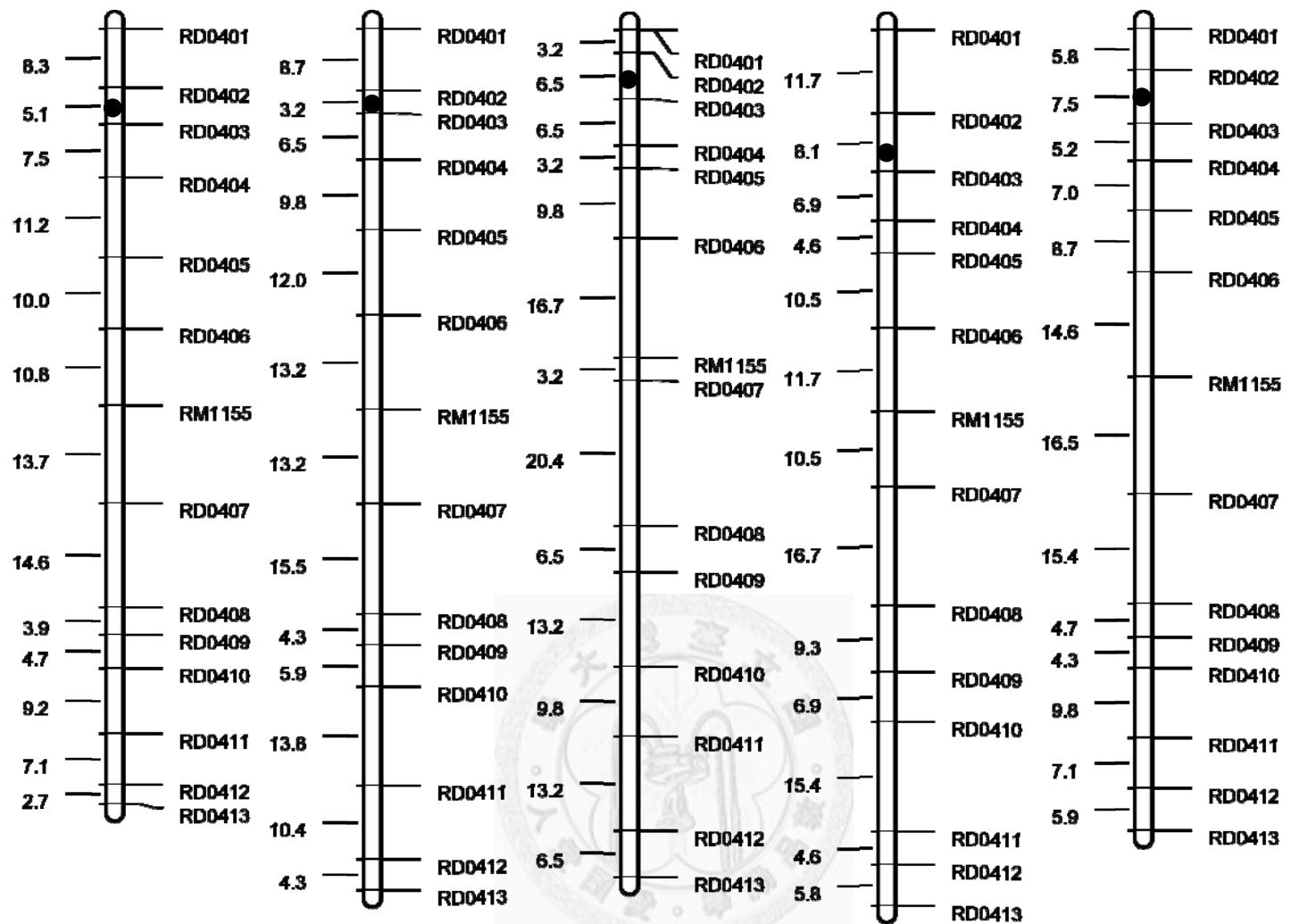
Chromosome 3



(a) FS 族群 (b) FK 族群 (c) SF 族群 (d) KF 族群 (e) F₂ 族群

圖一 不同族群分子標誌連鎖圖譜 (待續)

Chromosome 4



(a) FS 族群

(b) FK 族群

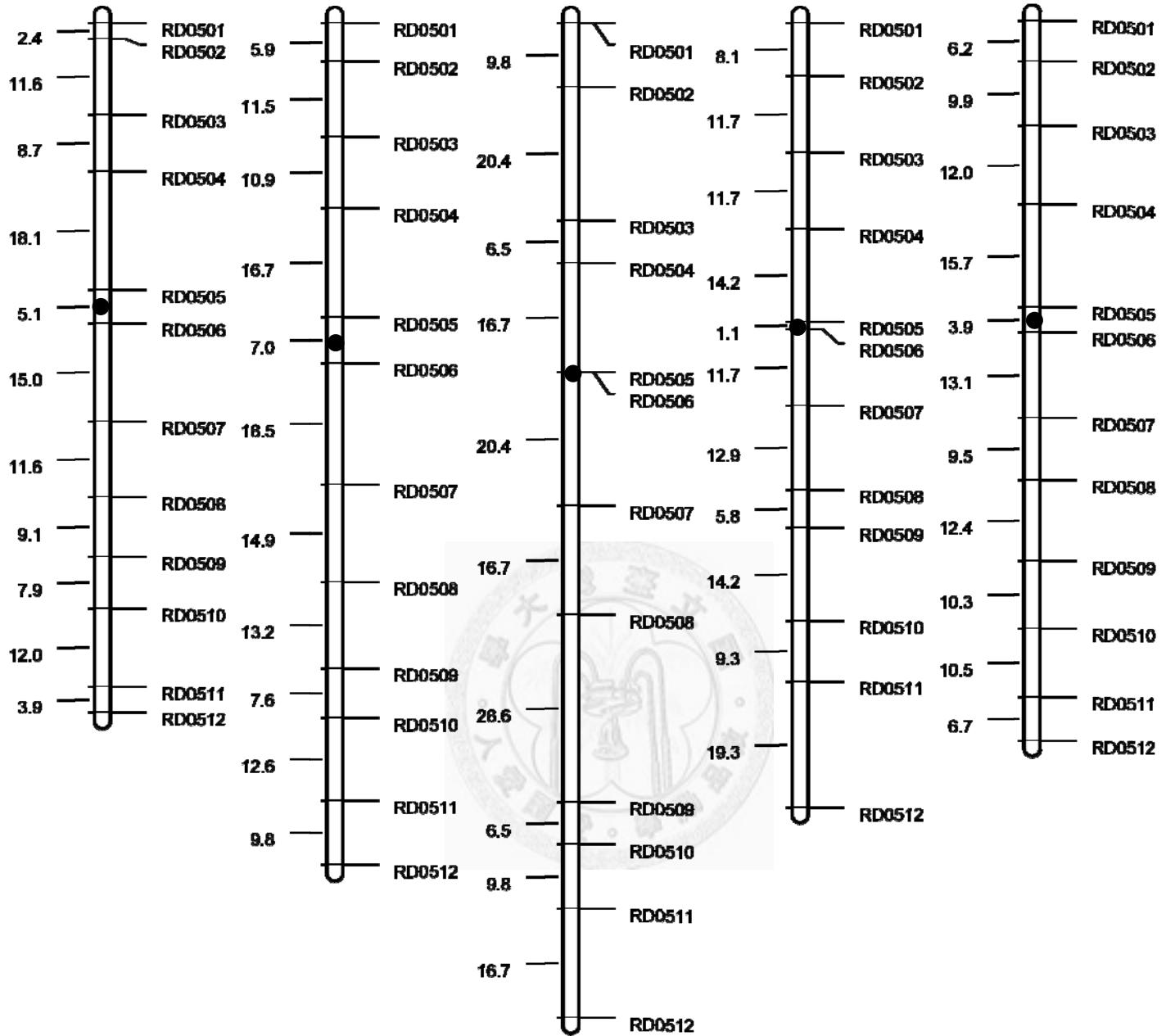
(c) SF 族群

(d) KF 族群

(e) F₂ 族群

圖一 不同族群分子標誌連鎖圖譜 (待續)

Chromosome 5



(a) FS 族群

(b) FK 族群

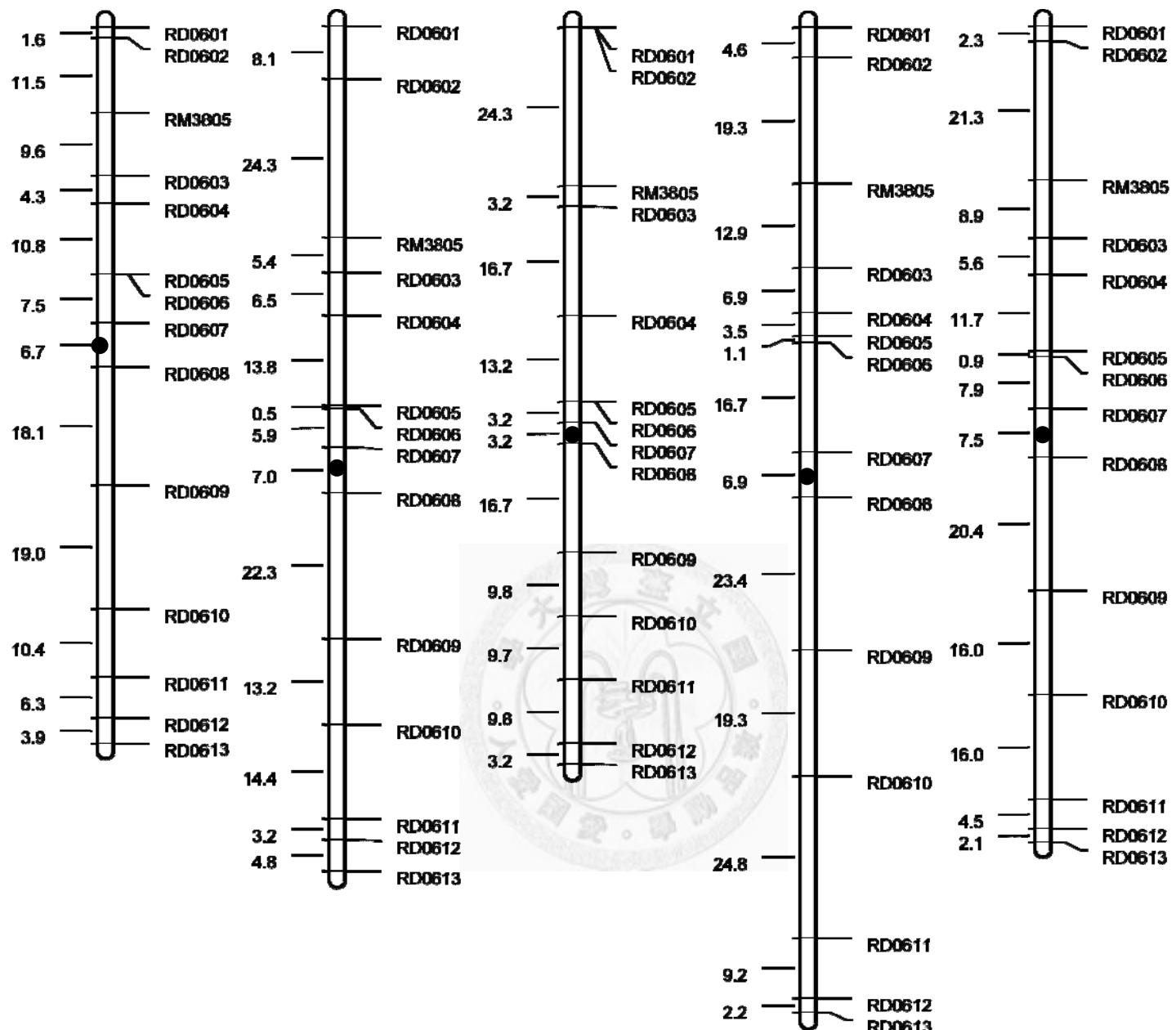
(c) SF 族群

(d) KF 族群

(e) F₂ 族群

圖一 不同族群分子標誌連鎖圖譜 (待續)

Chromosome 6



(a) FS 族群

(b) FK 族群

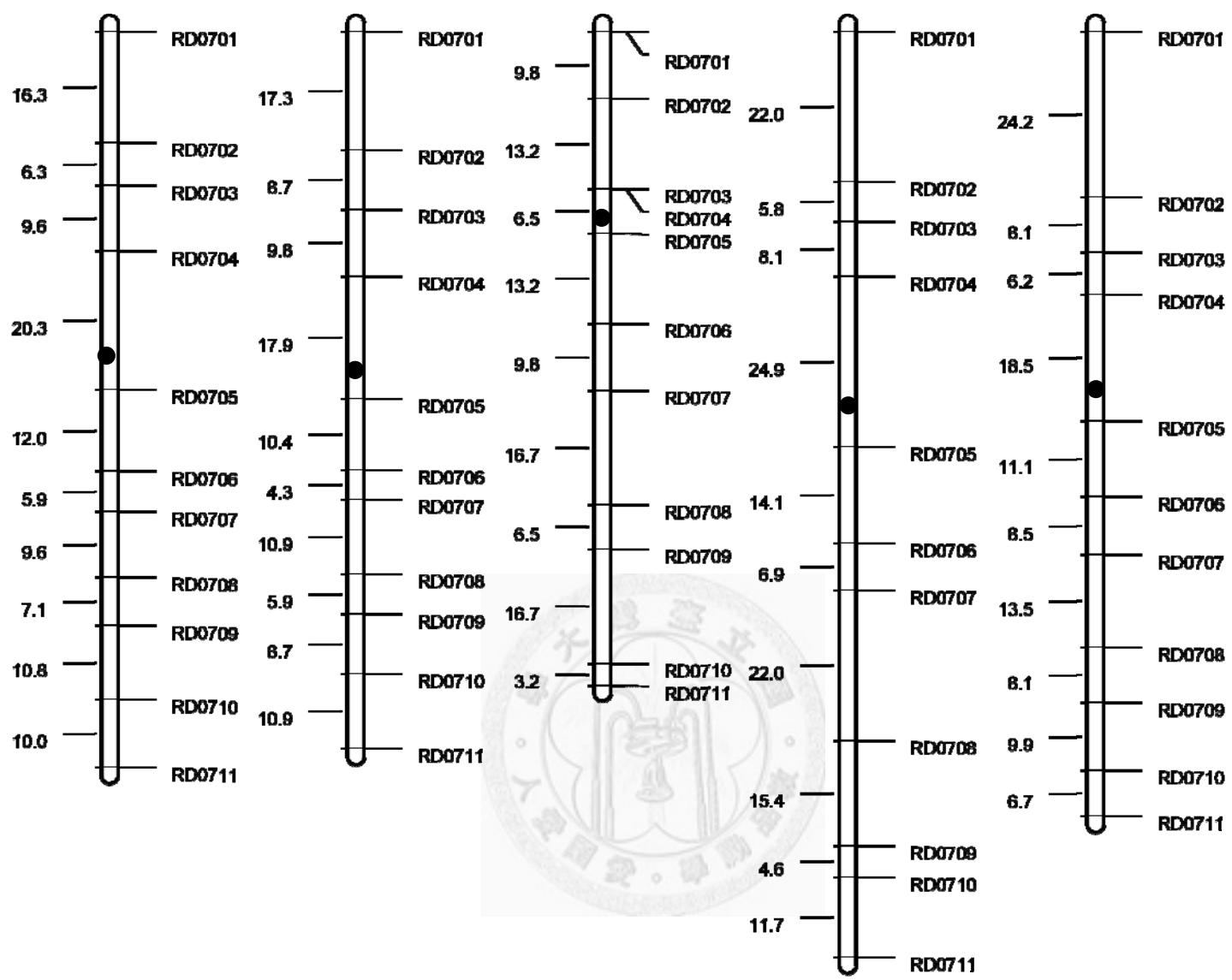
(c) SF 族群

(d) KF 族群

(e) F₂ 族群

圖一 不同族群分子標誌連鎖圖譜 (待續)

Chromosome 7



(a) FS 族群

(b) FK 族群

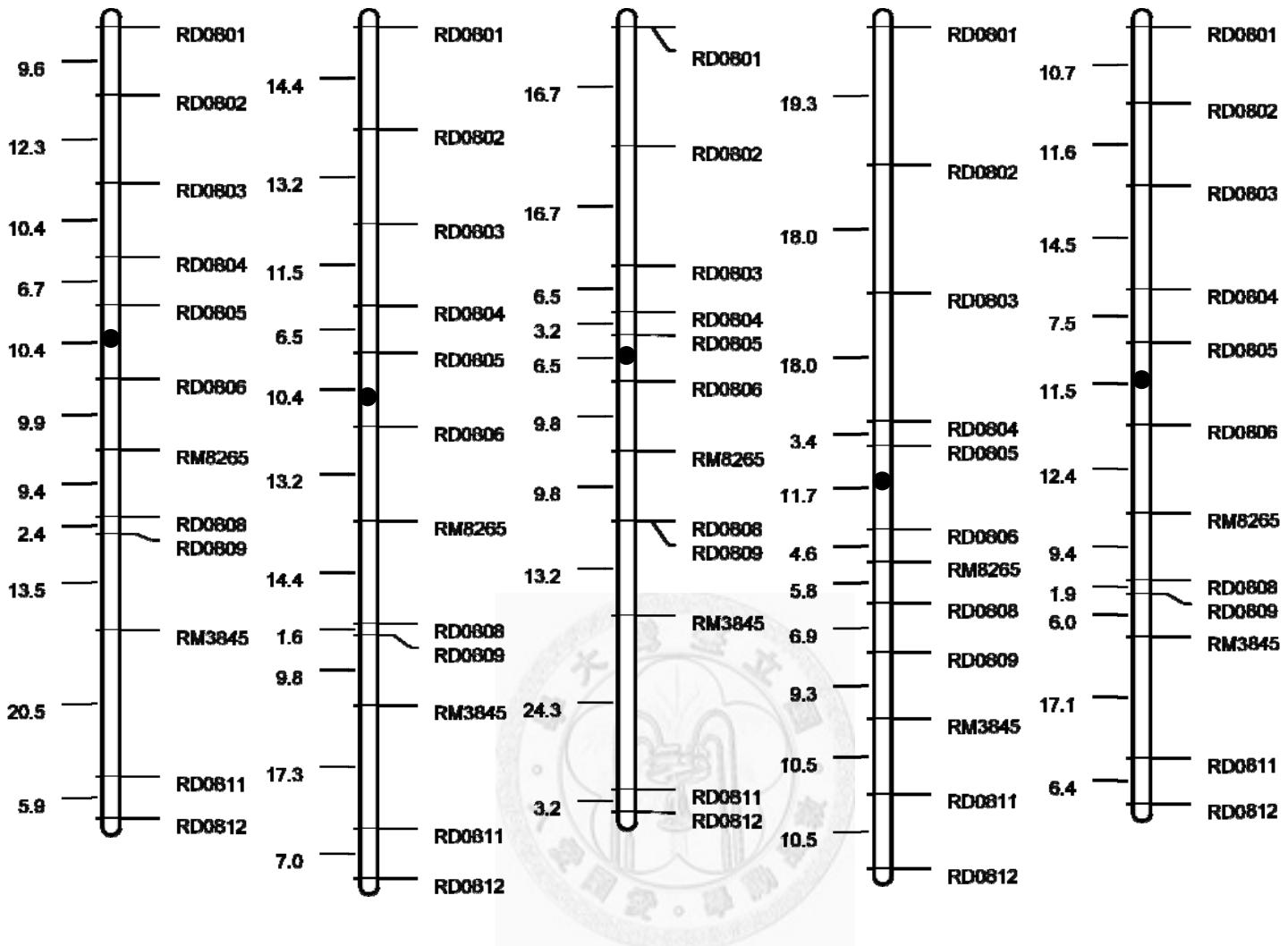
(c) SF 族群

(d) KF 族群

(e) F₂ 族群

圖一 不同族群分子標誌連鎖圖譜 (待續)

Chromosome 8



(a) FS 族群

(b) FK 族群

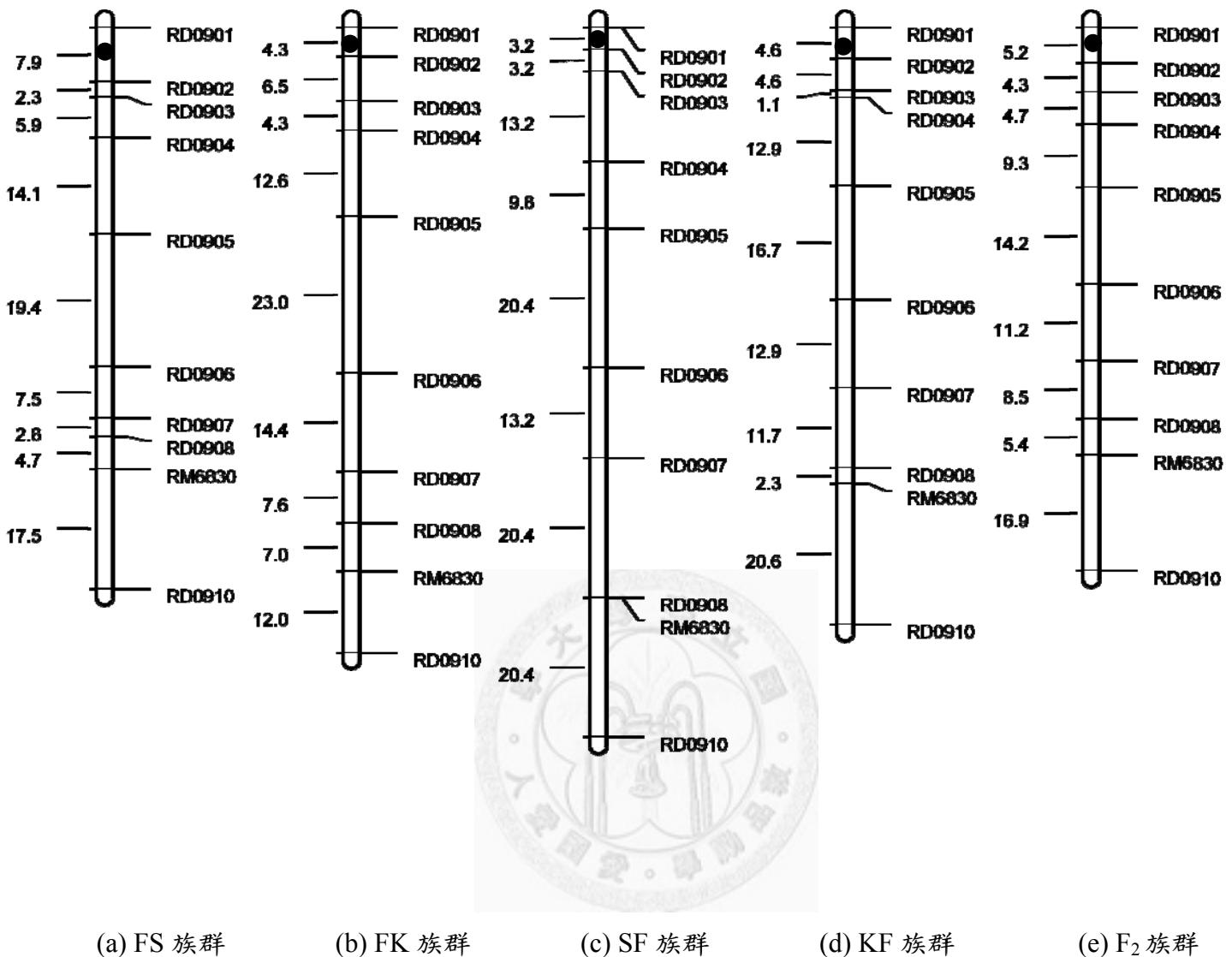
(c) SF 族群

(d) KF 族群

(e) F₂ 族群

圖一 不同族群分子標誌連鎖圖譜 (待續)

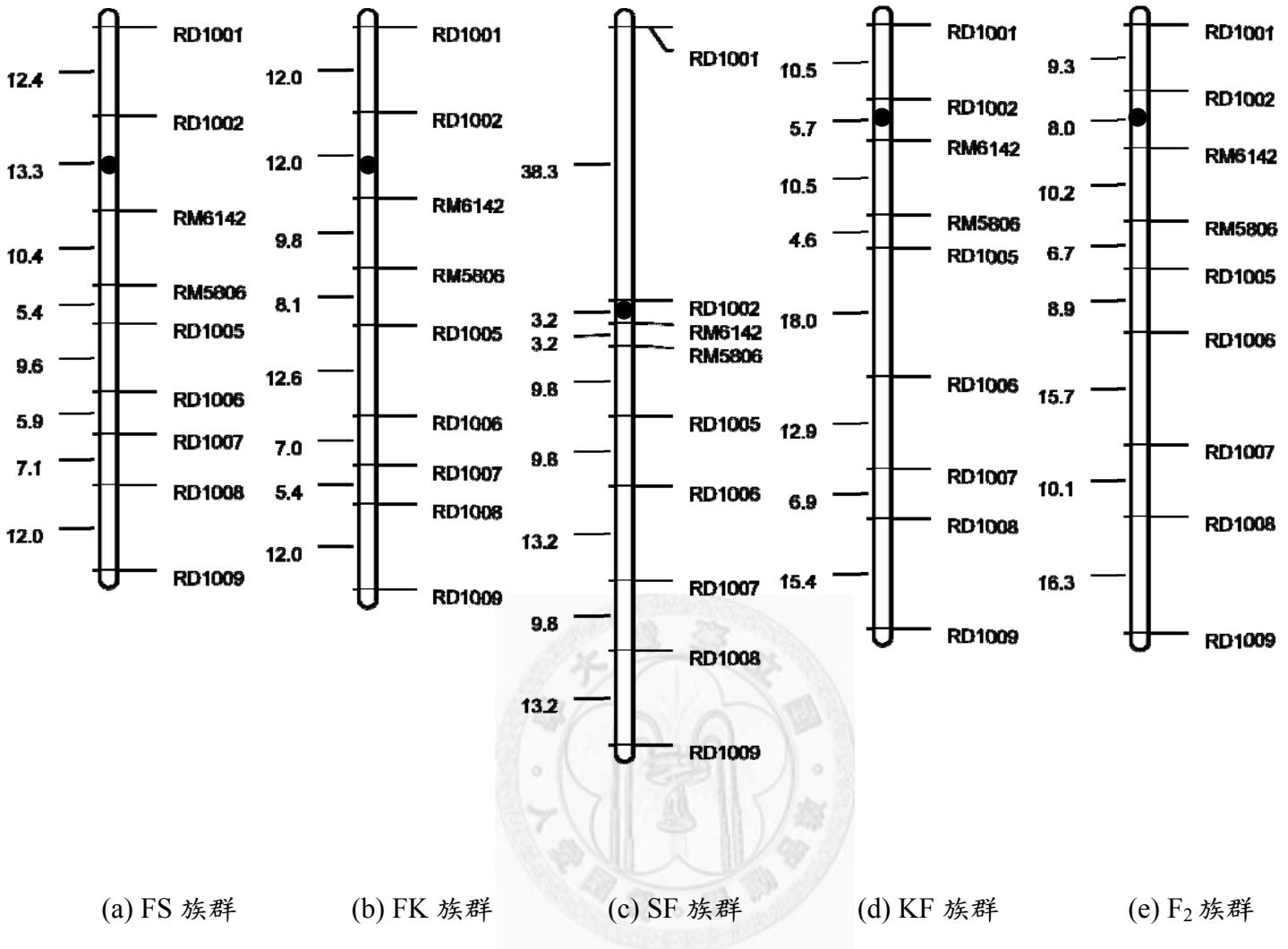
Chromosome 9



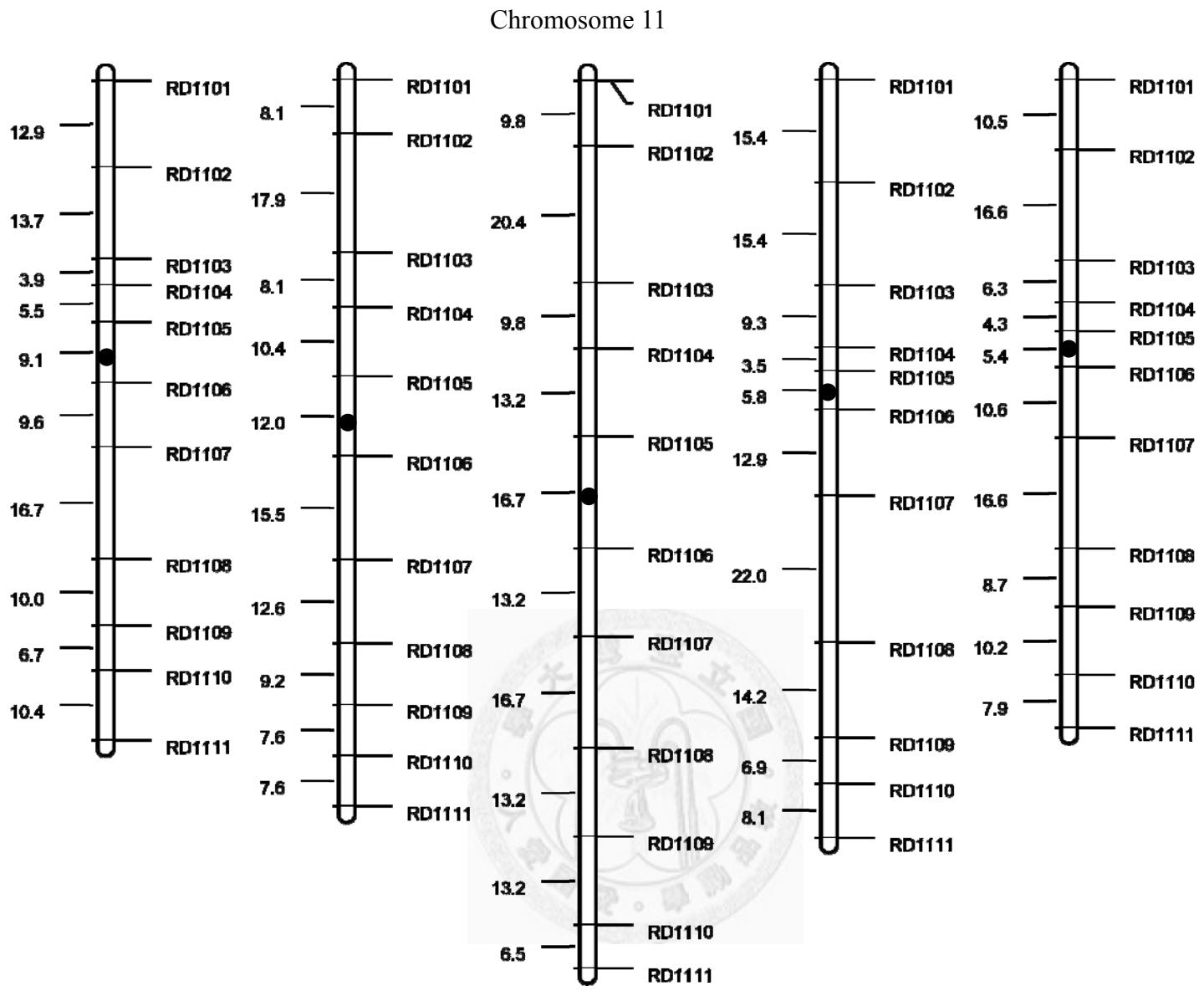
(a) FS 族群 (b) FK 族群 (c) SF 族群 (d) KF 族群 (e) F₂ 族群

圖一 不同族群分子標誌連鎖圖譜 (待續)

Chromosome 10



圖一 不同族群分子標誌連鎖圖譜 (待續)



(a) FS 族群

(b) FK 族群

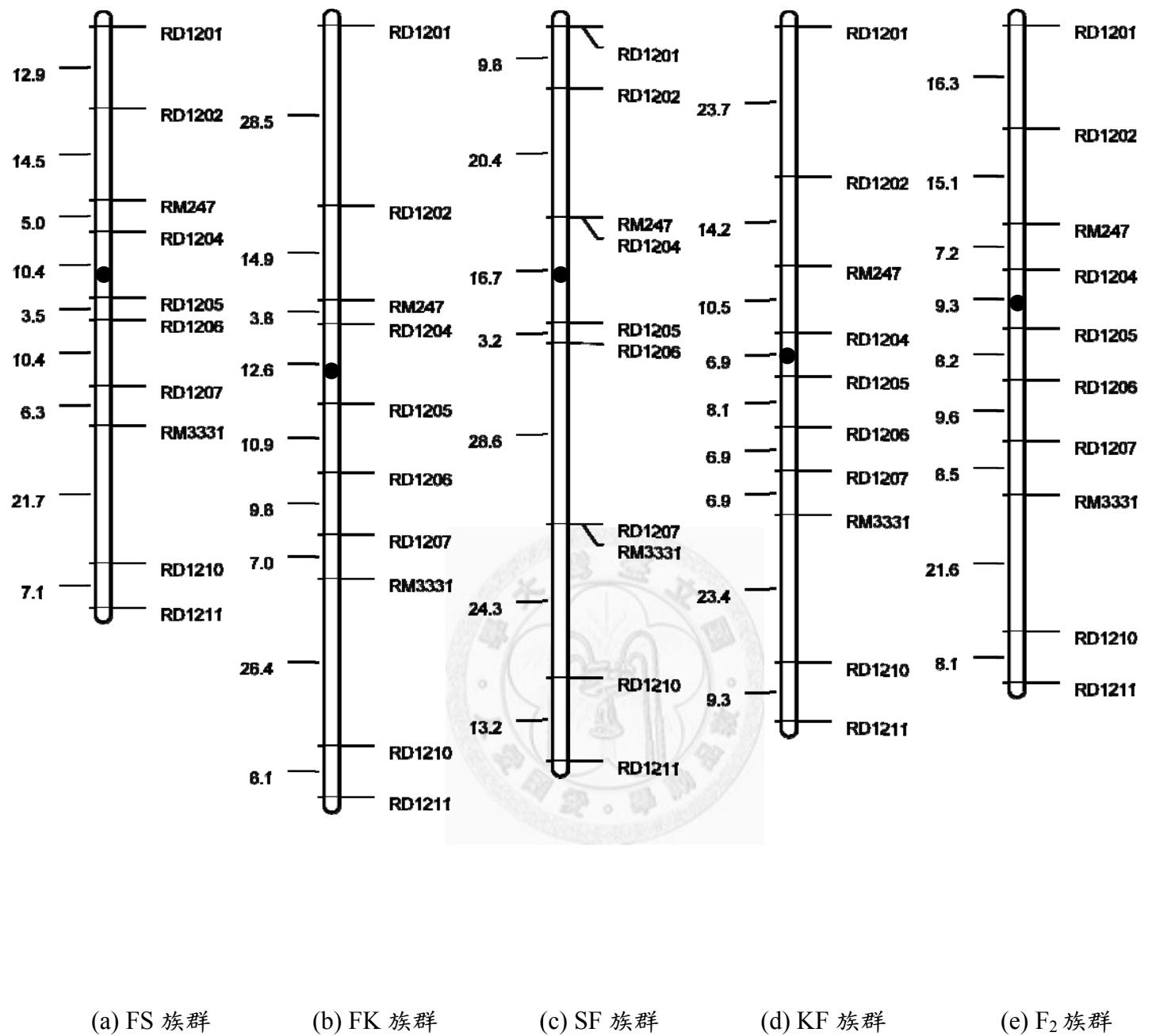
(c) SF 族群

(d) KF 族群

(e) F_2 族群

圖一 不同族群分子標誌連鎖圖譜 (待續)

Chromosome 12



(a) FS 族群

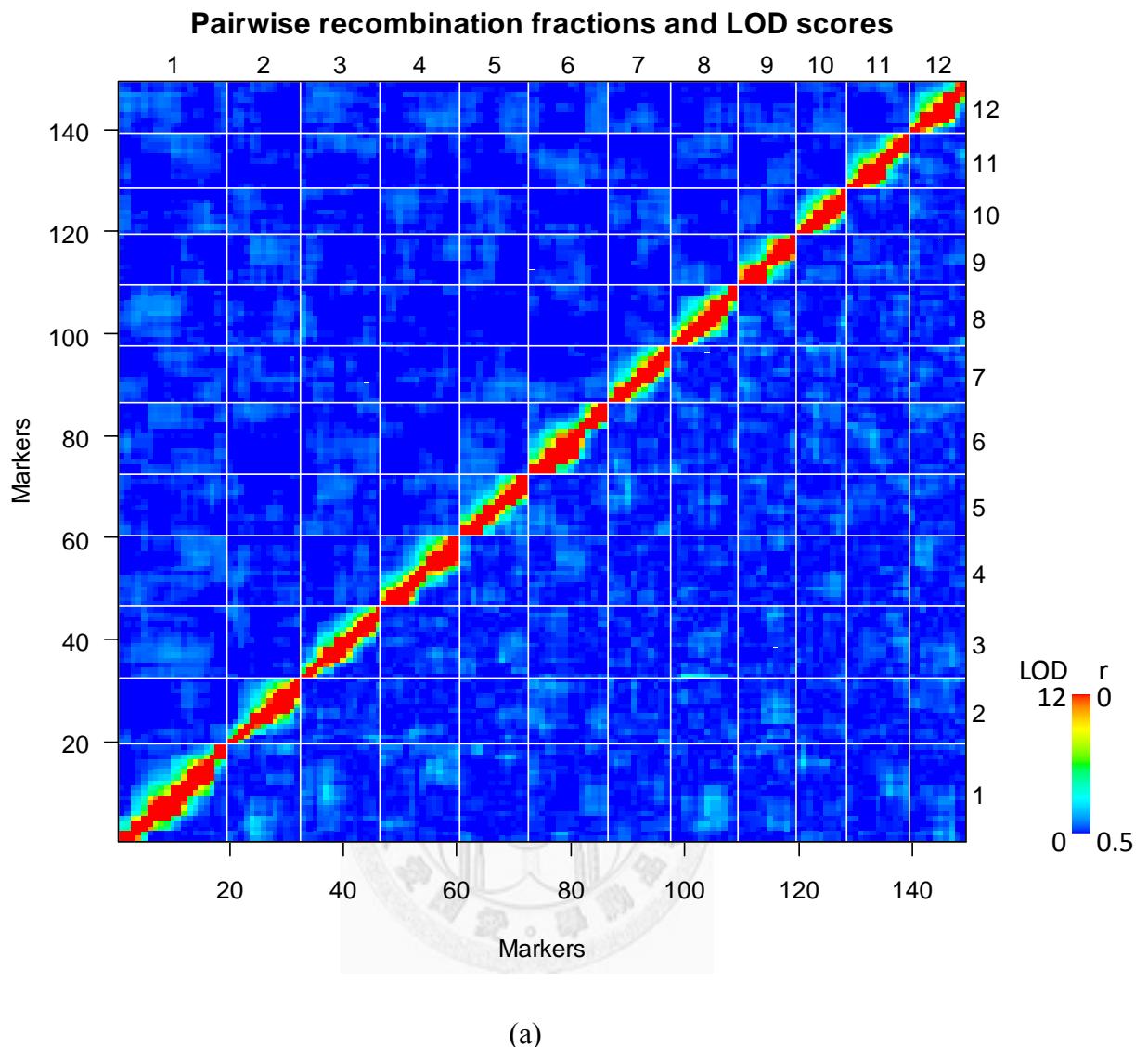
(b) FK 族群

(c) SF 族群

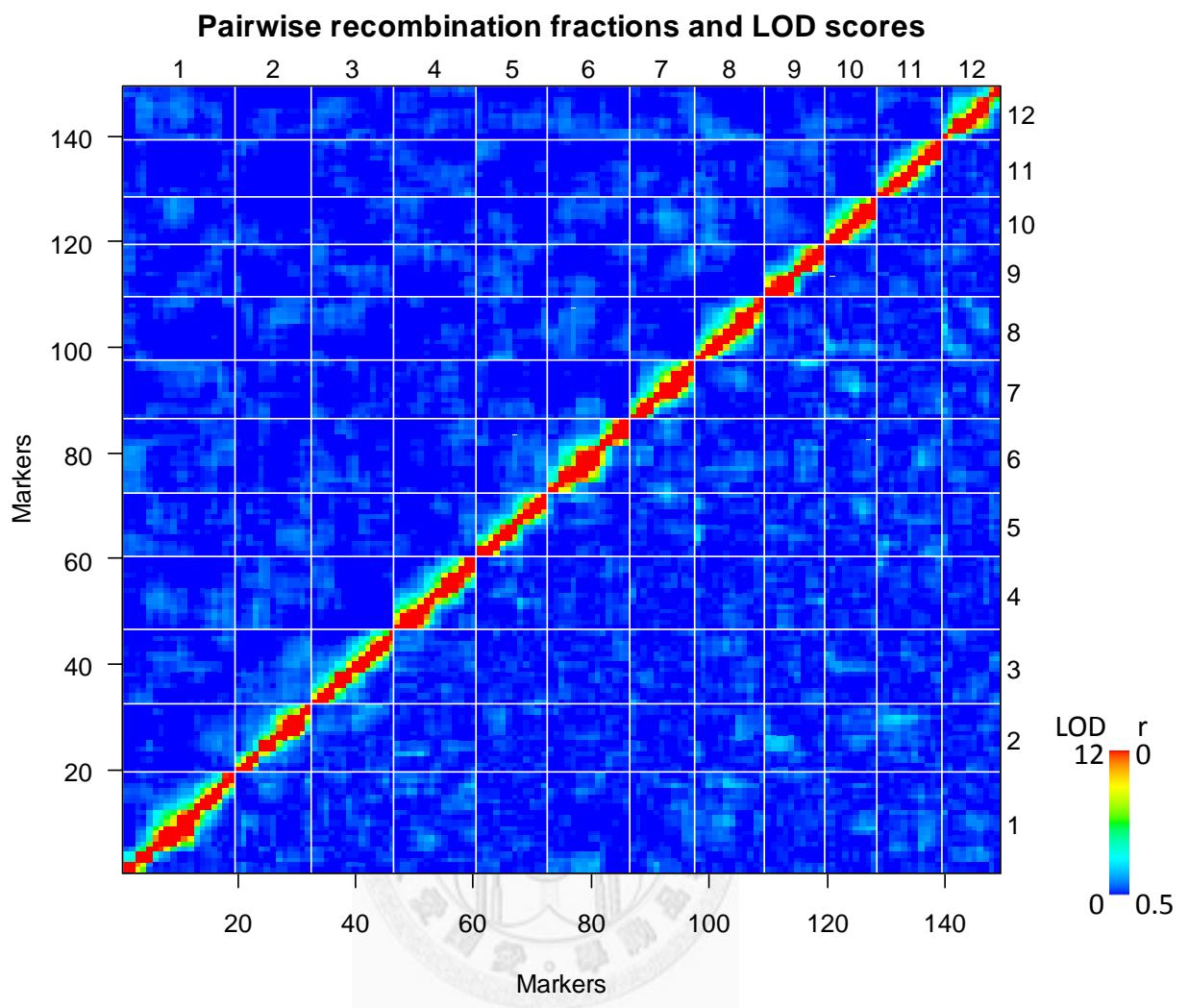
(d) KF 族群

(e) F₂ 族群

圖一 不同族群分子標誌連鎖圖譜 (續)

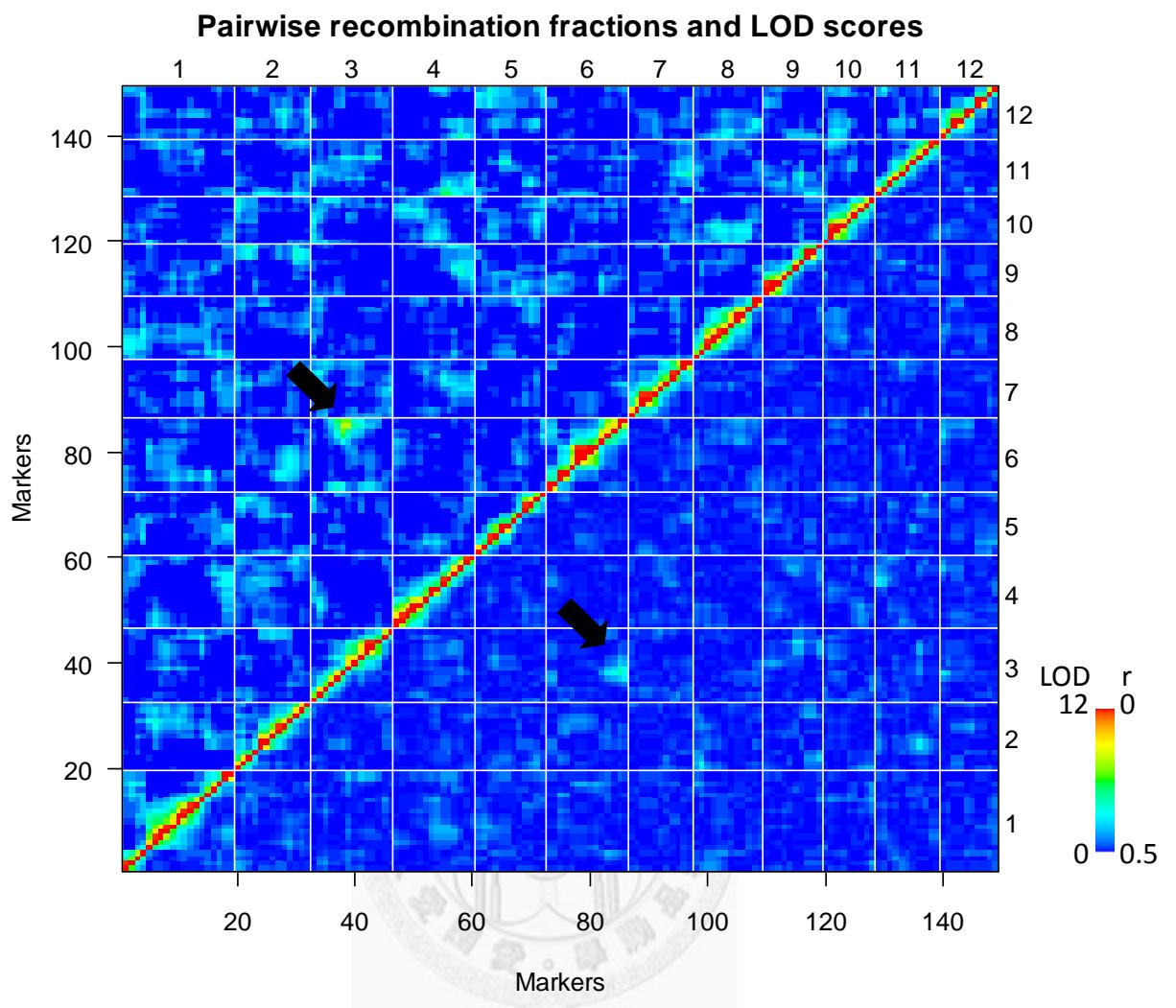


圖二 12 條染色體上分子標誌兩兩重組率與 LOD 值 (待續)。上三角為分子標誌兩兩重組率；下三角為分子標誌 LOD 值，橫軸由左到右、縱軸由下到上標示 1 到 149 個分子標誌於 12 條染色體上的排序。以紅色代表重組率為 0 或 LOD 值大於等於 12；藍色代表重組率為 0.5 或 LOD 值為 0，以不同顏色代表不同的程度；箭頭所指部分代表不同染色體上的分子標誌有連鎖現象。(a) FS 族群；(b) FK 族群；(c) SF 族群；(d) KF 族群；(e) F₂ 族群



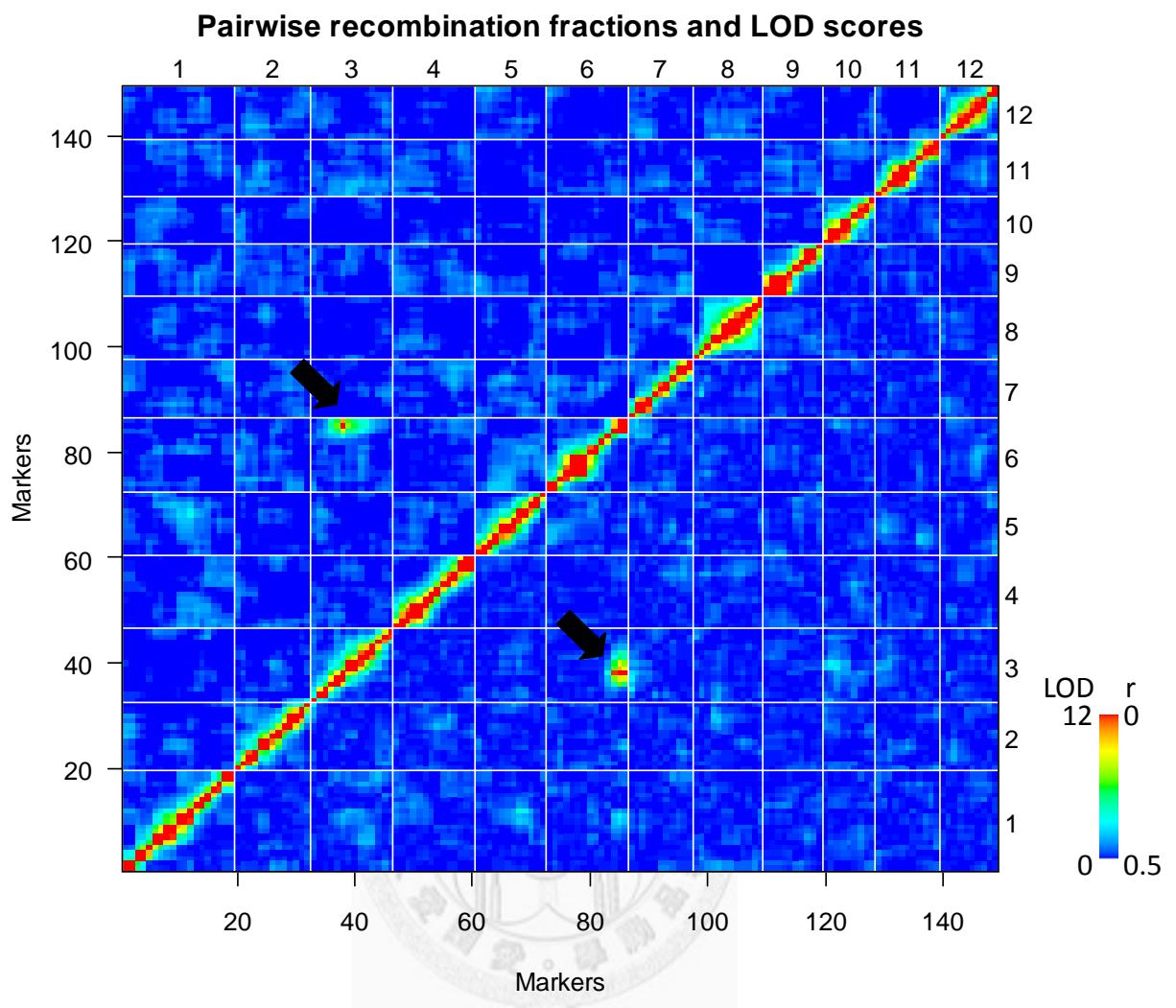
(b)

圖二 12 條染色體上分子標誌兩兩重組率與 LOD 值 (待續)



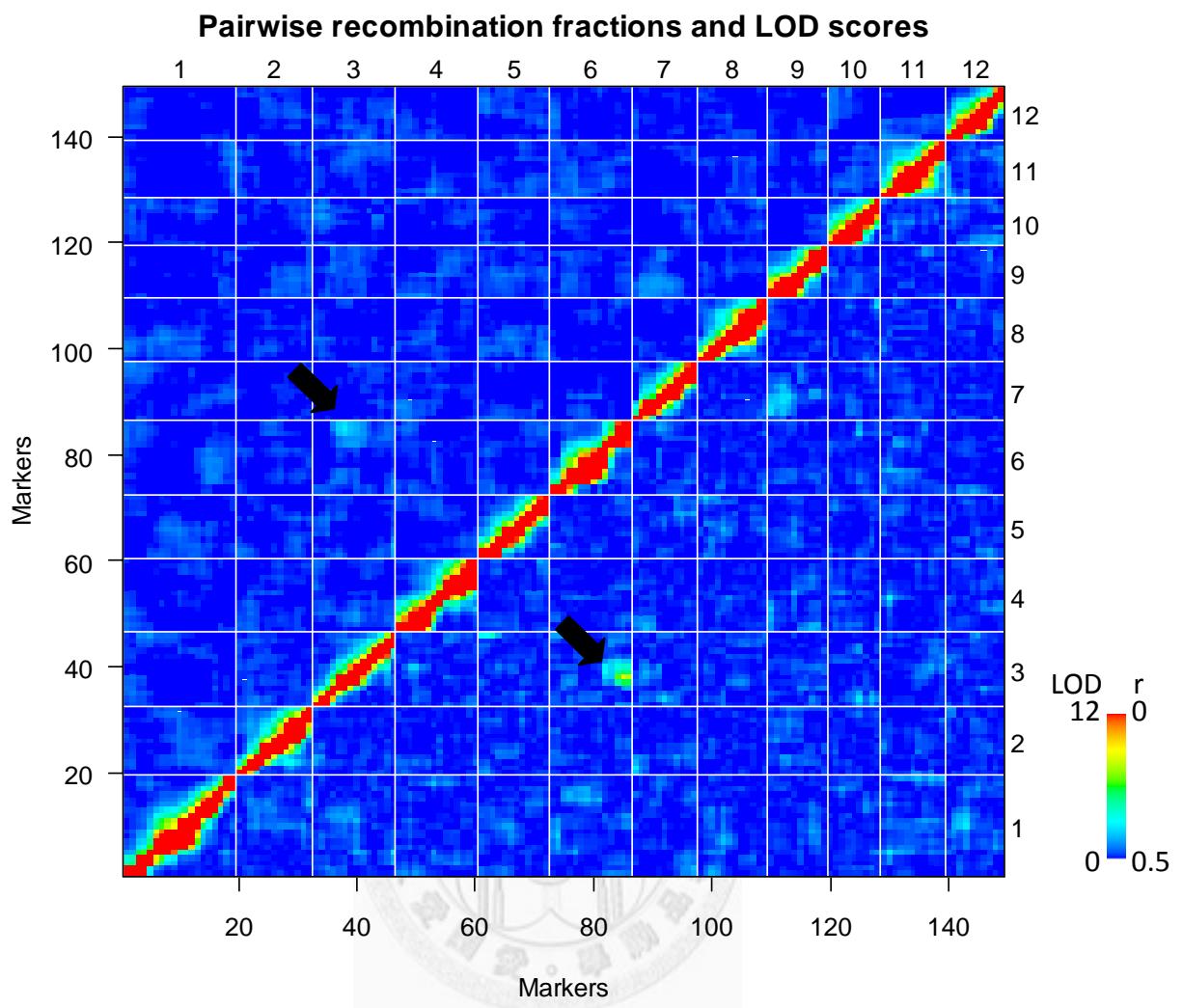
(c)

圖二 12 條染色體上分子標誌兩兩重組率與 LOD 值 (待續)



(d)

圖二 12 條染色體上分子標誌兩兩重組率與 LOD 值 (待續)



(e)

圖二 12 條染色體上分子標誌兩兩重組率與 LOD 值 (續)

二、不同族群不平衡分離的現象

在回交族群中，檢測單一分子標誌的基因型的頻度是否符合 1:1，或 F_1 所產生的對偶基因頻度是否符合 1:1。在 F_2 族群中，檢測單一分子標誌的基因型頻度是否符合 1:2:1 及對偶基因是否符合 1:1 的分離比。卡方適合度檢定的結果如表一所示，檢定為顯著的分子標誌於連鎖距離上標誌 “*” 或 “**”，偏離的方向有偏向私型對偶基因 (I allele) 或梗型對偶基因 (J allele)。對偶基因及基因型頻度的結果如圖三、圖四所示，檢定為顯著的分子標誌於分子標誌上標誌黃色或藍色點。

在 FS (S10/K2//S10) 族群中，149 個分子標誌中，有 24 個分子標誌經卡方檢定判定為顯著的分子標誌，位於 1、2、3、6、10、11、12 條染色體上，分別有 1、2、7、4、3、4、3 個分子標誌偏離。其中在第 2、6、11 條染色體及第 3 條染色體 RD0310 至 RD0314 上的分子標誌偏向私稻對偶基因，其基因型為偏向私稻同質結合型 (I/I)，第 1、10、12 條染色體及第 3 條染色體 RD0302 至 RD0303 上的分子標誌偏向梗稻對偶基因，其基因型為偏向異質結合型 (I/J)。在第 3、6、11 條染色體上偏離的分子標誌有群集的現象，偏離區域分別為 RD0310 – RD0314、RD0603 – RD0606、RD1101 – RD1104。

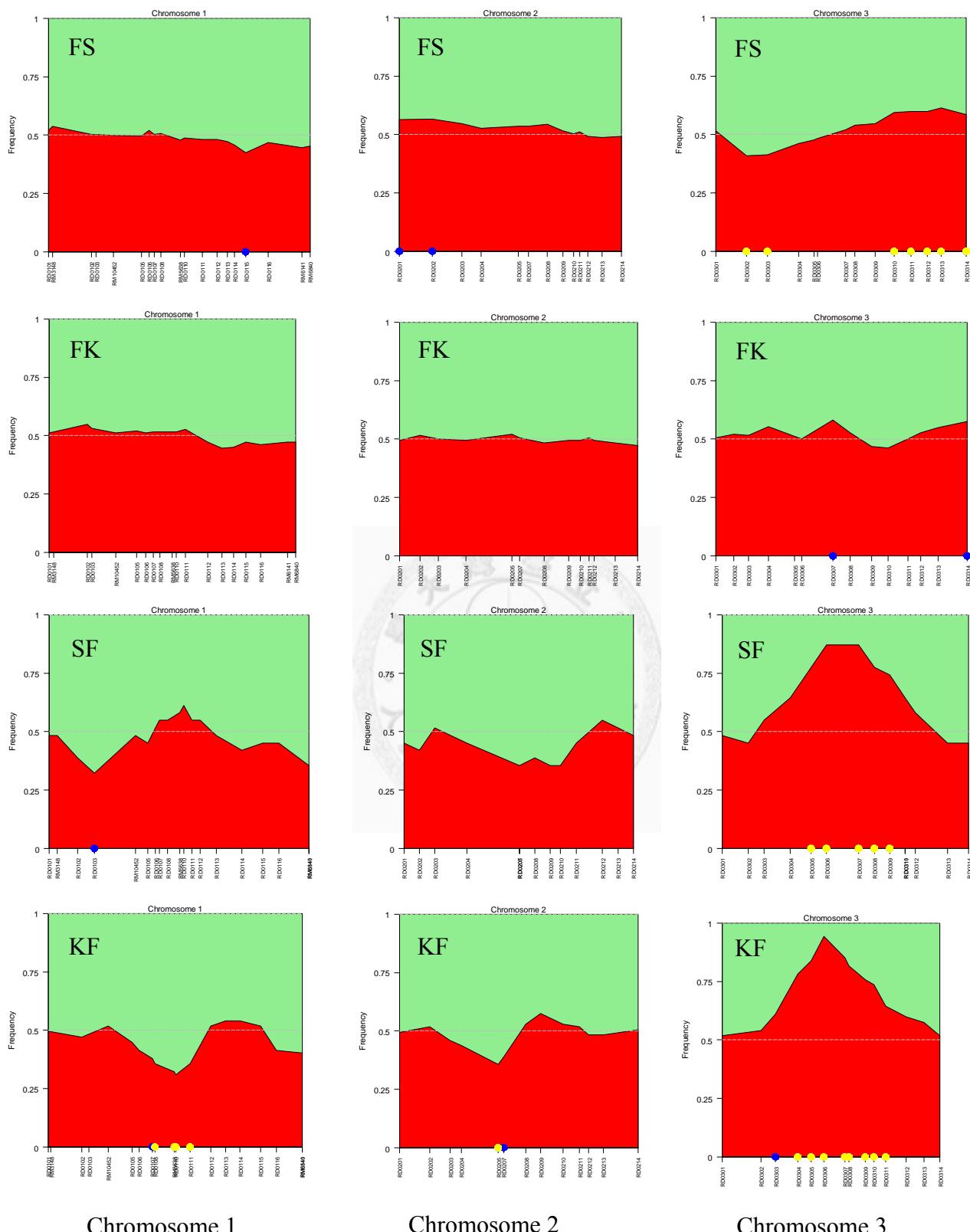
在 FK (S10/K2//K2) 族群中，149 個分子標誌中，有 15 個分子標誌經卡方檢定判定為顯著的分子標誌，位於 3、5、6、8、9、12 條染色體上，分別有 2、3、7、1、1、1 個分子標誌偏離。其中在第 3、6、8、12 條染色體上的分子標誌偏向私稻對偶基因，其基因型為偏向異質結合型，第 5、9 條染色體上的分子標誌偏向梗稻對偶基因，其基因型為偏向梗稻同質結合型 (J/J)。在第 6 條染色體上偏離的分子標誌有群集的現象，偏離區域為 RM3805 – RD0608。

在 SF (S10//S10/K2) 族群中，149 個分子標誌中，有 15 個分子標誌經卡方檢定判定為顯著的分子標誌，位於 1、3、6、8、10、12 條染色體上，分別有 1、5、5、4、1、6 個分子標誌偏離。其中在第 3、6 條染色體上的分子標誌偏向私稻對偶基因，其基因型為偏向私稻同質結合型，第 1、8、10、12 條染色體上的分子標誌

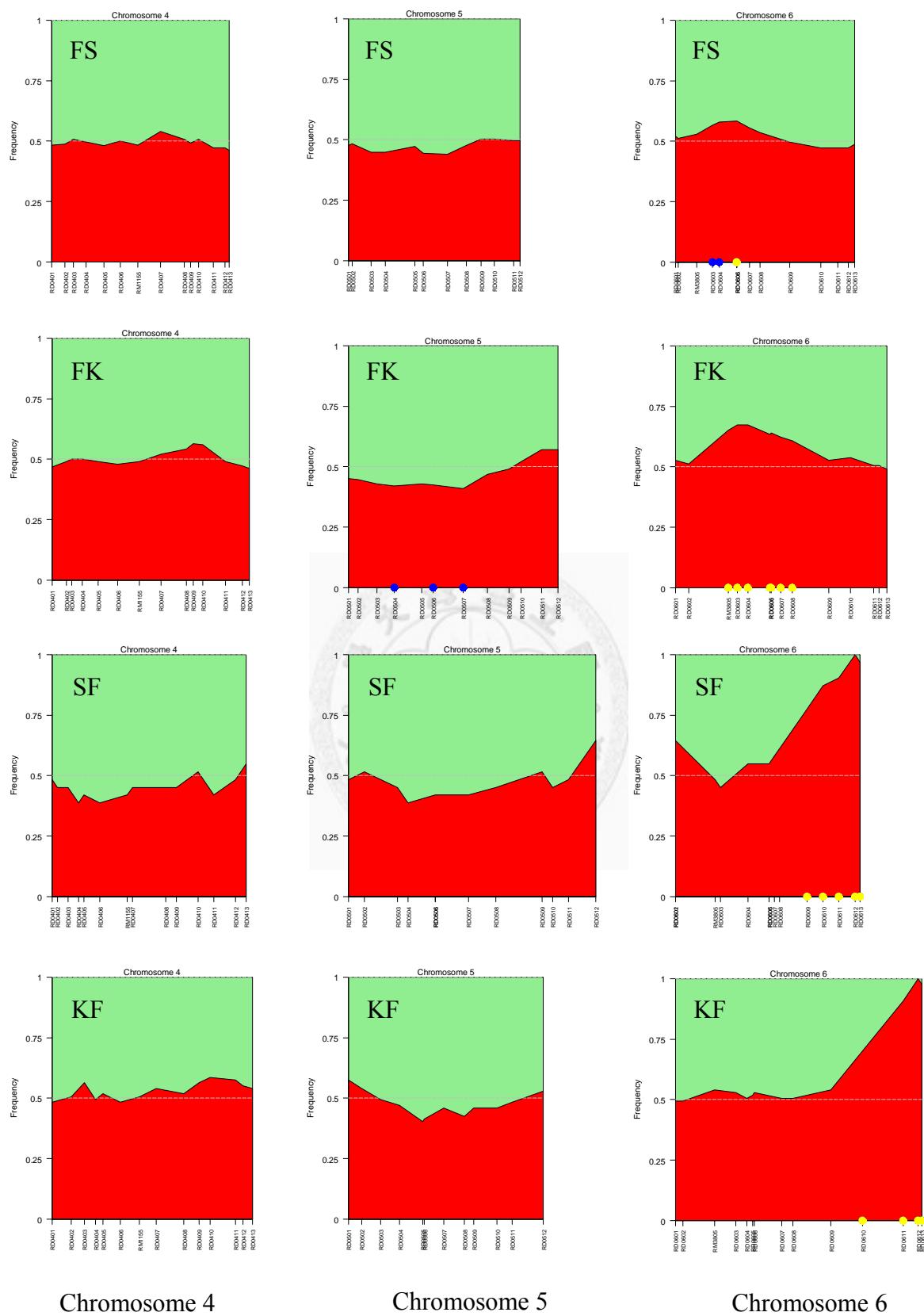
偏向梗稻對偶基因，其基因型為偏向異質結合型。在第 3、6、8、12 條染色體上偏離的分子標誌有群集的現象，偏離區域分別為 RD0305 – RD0309、RD0609 – RD0613、RM8265 – RD0811、RD1201 – RD1206。

在 KF (K2//S10/K2) 族群中，149 個分子標誌中，有 28 個分子標誌經卡方檢定判定為顯著的分子標誌，位於 1、2、3、6、7、8、10 條染色體上，分別有 5、2、9、4、4、1、3 個分子標誌偏離。其中在第 3、6 條染色體上的分子標誌偏向私稻對偶基因，其基因型為偏向異質結合型，第 1、2、7、8、10 條染色體上的分子標誌偏向梗稻對偶基因，其基因型為偏向梗稻同質結合型。在第 1、3、6、7、10 條染色體上偏離的分子標誌有群集的現象，偏離區域分別為 RD0107 – RD0111、RD0303 – RD0311、RD0610 – RD0613、RD0701 – RD0704、RM6142 – RD1005。

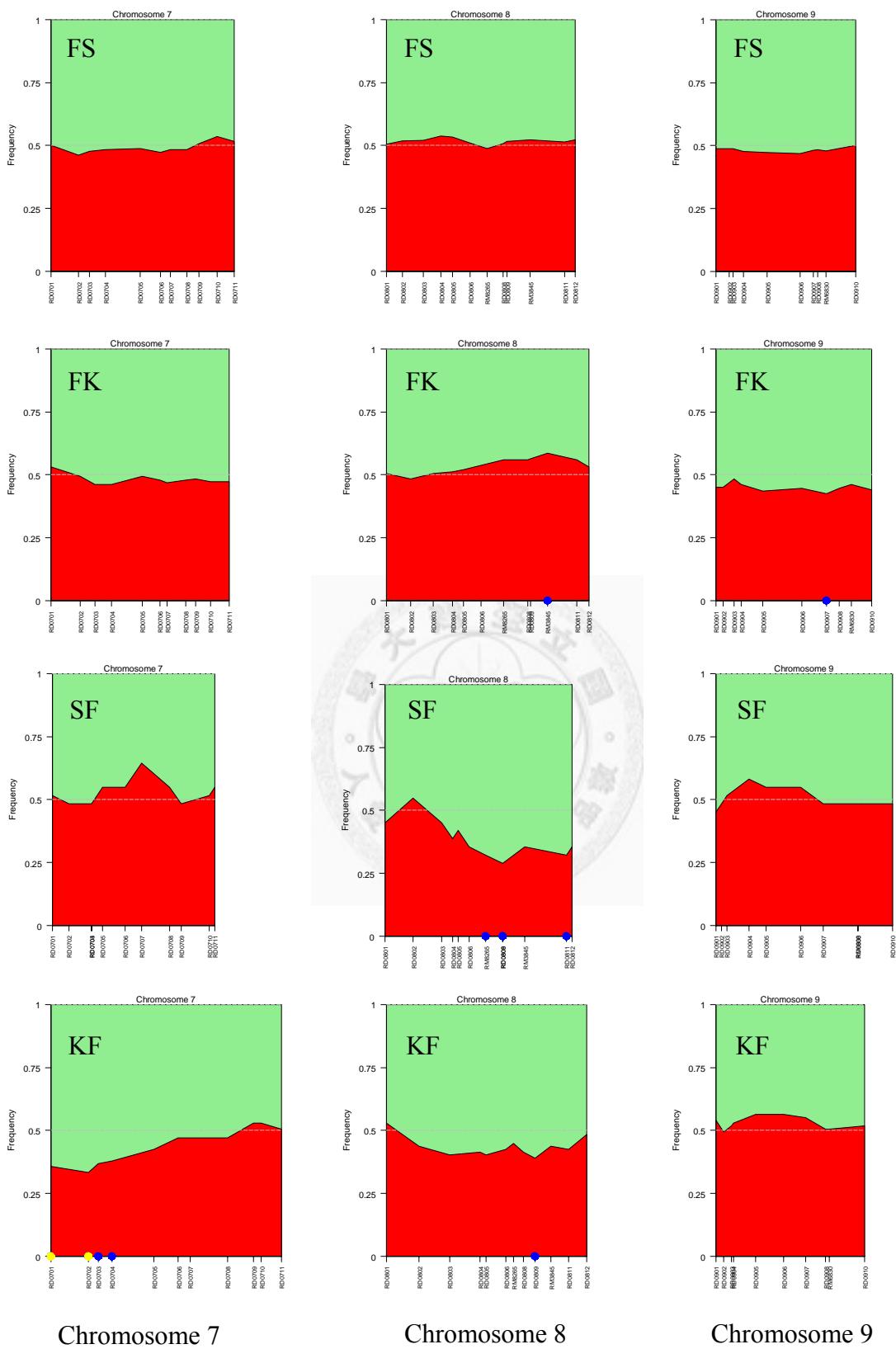
在 F_2 族群中，149 個分子標誌中，有 27 個分子標誌經卡方檢定 $I/I : I/J : J/J = 1 : 2 : 1$ 的基因型分離比判定基因型為顯著的分子標誌，位於 3、4、5、6、7、8 條染色體上，分別有 11、4、1、5、5、2 個分子標誌偏離。除了 RD0310、RD0610 之外，皆有偏向異質結合的基因型。第 3 條染色體上 RD0304 – RD0314、第 6 條染色體 RD0609 – RD0613 為偏向私稻同質結合型；第 3 條染色體 RD0301、第 4 條染色體 RD0408、第 7 條染色體 RD0702 – RD0706、第 8 條染色體 RD0806 – RM8265 為偏向梗稻同質結合型。



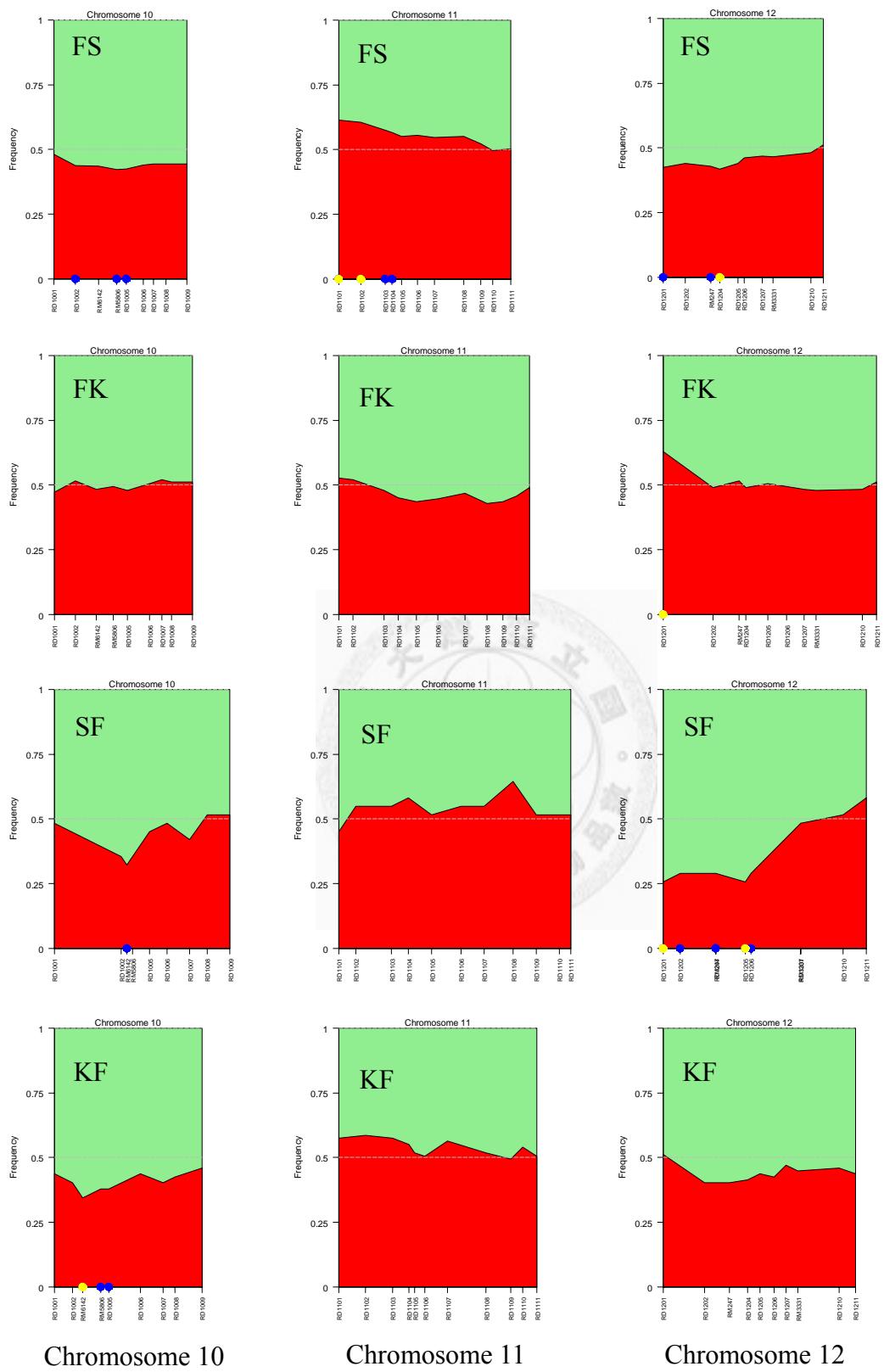
圖三 回交族群 12 條染色體私型對偶基因頻度圖 (待續)。橫軸為分子標誌於 12 條染色體上的遺傳位置；縱軸為該分子標誌於 F_1 所產生之私型對偶基因的頻度。橫軸分子標誌上藍色點為卡方檢定之 $p < 0.05$ ；黃色點為卡方檢定之 $p < 0.01$ 。



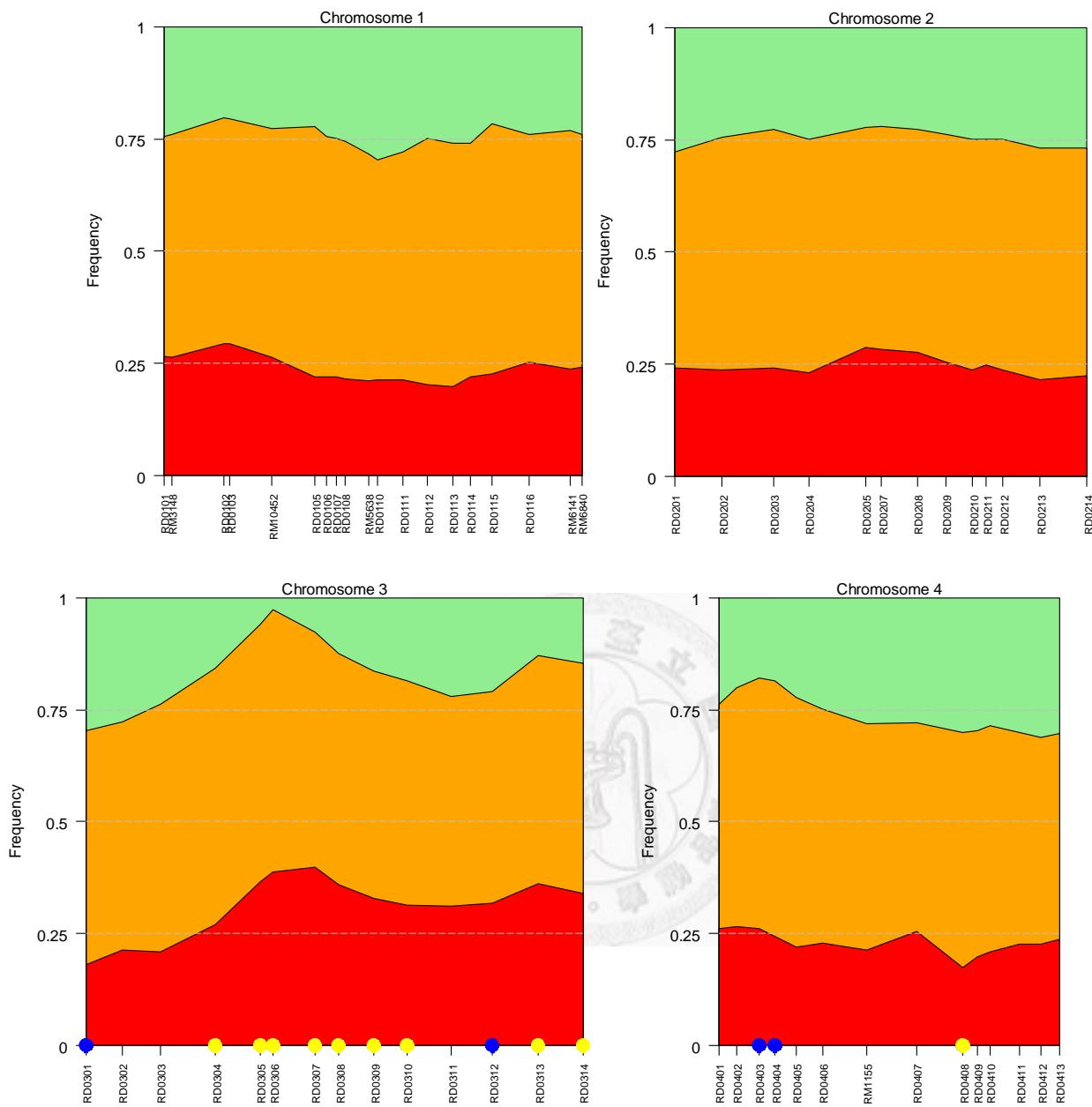
圖三 回交族群 12 條染色體型對偶基因頻度圖 (待續)



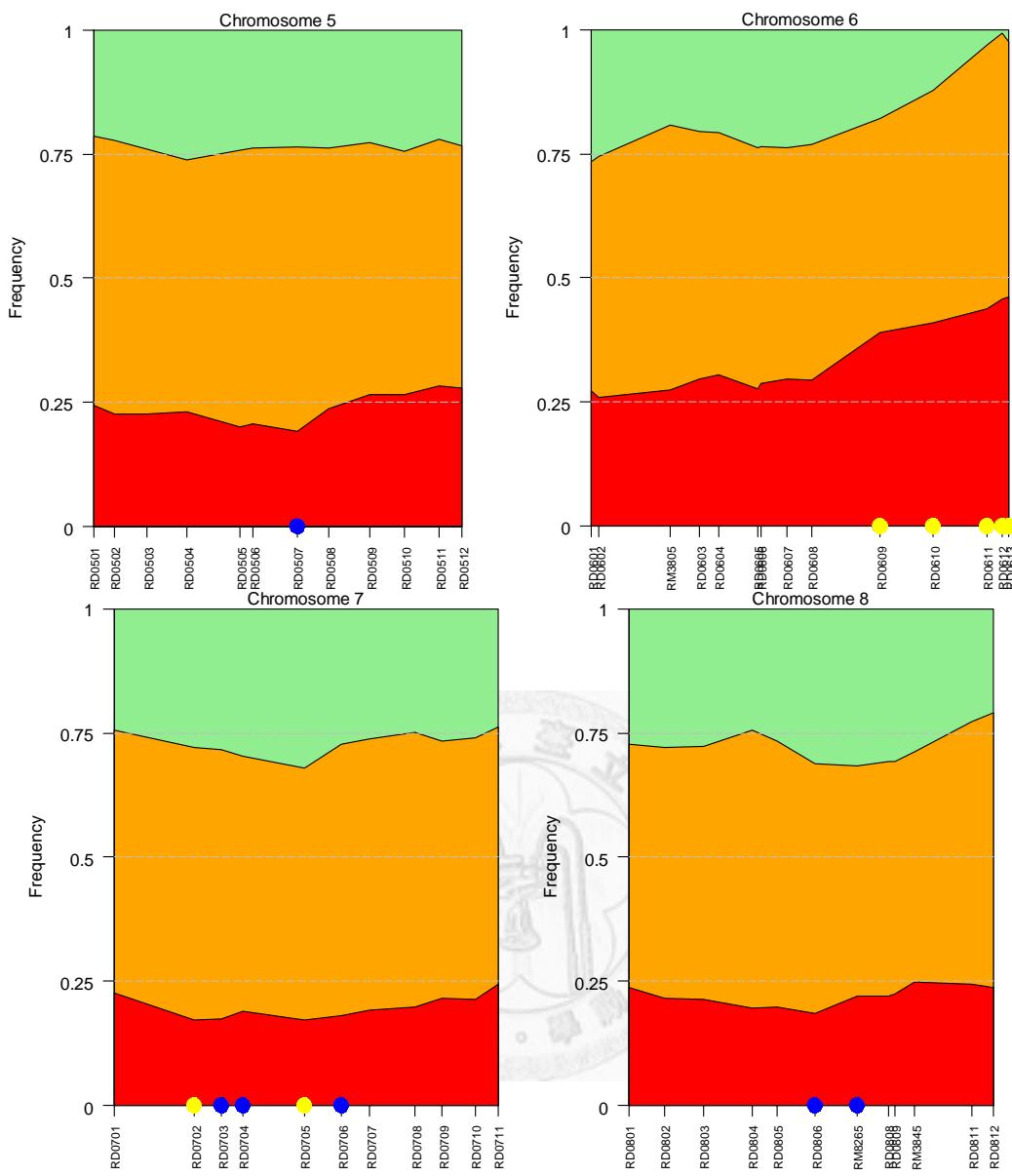
圖三 回交族群 12 條染色體私型對偶基因頻度圖 (待續)



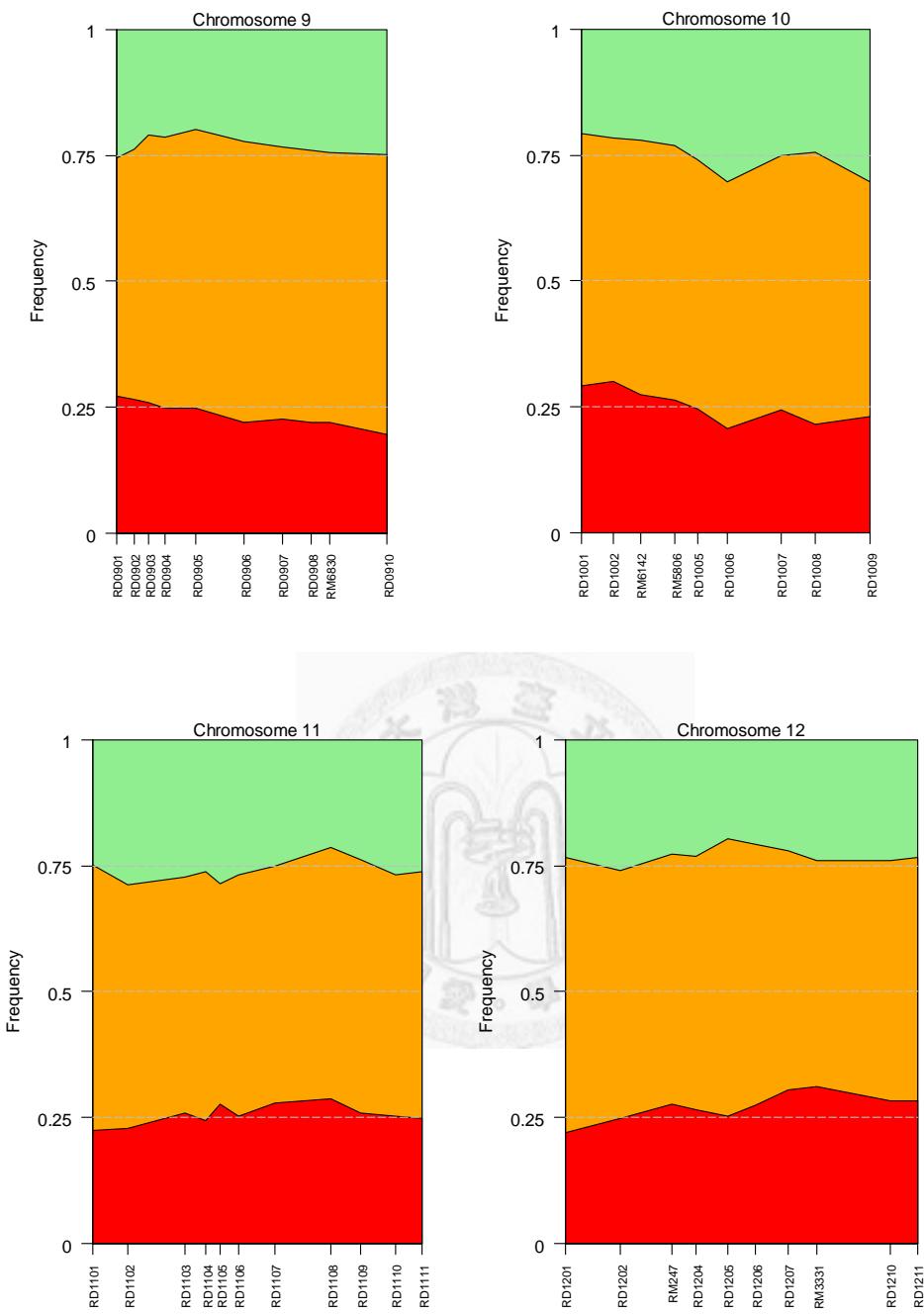
圖三 回交族群 12 條染色體私型對偶基因頻度圖（續）



圖四 F_2 族群 12 條染色體上基因型頻度 (待續)。橫軸為分子標誌於 12 條染色體上的遺傳位置；縱軸為該分子標誌基因型頻度及。橫軸分子標誌上藍色點為卡方檢定之 $p < 0.05$ ；黃色點為卡方檢定之 $p < 0.01$ 。圖中紅色代表秈稻同質結合型、橘色代表異質結合型、綠色代表梗稻同質結合型。



圖四 F_2 族群 12 條染色體上基因型頻度 (待續)



圖四 F_2 族群 12 條染色體上基因型頻度 (續)

三、比較不同族群不平衡分離的現象

綜合比較 4 個正反回交族群與 F₂ 族群的不平衡分離趨勢，可以區別不平衡分離發生的原因為 F₁ 做為父本或母本才會發生的不平衡分離，亦或是有偏向特殊基因型的不平衡分離。卡方適合度檢定的結果如表一或圖三、圖四所示，對偶基因及基因型頻度的結果如圖三、圖四所示，連鎖圖譜如圖一所示，中節的位置是參考 Rice Genome Annotation (<http://rice.plantbiology.msu.edu/index.shtml>) 網站所公布的中節在偽分子 (pseudomolecules) 上的位置 (version 6.1) 與分子標誌在偽分子上的位置做比較。

以 F₁ 做為母本的回交族群中 (FS、FK) 兩個回交族群同樣在第 6 條染色體有群集的分子標誌發生不平衡分離，且偏離的方向相同，皆偏向籼稻型對偶基因，且偏離的區域也有重疊的部分，為 RD0603 – RD0606，位於第 6 條染色體上短臂的區域。在 FS 族群中，對偶基因頻度偏向籼稻型對偶基因的高峰位於 RD0605 與 RD0606，對偶基因的頻度為 0.58；在 FK 族群中籼稻型對偶基因的高峰位於 RD0603 與 RD0604，對偶基因的頻度為 0.67。另外在第 3 條染色體的 RD0314 在兩回交族群中也都有偏向籼稻對偶基因的現象，籼稻對偶基因頻度在 FS 族群中為 0.59，在 FK 族群中為 0.58。然而以 F₁ 做為父本的回交族群中 (SF、KF) 兩個回交族群在這些區域並無不平衡分離的發生，因此推測此不平衡分離的效應為 F₁ 作為母本時的雌配子效應，占優勢的對偶基因为籼稻對偶基因。

以 F₁ 做為父本的回交族群中 (SF、KF) 兩個回交族群同樣在第 3、6 條染色體有群集的分子標誌發生不平衡分離，且偏離的方向相同，皆偏向籼稻型對偶基因，偏離的區域也有重疊的部分，為 RD0305 – RD0309 與 RD0610 – RD0613，分別位於第 3 條染色體上中節 (centromere) 附近的區域，與第 6 條染色體的長臂接近末端上。在 SF 族群中第 3 條染色體中，對偶基因頻度偏向籼稻型對偶基因的高峰位於 RD0306 與 RD0307，對偶基因的頻度為 0.87，第 6 條染色體中，對偶基因頻度偏向籼稻型對偶基因的高峰位於 RD0612，對偶基因的頻度為 1，表示此區域並無

梗型對偶基因的存在；在 KF 族群中第 3 條染色體中，對偶基因頻度偏向籼稻型對偶基因的高峰位於 RD0306，對偶基因的頻度為 0.94，第 6 條染色體籼稻型對偶基因的高峰位於 RD0612，對偶基因的頻度為 1。然而以 F_1 做為母本的回交族群中 (FS、FK) 兩個回交族群在這些區域並無不平衡分離的發生，因此推測此不平衡分離的效應為 F_1 作為父本時的雄配子效應，占優勢的對偶基因为籼稻對偶基因。

在 F_1 與 TCS10 回交的回交族群中 (FS、SF)，兩個回交族群同樣在第 12 條染色體有分子標誌發生不平衡分離，且偏離的方向相同，皆偏向梗型對偶基因及異質結合型，偏離的區域也有重疊的部分，為 RM247 – RD1204 位於第 12 條染色體上短臂上。

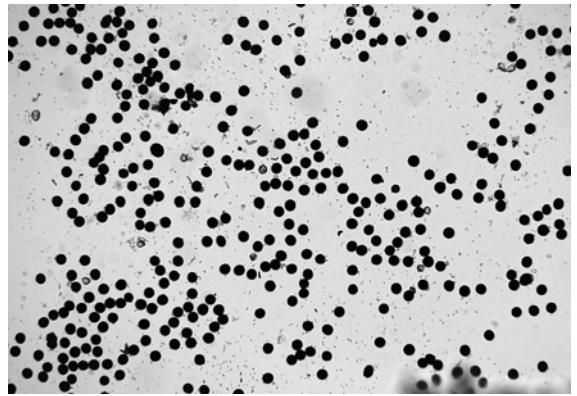
在 F_1 與 TK2 回交的回交族群中 (FK、KF)，兩個回交族群只有在第 3 條染色體 RD0307 分子標誌發生不平衡分離有重疊的部分，皆偏向籼型對偶基因及籼稻同質結合型。

F_2 族群的基因型頻度會受到配子型與合子型基因作用所影響。在第 3 條染色體的 RD0304 - RD0310 的不平衡分離區域，在 RD0306 的基因型頻度與對偶基因頻度偏離最大，偏向籼稻同質結合型、異質結合型，推測是受到以 F_1 做為父本的配子型效應影響；RD0313 - RD0314 的不平衡分離區域偏向籼稻同質結合型、異質結合型，推測是受到以 F_1 做為母本的配子型效應影響。在第 6 條染色體的 RD0609 - RD0613 的不平衡分離區域，在 RD0612 的基因型頻度與對偶基因頻度偏離最大，偏向籼稻同質結合型、異質結合型，推測是受到以 F_1 做為父本的配子型效應影響。在第 7 條染色體 RD0702 - RD0706 發生不平衡分離的區域與 KF 族群發生不平衡分離的區域有重疊，重疊部分為 RD0702 - RD0704，偏向梗稻同質結合型，然而在 FK 族群中此區域並無不平衡分離的現象，因此推測在此區域的不平衡分離是受到交感作用所影響，但效應並不大。除了在回交族群所發現的不平衡基因外，在其他區域並未發現有大規模的不平衡分離區域，因此推測 F_2 的不平衡分離並未受到其他合子型或交感作用的影響。

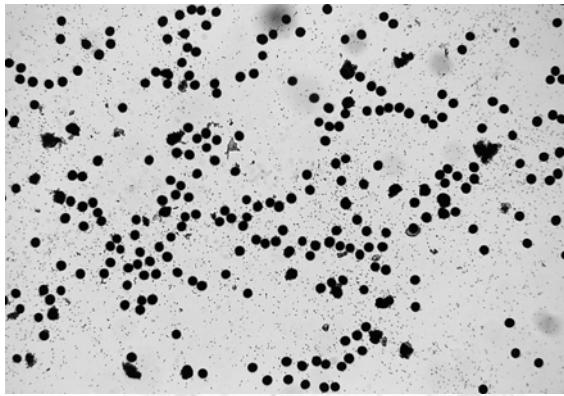
由 SDL 定位的結果可以知道第 3、6 條染色體存在強烈的雄配子效應，因此針對 F_1 與兩親本的花粉進行充實率的檢測。檢測的方式為碘染，利用澱粉遇碘變藍的特性，觀察花粉的澱粉充實情形，染色情形如圖五。以黑白照片的方式呈現，以增加染色花粉與背景的色差，以方便分析，並不影響充實花粉與不充實花粉的判斷。

觀察 TCS10、TK2 與 F_1 的花粉充實率，其充實率平均分別為 0.937、0.966 與 0.952，標準偏差分別為 0.035、0.030、0.027。兩親本與 F_1 的花粉充實率皆達九成以上，未充實的花粉數少，顯示花粉並無不稔的情形。

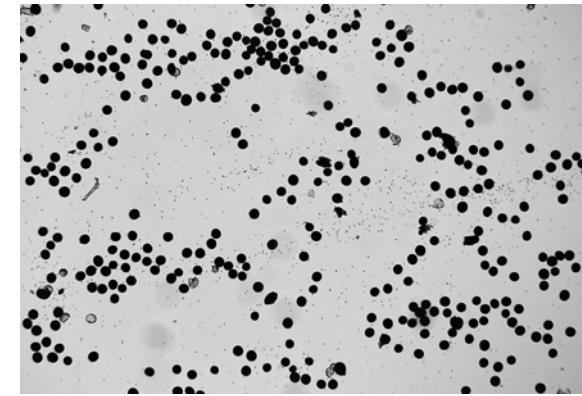




(a)



(b)



(c)

圖五 花粉充實率情形 (a) 台中籼 10 號 (b) 台梗 2 號 (c) F₁

四、以 EM 演算法計算單一 SDL 的位置與效應的最大概似估計值

利用卡方適合度檢定後，列出 p 值 (p value) 小於 0.01 的分子標誌後，針對該條染色體進行 SDL 的偵測。利用 EM 演算法計算兩相鄰分子標誌間不平衡分離基因座之存活力與位置的最大概度值，並計算偵測出的 SDL 的 LOD 值，結果如表二所示。

以 LOD 值大於 3 為顯著水準，在 FS 族群中，第 11 條染色體的 RD1101 與 RD1102 間定位到一個 SDL，位於第 11 條染色體上 5.22 cM，SDL 的存活力為 0.59；在 FK 族群中，第 6 條染色體的 RD0603 與 RD0604 間定位到一個 SDL，位於第 6 條染色體上 41.17 cM，SDL 的存活力為 0.46；在 SF 族群中，第 3 條染色體的 RD0306 與 RD0307 間定位到一個 SDL，位於第 3 條染色體上 77.26 cM，SDL 的存活力為 0.03，也在第 6 條染色體的 RD0612 上位到一個 SDL，位於第 6 條染色體上 110.0 cM，SDL 的存活力為 0；在 KF 族群中，第 3 條染色體的 RD0306 與 RD0307 間定位到一個 SDL，位於第 3 條染色體上 85.42 cM，SDL 的存活力為 0.02，也在第 6 條染色體的 RD0612 上定位到一個 SDL，位於第 6 條染色體上 148.77 cM，SDL 的存活力為 0。

在以 F_1 做為母本與兩親本回交的回交族群中，在 FK 族群中第 6 條染色體所定位到的 SDL 在 FS 族群中並未達顯著水準，推測可能此效應大小並不很大，或在不同族群有不同效應大小，但由對偶基因頻度的趨勢來看（圖一），此區域仍有可能存在雌配子效應。

在以 F_1 做為父本與兩親本回交的回交族群中，在兩個回交族群的第 3、6 條染色體所定位到的 SDL 區域相同，位於 RD0306 – RD0307 之間與 RD0612 上，兩個 SDL 的存活力大小幾乎為 0，即梗稻對偶基因幾乎不存在，顯示有強烈的雄配子效應存在。

在 F_1 與 TCS10 正反回交的回交族群中，在第 12 條染色體所偵測到的 SDL 效應並不顯著，因此推測並無合子效應存在。

在 F_1 與 TK2 正反回交的回交族群中，在第 6 條染色體所偵測到的 SDL 位置並不相同，在 FK 族群中所定位到的 SDL 位於 RD0603 與 RD0604 間，在 KF 族群中所定位到 SDL 為 RD0612 上，兩個 SDL 的位置差距大，因此並不認為是同一個 SDL，因此推測並無合子效應存在。



表二 以最大概度法估算不平衡分離基因座位置與其效應結果

Chromosome	Marker interval	Parameter	FS	FK	SF	KF Direction
3	RD0306-RD0307	position			77.26	85.42
		viability			0.03	0.02
		LOD			5.70	19.00
6	RD0603-RD0605	position	37.74	41.17		I
		viability	0.69	0.46		
		LOD	1.62	5.23		
6	RD0612	position			110.00	148.77
		viability			0.00	0.00
		LOD			9.33	26.20
11	RD1101-RD1102	position	5.22			I
		viability	0.59			
		LOD	3.13			



五、模擬族群

為了解 SDL 的存在會不會對連鎖距離造成影響、EM 演算法是否可適用於估計單一 SDL 的位置與效應，與單一 SDL 存在下 QTL 的偵測是否會受到影響，模擬了正常族群與帶有 SDL 的族群做比較。

1. 模擬族群連鎖距離比較

存在單一 SDL 與兩獨立 SDL 的正常族群與次族群分子標誌間連鎖距離比較的結果如附錄一。存在單一 SDL 的情況下正常族群與次族群分子標誌間的連鎖距離並不會受到族群大小、SDL 存活力大小影響。在兩條染色體中，每個相鄰兩分子標誌區間連鎖距離接近於 10 cM，與設置的參數接近，但族群大小會影響相鄰兩分子標誌區間連鎖距離的變異性，族群數越大，變異性越小。在相同族群設置的條件下，次族群因為存活力的問題，族群數目較正常族群少，因此連鎖距離的變異性也較大。

在兩個獨立的 SDL 情況下，兩個 SDL 分別位於兩條染色體中，沒有交感，其相鄰兩分子標誌區間連鎖距離與只存在單一 SDL 的情況下相同，並不受族群大小、SDL 效應大小及 SDL 的方向所影響。SDL 方向相同時，皆偏向同一種基因型，不同連鎖群的分子標誌容易被認為有連鎖關係（圖六），因此若原本的分子標誌並無指定連鎖群或順序，則可能會受到不平衡分離的影響，而將原本在不同染色體上的分子標誌分到同一連鎖群，造成連鎖圖譜的錯誤；SDL 方向相反時，不同連鎖群的分子標誌在計算重組率時會計算出重組率大於 0.5 的情況，因此 LOD 值也是會有顯著的情形，表示重組率偏離了 0.5，但並不會將不同連鎖群的分子標誌分成同一連鎖群。SDL 的存活力越低，即效應越大，則影響連鎖關係越大，越容易使 LOD 值顯著。

在兩個 SDL 在同一條染色體上的情況下，若 SDL 的作用方向相同，則會影響兩 SDL 間的連鎖距離，會使連鎖距離縮短；若 SDL 的作用方向相反，則會使連鎖距離增加（表三）。以族群大小為 300，兩 SDL 存活力皆為 0.1，作用方向相同時兩

SDL 間的距離從 20 cM 縮短至 5.4 cM；作用方向相反時兩 SDL 間的距離從 20 cM 增加至 57.6 cM (圖七)。SDL 的效應越大，則連鎖距離增加或縮短的幅度越大，但在兩 SDL 之外的連鎖距離則不受影響，但整體而言，染色體的總長度還是會受到影響。在兩兩分子標誌與 LOD 值的結果可以看出若 SDL 方向相同時，同一條染色體上的分子標誌間的重組率會降低，使同一連鎖群上的分子標誌連鎖關係較緊密；若 SDL 方向相反時，同一條染色體上的分子標誌間的重組率會增加，使同一連鎖群上的分子標誌連鎖關係較疏遠，兩 SDL 間連鎖的分子標誌可能也會被認為沒有連鎖關係 (圖六)。

2. 以 EM 演算法計算單一 SDL 的位置與效應的最大概度估計值

由連鎖距離的模擬結果可知同一條染色體存在兩個 SDL 的情況且距離接近時，會影響連鎖距離的計算，因此在此僅設置單一 SDL 的情況。檢測正常族群中設定 SDL 位置的分子標誌與標的分子標誌的連鎖距離，與次族群中所估計的 SDL 位置與標的分子標誌的連鎖距離相比，以檢測 EM 演算法是否可準確估計到 SDL 的位置，也透過 1000 次的模擬估計 SDL 的存活力大小，看是否與設置的參數大小相同。結果如表四所示，使用 EM 演算法適用於計算單一 SDL 存在下的位置與存活力的最大概度值，正常族群中設定 SDL 位置的分子標誌與標的分子標誌的連鎖距離與次族群中所估計的 SDL 位置，與標的分子標誌的連鎖距離無顯著差異，且 SDL 的存活力大小的估計也與設置的參數值相近。

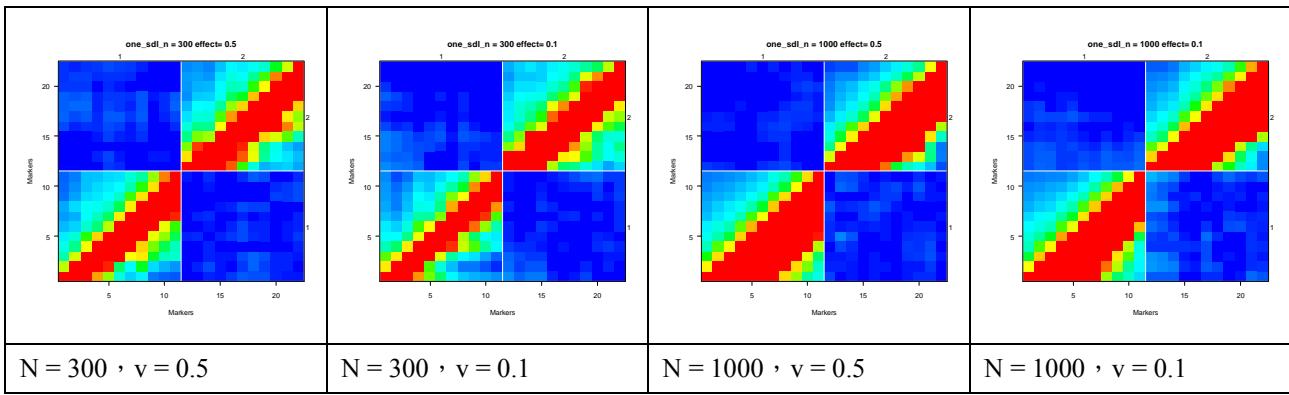
3. 模擬族群之 QTL 偵測

由連鎖距離的模擬結果可知同一條染色體存在兩個 SDL 的情況且距離接近時，會影響連鎖距離的計算，因此在此僅設置單一 SDL 的情況。檢測存在 SDL 存在下，基因型的偏離會不會對 QTL 的偵測造成影響。

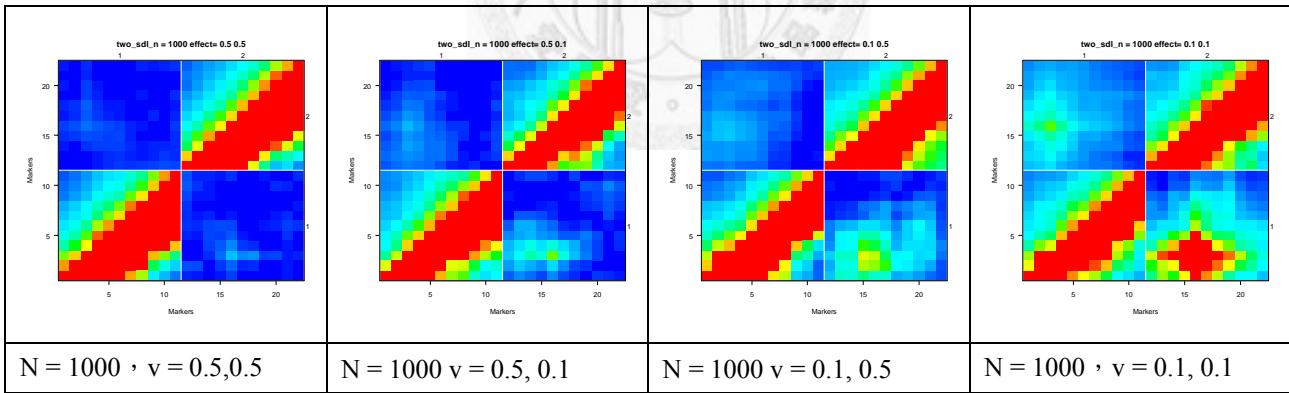
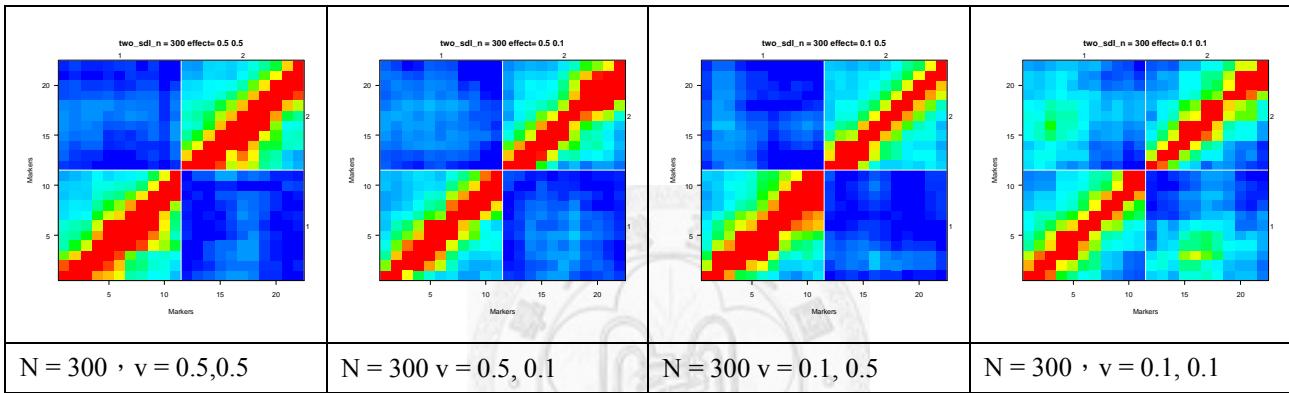
每種參數模擬的族群數只有一個，外表型分布如附錄二，外表型分布成常態分布或接近常態分布，QTL 偵測的結果如表五。結果顯示在正常族群下可偵測到的 QTL 的位置與加性效應在存在有 SDL 的族群下同樣可以偵測到 QTL，且偵測

到的位置與效應與正常族群所偵測到的結果差不多。在大族群下（族群數為 1000），正常族群與帶有 SDL 族群所偵測到的 QTL 的位置與效應幾乎一致。但在族群數為 300 的情況下，具有取樣數目的影響，所估計的 QTL 位置與效應比大族群變異性大。在族群數 300、加性效應 0.471、SDL 存活力為 0 的情況下兩個族群都只有偵測到一個 QTL。在族群數 300、加性效應 0.471 與 0.926、SDL 存活力為 0.1 的情況下在正常族群有偵測到兩個 QTL，但在次族群中只有偵測到一個 QTL，但在相同的加性效應與 SDL 存活力下，大族群在正常族群下所偵測到的 QTL 與次族群所偵測到的 QTL 數量、位置與加性效應都是一致的，因此推測是次族群受到 SDL 存活力與族群數目影響，使次族群的族群數目小，取樣誤差造成的結果。





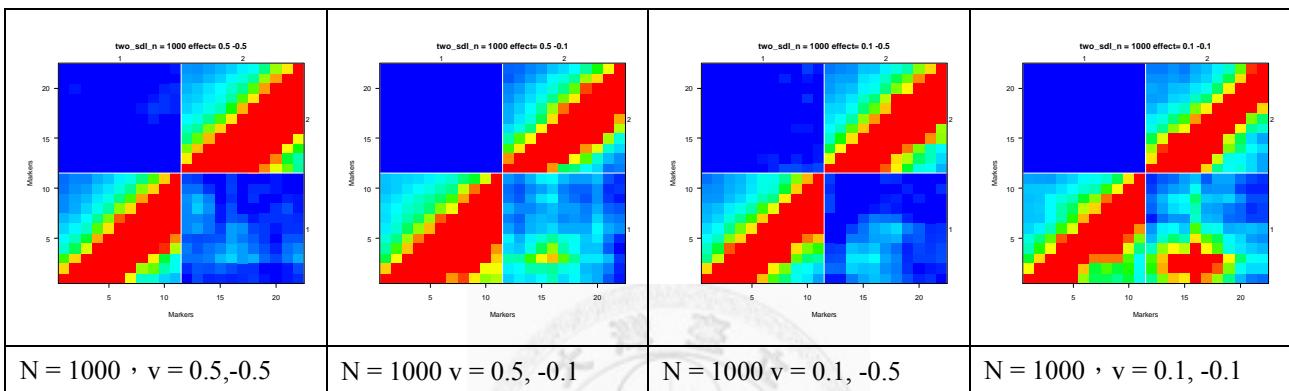
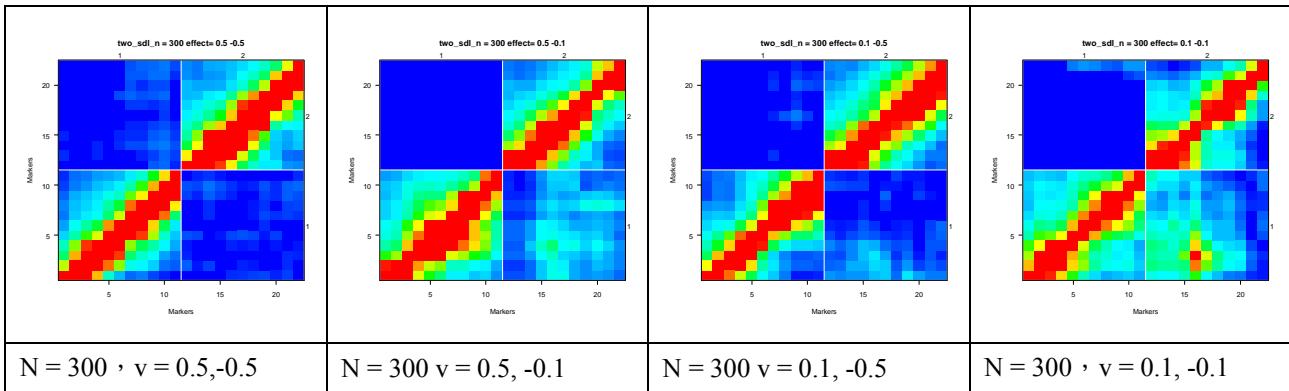
(a) 單一 SDL 之兩兩分子標誌重組率與 LOD 值圖



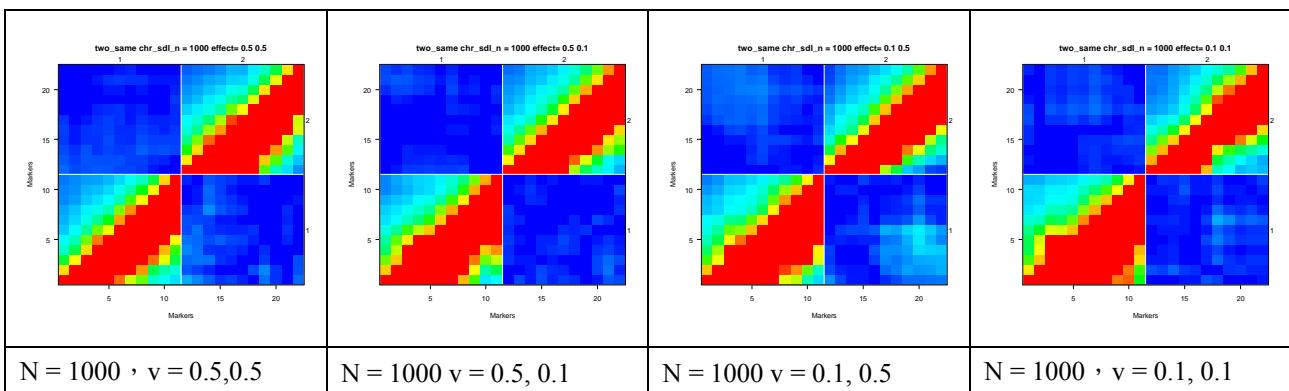
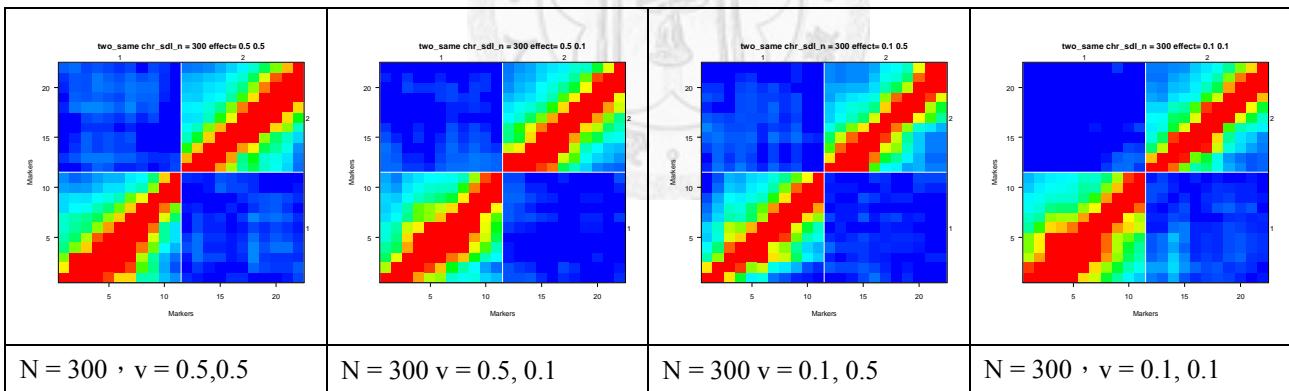
(b) 兩獨立 SDL 之兩兩分子標誌重組率與 LOD 值圖

圖六 模擬族群中次族群兩兩分子標誌重組率與 LOD 值圖。三角為分子標誌兩兩重組率；下三角為分子標誌 LOD 值，橫軸由左到右、縱軸由下到上標示 1 到 22 個分子標誌於 2 條染色體上的排序。以紅色代表重組率為 0 或 LOD 值大於等於 12；藍色代表重組率為 0.5 或 LOD 值為 0。圖為模擬 1 次的族群，並非模擬 1000 次的結果。

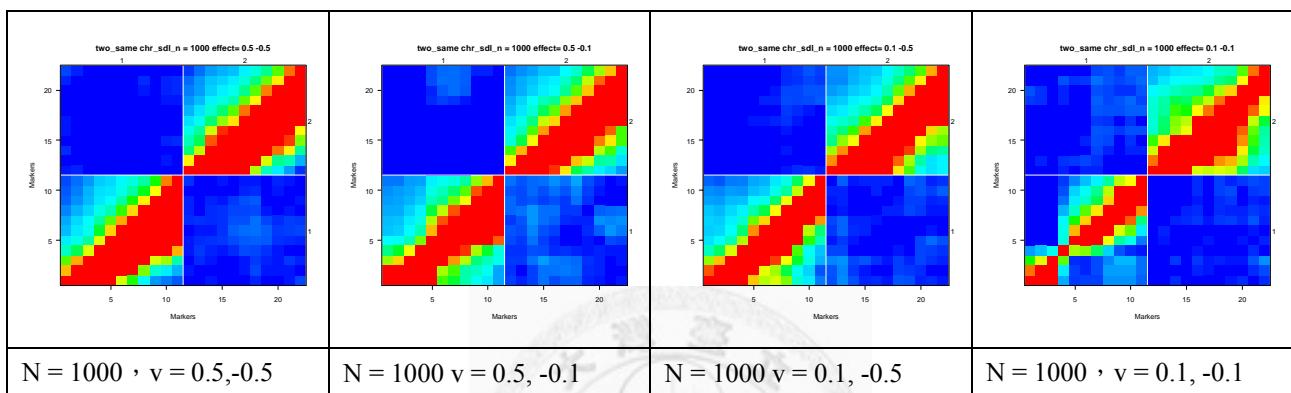
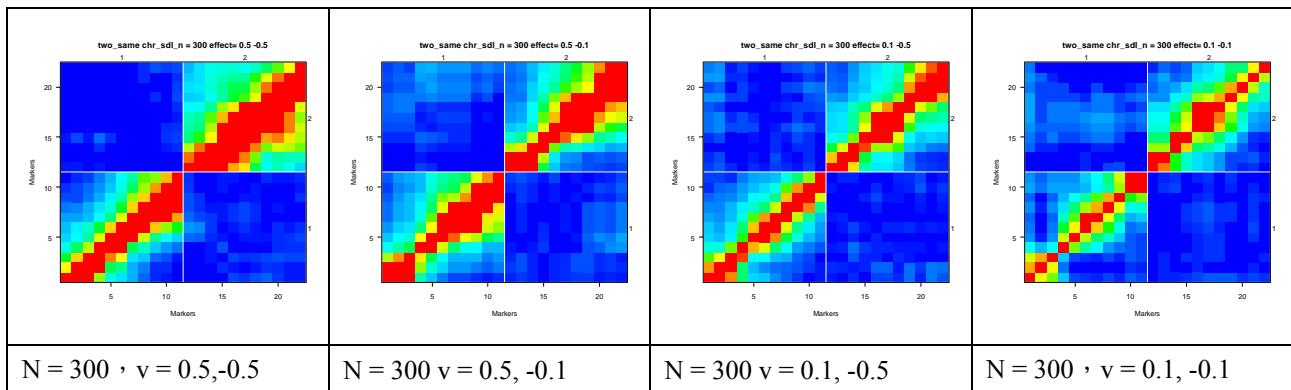
*註：N 為模擬族群設置的正常族群個體數，v 為模擬族群設置的 SDL 存活率，正負號代表 SDL 方向相同或相反



(b) (續上圖)

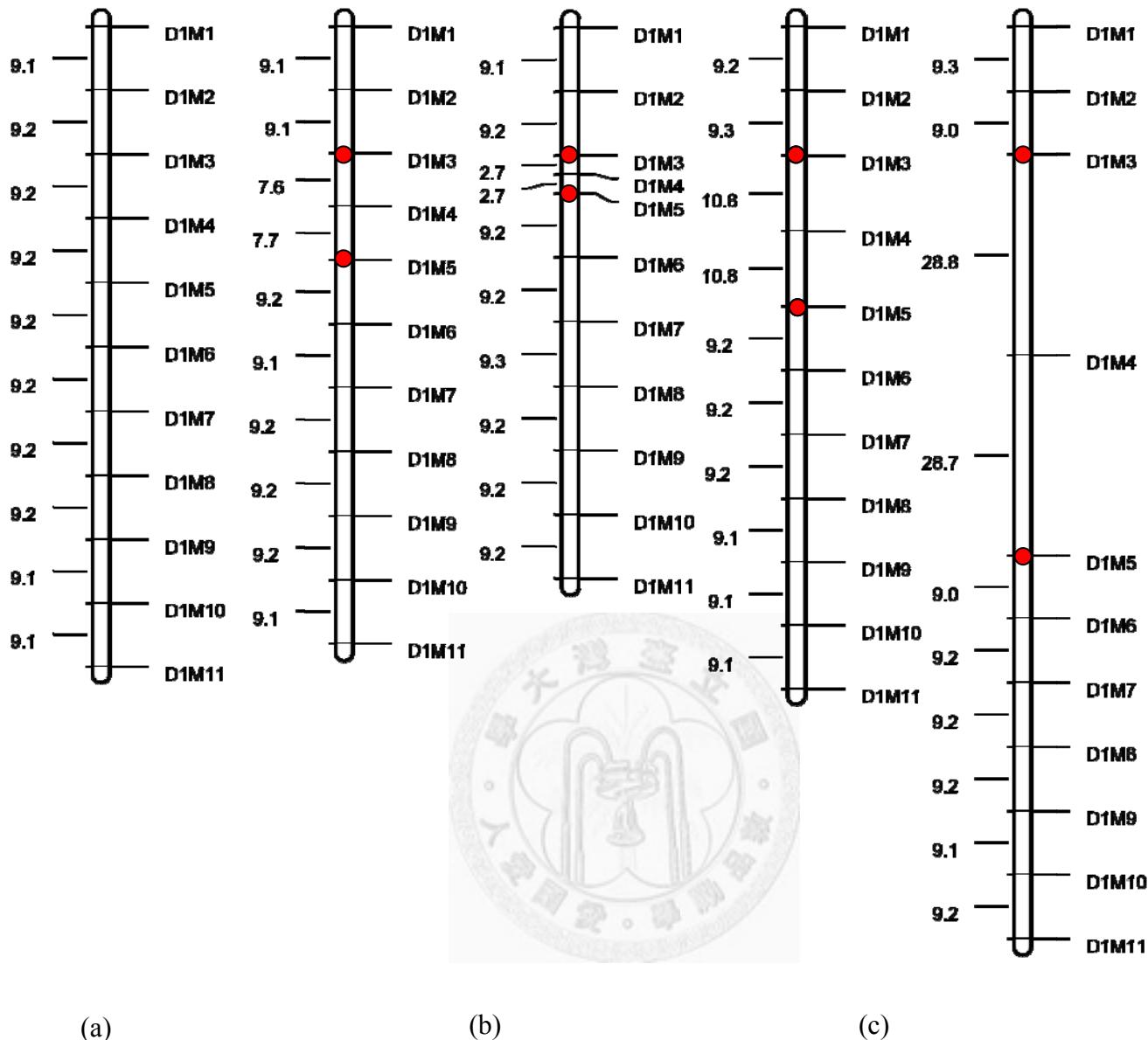


(c) 兩連鎖之 SDL 之兩兩分子標誌重組率與 LOD 值圖



(c) (續上圖)





圖七 模擬族群連鎖圖譜。族群大小為 300，同一條染色體上有 2 個 SDL，紅色點為設置 SDL 的位置。(a) 正常族群所做出的連鎖圖譜 (b) 兩 SDL 作用方向相同，左圖為兩 SDL 存活力皆為 0.5，右圖為兩 SDL 存活力皆為 0.1 (c) 兩 SDL 作用方向相反，左圖為兩 SDL 存活力皆為 0.5，右圖為兩 SDL 存活力皆為 0.1 所做出的連鎖圖譜。

表三 模擬族群存在兩連鎖 SDL 情況下正常族群與次族群的連鎖距離比較(待續)

N = 300 , SDL viability = 0.5, 0.5

interval	chromosome 1			chromosome 2		
	Normal	Sub-pop.	p value	Normal	Sub-pop.	p value
1	9.11±1.74	9.1±2.28	0.91	9.05±1.69	9.1±2.22	0.6
2	9.15±1.68	9.09±2.12	0.44	9.03±1.74	9.01±2.21	0.86
3	9.14±1.69	7.65±1.98	0	9.2±1.78	9.2±2.26	0.95
4	9.14±1.73	7.73±2.06	0	9.14±1.78	9.12±2.27	0.82
5	9.16±1.76	9.2±2.32	0.66	9.22±1.71	9.22±2.25	0.94
6	9.14±1.68	9.11±2.23	0.66	8.95±1.66	8.91±2.17	0.65
7	9.19±1.72	9.24±2.29	0.59	9.12±1.73	9.11±2.26	0.94
8	9.21±1.68	9.21±2.23	0.97	9.25±1.75	9.37±2.25	0.19
9	9.15±1.7	9.22±2.22	0.39	9.13±1.73	9.13±2.33	0.96
10	9.12±1.75	9.15±2.21	0.75	9.24±1.71	9.22±2.24	0.83

N = 300 , SDL viability = 0.5, 0.1

interval	chromosome 1			chromosome 2		
	Normal	Sub-pop.	p value	Normal	Sub-pop.	p value
1	9.13±1.68	9.1±2.5	0.8	9.21±1.71	9.18±2.47	0.72
2	9.15±1.72	9.2±2.42	0.59	9.09±1.76	9.04±2.51	0.61
3	9.1±1.69	5.94±2.07	0	9.19±1.66	9.18±2.36	0.91
4	9.17±1.71	5.98±1.98	0	9.13±1.71	9.18±2.47	0.59
5	9.14±1.69	9.21±2.46	0.48	9.13±1.74	9.12±2.38	0.92
6	9.15±1.73	9.16±2.51	0.89	9.21±1.83	9.1±2.49	0.27
7	9.18±1.74	9.22±2.41	0.63	9.13±1.69	9.18±2.39	0.56
8	9.21±1.72	9.27±2.5	0.5	9.2±1.73	9.15±2.55	0.64
9	9.25±1.7	9.22±2.44	0.8	9.14±1.7	9.07±2.38	0.46
10	9.13±1.75	9.16±2.43	0.79	9.18±1.7	9.14±2.5	0.69

(續上表)

N = 300 , SDL viability = 0.1, 0.5

interval	chromosome 1			chromosome 2		
	Normal	Sub-pop.	p value	Normal	Sub-pop.	p value
1	9.13±1.68	9.1±2.5	0.8	9.21±1.71	9.18±2.47	0.72
2	9.15±1.72	9.2±2.42	0.59	9.09±1.76	9.04±2.51	0.61
3	9.1±1.69	5.94±2.07	0	9.19±1.66	9.18±2.36	0.91
4	9.17±1.71	5.98±1.98	0	9.13±1.71	9.18±2.47	0.59
5	9.14±1.69	9.21±2.46	0.48	9.13±1.74	9.12±2.38	0.92
6	9.15±1.73	9.16±2.51	0.89	9.21±1.83	9.1±2.49	0.27
7	9.18±1.74	9.22±2.41	0.63	9.13±1.69	9.18±2.39	0.56
8	9.21±1.72	9.27±2.5	0.5	9.2±1.73	9.15±2.55	0.64
9	9.25±1.7	9.22±2.44	0.8	9.14±1.7	9.07±2.38	0.46
10	9.13±1.75	9.16±2.43	0.79	9.18±1.7	9.14±2.5	0.69

N = 300 , SDL viability = 0.1, 0.1

interval	chromosome 1			chromosome 2		
	Normal	Sub-pop.	p value	Normal	Sub-pop.	p value
1	9.09±1.64	9.12±2.58	0.76	9.19±1.72	9.26±2.64	0.5
2	9.2±1.73	9.19±2.62	0.9	9.18±1.79	9.17±2.8	0.97
3	9.18±1.68	2.7±1.5	0	9.18±1.67	9.16±2.66	0.84
4	9.19±1.75	2.72±1.53	0	9.03±1.67	9.02±2.58	0.97
5	9.19±1.78	9.2±2.62	0.92	9.15±1.74	9.31±2.63	0.11
6	9.19±1.74	9.19±2.7	0.99	9.11±1.71	9.08±2.6	0.71
7	9.21±1.74	9.31±2.67	0.35	9.2±1.69	9.16±2.56	0.74
8	9.17±1.84	9.19±2.68	0.84	9.07±1.68	9.08±2.7	0.92
9	9.14±1.75	9.22±2.63	0.44	9.14±1.7	9.06±2.62	0.4
10	9.1±1.65	9.2±2.61	0.29	9.08±1.78	9.14±2.68	0.54

(續上表)

N = 1000 , SDL viability = 0.5, 0.5

interval	chromosome 1			chromosome 2		
	Normal	Sub-pop.	p value	Normal	Sub-pop.	p value
1	9.16±0.93	9.15±1.21	0.85	9.15±0.94	9.19±1.19	0.42
2	9.16±0.97	9.14±1.24	0.72	9.13±0.98	9.09±1.23	0.45
3	9.19±0.98	7.75±1.17	0	9.15±0.95	9.15±1.26	0.92
4	9.12±0.98	7.69±1.17	0	9.13±0.96	9.14±1.22	0.9
5	9.19±0.96	9.19±1.23	0.94	9.14±0.97	9.16±1.21	0.67
6	9.16±0.96	9.18±1.26	0.71	9.15±0.97	9.15±1.26	1
7	9.13±0.95	9.14±1.22	0.92	9.15±0.95	9.16±1.18	0.88
8	9.16±0.96	9.12±1.25	0.39	9.18±0.95	9.16±1.24	0.75
9	9.16±0.93	9.16±1.27	0.97	9.16±0.96	9.16±1.23	0.92
10	9.15±0.97	9.16±1.22	0.85	9.15±0.92	9.15±1.19	0.97

N = 1000 , SDL viability = 0.5, 0.1

interval	chromosome 1			chromosome 2		
	Normal	Sub-pop.	p value	Normal	Sub-pop.	p value
1	9.2±0.92	9.21±1.28	0.94	9.13±0.95	9.15±1.35	0.73
2	9.16±0.94	9.15±1.36	0.83	9.16±0.9	9.15±1.31	0.9
3	9.17±0.91	5.92±1.07	0	9.14±0.9	9.15±1.33	0.82
4	9.2±0.94	5.98±1.05	0	9.18±0.96	9.17±1.34	0.96
5	9.22±0.97	9.18±1.34	0.48	9.15±0.95	9.19±1.36	0.48
6	9.16±0.96	9.19±1.37	0.54	9.17±0.96	9.18±1.37	0.82
7	9.18±0.96	9.22±1.4	0.44	9.13±0.94	9.16±1.39	0.54
8	9.16±0.92	9.17±1.37	0.85	9.13±0.93	9.12±1.32	0.94
9	9.13±0.94	9.12±1.32	0.75	9.17±0.89	9.15±1.36	0.72
10	9.16±0.9	9.16±1.31	1	9.17±0.94	9.18±1.33	0.74

(續上表)

N = 1000 , SDL viability = 0.1, 0.5

interval	chromosome 1			chromosome 2		
	Normal	Sub-pop.	p value	Normal	Sub-pop.	p value
1	9.15±0.87	9.14±1.31	0.78	9.22±0.96	9.22±1.38	0.97
2	9.15±0.92	9.14±1.31	0.8	9.15±0.95	9.11±1.34	0.5
3	9.21±0.94	6.01±1.09	0	9.14±0.91	9.17±1.32	0.6
4	9.17±0.92	5.95±1.1	0	9.13±0.93	9.16±1.36	0.58
5	9.18±0.94	9.17±1.33	0.88	9.2±0.97	9.18±1.4	0.66
6	9.13±0.95	9.19±1.35	0.26	9.13±0.96	9.14±1.31	0.9
7	9.16±0.91	9.11±1.3	0.39	9.11±0.93	9.16±1.34	0.39
8	9.12±0.94	9.12±1.35	0.89	9.17±0.94	9.12±1.31	0.31
9	9.15±0.93	9.13±1.37	0.69	9.16±0.94	9.22±1.33	0.21
10	9.16±0.97	9.18±1.32	0.72	9.13±0.96	9.11±1.37	0.71

N = 1000 , SDL viability = 0.1, 0.1

interval	chromosome 1			chromosome 2		
	Normal	Sub-pop.	p value	Normal	Sub-pop.	p value
1	9.14±0.94	9.09±1.43	0.3	9.13±0.93	9.17±1.45	0.46
2	9.11±0.97	9.1±1.45	0.86	9.19±0.93	9.19±1.41	0.93
3	9.18±0.93	2.75±0.8	0	9.12±0.95	9.12±1.47	0.97
4	9.15±0.94	2.71±0.8	0	9.15±0.94	9.21±1.4	0.22
5	9.12±0.95	9.2±1.45	0.14	9.2±0.93	9.15±1.36	0.4
6	9.16±0.97	9.16±1.44	0.94	9.16±0.94	9.17±1.42	0.85
7	9.16±0.94	9.21±1.46	0.35	9.18±0.9	9.24±1.42	0.25
8	9.16±0.92	9.17±1.4	0.78	9.15±0.93	9.19±1.42	0.54
9	9.18±0.94	9.19±1.38	0.81	9.18±0.93	9.13±1.45	0.35
10	9.12±0.95	9.11±1.42	0.96	9.13±0.92	9.11±1.39	0.75

(續上表)

N = 300 , SDL viability = 0.5, -0.5

interval	chromosome 1		p value	chromosome 2		p value
	Normal	Sub-pop.		Normal	Sub-pop.	
1	9.2±1.68	9.21±2.34	0.92	9.14±1.71	9.24±2.39	0.28
2	9.24±1.77	9.25±2.47	0.9	9.25±1.72	9.22±2.34	0.78
3	9.11±1.7	10.8±2.64	0	9.21±1.7	9.11±2.39	0.29
4	9.18±1.72	10.76±2.58	0	9.15±1.75	9.21±2.44	0.55
5	9.12±1.73	9.18±2.34	0.51	9.12±1.68	9.1±2.3	0.84
6	9.22±1.74	9.16±2.45	0.56	9.16±1.69	9.11±2.45	0.64
7	9.15±1.67	9.22±2.42	0.45	9.04±1.67	9.04±2.28	0.98
8	9.09±1.73	9.12±2.33	0.75	9.24±1.63	9.25±2.32	0.92
9	9.11±1.69	9.06±2.32	0.54	9.09±1.72	9.13±2.38	0.64
10	9.18±1.74	9.13±2.33	0.63	9.28±1.71	9.35±2.42	0.44

N = 300 , SDL viability = 0.5, -0.1

interval	chromosome 1		p value	chromosome 2		p value
	Normal	Sub-pop.		Normal	Sub-pop.	
1	9.24±1.78	9.28±3.02	0.7	9.16±1.68	9.13±2.96	0.79
2	9.15±1.73	9.12±2.91	0.78	9.13±1.71	9.32±3.01	0.09
3	9.12±1.77	13.88±3.8	0	9.15±1.73	9.22±3.09	0.5
4	9.05±1.64	13.89±3.6	0	9.17±1.72	9.26±2.96	0.44
5	9.17±1.73	9.24±3	0.5	9.19±1.74	9.16±2.93	0.8
6	9.1±1.79	9.29±3.09	0.09	9.18±1.62	9.08±2.94	0.33
7	9.11±1.7	9.05±2.96	0.55	9.13±1.69	9.15±2.94	0.85
8	9.04±1.73	9.09±2.99	0.64	9.11±1.67	9.11±2.86	0.99
9	9.22±1.67	9.33±2.93	0.29	9.16±1.71	9.13±3	0.83
10	9.22±1.71	9.2±2.98	0.91	9.21±1.69	9.24±3.05	0.81

(續上表)

N = 300 , SDL viability = 0.1, -0.5

interval	chromosome 1			chromosome 2		
	Normal	Sub-pop.	p value	Normal	Sub-pop.	p value
1	9.21±1.72	9.08±2.99	0.24	9.29±1.69	9.25±3.03	0.73
2	9.2±1.72	9.28±2.99	0.47	9.23±1.69	9.32±2.86	0.42
3	9.18±1.71	13.98±3.63	0	9.18±1.65	9.17±2.99	0.89
4	9.28±1.73	14.2±3.79	0	9.06±1.73	9.09±3.05	0.76
5	9.07±1.68	9.17±3.04	0.36	9.24±1.8	9.27±2.97	0.83
6	9.24±1.69	9.23±2.91	0.91	9.06±1.7	9.04±2.99	0.89
7	9.22±1.71	9.24±3.02	0.82	9.16±1.75	9.16±3.03	1
8	9.23±1.74	9.4±2.93	0.12	9.21±1.79	9.11±3.03	0.33
9	9.11±1.69	9.29±2.96	0.1	9.22±1.72	9.14±2.95	0.49
10	9.15±1.73	9.18±2.93	0.77	9.17±1.75	9.32±3.1	0.18

N = 300 , SDL viability = 0.1, -0.1

interval	chromosome 1			chromosome 2		
	Normal	Sub-pop.	p value	Normal	Sub-pop.	p value
1	9.19±1.71	9.25±4.25	0.68	9.11±1.72	9.13±4.35	0.86
2	9.11±1.65	9.03±4.26	0.58	9.19±1.74	9.26±4.33	0.66
3	9.17±1.73	28.85±9.19	0	9.19±1.69	9.31±4.32	0.44
4	9.14±1.68	28.72±9.39	0	9.19±1.73	9.24±4.53	0.72
5	9.16±1.7	8.97±4.05	0.17	9.19±1.69	9.18±4.2	0.91
6	9.05±1.72	9.2±4.32	0.31	9.11±1.79	9.16±4.39	0.72
7	9.12±1.67	9.18±4.24	0.64	9.11±1.77	9.14±4.28	0.82
8	9.18±1.69	9.22±4.24	0.82	9.22±1.8	8.98±4.26	0.1
9	9.07±1.68	9.11±4.28	0.84	9.08±1.71	9.15±4.33	0.65
10	9.17±1.7	9.23±4.51	0.71	9.2±1.69	9.31±4.42	0.44

(續上表)

N = 1000 , SDL viability = 0.5, -0.5

interval	chromosome 1			chromosome 2		
	Normal	Sub-pop.	p value	Normal	Sub-pop.	p value
1	9.14±0.93	9.13±1.29	0.81	9.13±0.93	9.15±1.3	0.69
2	9.19±0.93	9.15±1.27	0.42	9.16±0.96	9.16±1.33	0.97
3	9.14±0.92	10.82±1.37	0	9.17±0.92	9.18±1.24	0.81
4	9.18±0.94	10.92±1.42	0	9.16±0.88	9.16±1.27	0.95
5	9.16±0.95	9.16±1.29	0.99	9.12±0.93	9.15±1.33	0.61
6	9.15±0.92	9.1±1.29	0.38	9.22±0.96	9.23±1.28	0.79
7	9.1±0.95	9.08±1.33	0.67	9.18±0.92	9.23±1.3	0.3
8	9.16±0.94	9.17±1.27	0.97	9.12±0.97	9.1±1.39	0.76
9	9.12±0.96	9.16±1.32	0.38	9.17±0.98	9.17±1.33	0.99
10	9.16±0.95	9.09±1.28	0.17	9.18±0.96	9.25±1.36	0.21

N = 1000 , SDL viability = 0.5, -0.1

interval	chromosome 1			chromosome 2		
	Normal	Sub-pop.	p value	Normal	Sub-pop.	p value
1	9.13±0.93	9.13±1.55	0.97	9.16±0.92	9.16±1.59	0.96
2	9.12±0.93	9.05±1.59	0.24	9.17±0.97	9.16±1.65	0.91
3	9.14±0.96	13.92±2.09	0	9.15±0.94	9.18±1.57	0.64
4	9.14±0.95	13.9±2.04	0	9.1±0.95	9.03±1.62	0.26
5	9.13±0.92	9.09±1.54	0.53	9.16±0.95	9.16±1.59	0.93
6	9.13±0.97	9.15±1.62	0.76	9.12±0.92	9.11±1.61	0.89
7	9.2±0.94	9.15±1.62	0.42	9.16±0.93	9.12±1.67	0.56
8	9.13±0.94	9.15±1.61	0.69	9.16±0.93	9.25±1.7	0.17
9	9.16±0.94	9.2±1.65	0.43	9.14±0.98	9.08±1.61	0.37
10	9.18±0.93	9.19±1.6	0.84	9.2±0.94	9.17±1.58	0.65

(續上表)

N = 1000 , SDL viability = 0.1, -0.5

interval	chromosome 1		p value	chromosome 2		p value
	Normal	Sub-pop.		Normal	Sub-pop.	
1	9.09±0.92	9.13±1.68	0.5	9.13±0.93	9.14±1.57	0.82
2	9.19±0.94	9.24±1.64	0.4	9.13±0.93	9.09±1.63	0.51
3	9.13±0.93	13.92±2.02	0	9.17±0.94	9.16±1.66	0.82
4	9.14±0.95	13.96±2.04	0	9.18±0.9	9.13±1.6	0.41
5	9.17±0.91	9.22±1.61	0.45	9.15±0.95	9.19±1.63	0.45
6	9.16±0.94	9.21±1.65	0.4	9.16±0.95	9.12±1.58	0.47
7	9.18±0.92	9.13±1.65	0.38	9.16±0.96	9.18±1.61	0.75
8	9.19±0.96	9.21±1.69	0.71	9.17±0.94	9.13±1.58	0.44
9	9.17±0.95	9.13±1.65	0.48	9.12±0.93	9.22±1.59	0.08
10	9.15±0.96	9.26±1.64	0.08	9.14±0.92	9.23±1.66	0.16

N = 1000 , SDL viability = 0.1, -0.1

interval	chromosome 1		p value	chromosome 2		p value
	Normal	Sub-pop.		Normal	Sub-pop.	
1	9.21±0.97	9.2±2.36	0.94	9.1±0.98	9.05±2.23	0.54
2	9.16±0.95	9.33±2.39	0.04	9.19±0.93	9.23±2.4	0.67
3	9.15±0.95	28.28±4.63	0	9.13±0.96	9.14±2.33	0.9
4	9.18±0.92	28.29±4.54	0	9.08±0.93	9.01±2.35	0.33
5	9.11±0.92	9.17±2.27	0.47	9.15±0.96	9.24±2.32	0.29
6	9.16±0.95	9.06±2.38	0.23	9.21±0.93	9.26±2.3	0.51
7	9.11±0.94	9.09±2.19	0.87	9.17±0.96	9.29±2.3	0.12
8	9.14±0.93	9.19±2.35	0.54	9.16±0.95	9.1±2.28	0.5
9	9.18±0.95	9.25±2.32	0.37	9.15±0.95	9.11±2.34	0.68
10	9.18±0.96	9.16±2.27	0.81	9.16±0.92	9.31±2.29	0.05

表四 模擬族群使用 EM 演算法估計 SDL 的位置與效應

n	viability	Normal	Sub-pop.	t	p value
300	0.5	9.96±1.79	9.96±4.74	0.48±0.07	0.993
	0.1	9.95±1.80	10.06±2.60	0.09±0.03	0.302
1000	0.5	10.00±1.00	10.03±1.96	0.49±0.04	0.613
	0.1	9.99±0.98	10.03±1.39	0.097±0.01	0.406

*註：前面兩個欄位為模擬族群時所設定的參數條件，第3、4個欄位分別為正常族群中設定SDL位置的分子標誌與標的分子標誌的連鎖距離、次族群中所估計的SDL位置與標的分子標誌的連鎖距離(cM)，p value列於最後一欄。t為EM演所法估計的SDL存活力大小。



表五 模擬族群 QTL 偵測結果

			Normal	Sub-pop.		
n	a	sdl viability	QTL position	a	QTL position	a
300	0.471	0.1	1@38.0	0.43	2@24.0	0.61
			2@26.0	0.50		
300	0.471	0.5	1@13.0	0.38	1@14.0	0.47
300	0.707	0.1	1@34.0	0.73	1@32.0	0.64
			2@22.0	0.80	2@21.0	0.83
300	0.707	0.5	1@21.0	0.82	1@24.0	0.78
			2@22.0	0.67	2@23.0	0.79
300	0.926	0.1	1@28.0	0.82	2@20.0	0.85
			2@23.0	0.94		
300	0.926	0.5	1@27.0	0.98	1@23.0	0.97
			2@27.0	0.92	2@28.0	0.92
1000	0.471	0.1	1@29.0	0.49	1@31.0	0.56
			2@27.0	0.55	2@23.0	0.57
1000	0.471	0.5	1@21.0	0.44	1@20.0	0.44
			2@27.0	0.56	2@30.0	0.50
1000	0.707	0.1	1@25.0	0.75	1@23.0	0.86
			2@23.0	0.70	2@23.0	0.70
1000	0.707	0.5	1@23.0	0.72	1@24.0	0.82
			2@24.0	0.80	2@23.0	0.78
1000	0.926	0.1	1@26.0	0.89	1@27.0	0.83
			2@26.0	1.04	2@29.0	1.04
1000	0.926	0.5	1@24.0	0.91	1@24.0	0.93
			2@23.0	0.88	2@24.0	0.87

*註：前三個欄位為模擬所設置的參數條件，後面四個欄位為 QTL 偵測的結果，QTL 的位置表示為：QTL 位於的染色體@QTL 被偵測在染色體上的位置 (cM)。

伍、討論

一、不平衡分離的現象

根據基因型定型分析與利用最大概度法定為 SDL 的結果顯示，在 F_1 作為父本的回交族群中，於第 3、6 條染色體有發生嚴重的不平衡分離；在 F_1 作為母本的回交族群中，於第 6 條染色體有發生不平衡分離。 F_2 族群的基因頻度也受到配子型效應的影響。

在 4 個回交族群的卡方適合度檢定結果顯示（表一）若不同族群在同一分子標誌檢定為顯著時，除了第 12 條染色體的 RD1201 在不同族群有偏向不同對偶基因外，其他分子標誌的偏離方向都是一致的，即都是偏向私型對偶基因或都是偏向梗型對偶基因，也可顯示配子型的效應在這些回交族群中的影響比合子型效應來的大。

在 SF 與 KF 回交族群中，族群數皆未超過 100，兩者皆是以 F_1 做為父本的回交族群，推測可能是受到雄配子型不平衡分離基因的影響，可能影響花粉的活性或花粉的親和力，導致回交成功的植株數少，但 F_1 花粉染色的結果並未發現有花粉不稔的現象，未來可再進一步研究是什麼原因造成這些配子型的不平衡分離。

在定位 SDL 時，由於不同族群族群大小不同，不同族群所定位到的 SDL 位置不同，效應也不同，但定位到的區間相同，效應大小也接近，因此還是可以相信不同族群所定位到相同分子標誌區間的 SDL 是同一個 SDL。

在 KF 與 F_2 族群的第七條染色體 RD0702 - RD0704 有發生不平衡分離，偏向梗稻同質結合型，但用最大概度法估計 KF 族群的 SDL 時並未達顯著水準，但與其他三個族群不同的是，兩個族群的細胞質皆為 TK2 的細胞質，不排除有核質交互的作用存在，須再做進一步確認。

在 FS 族群中，第 11 條染色體的 RD1101-RD1102 間有定位到一個 SDL，但這個 SDL 只有在 FS 族群被定位到，且其他族群在第 11 條染色體也沒有不平衡分離的現象，因此可能是特殊雜交組合下才表現的 SDL，或是其他非生物原因所造成

的，須再做進一步確認。

可透過其他外表型的觀測或顯微鏡的觀測其減數分裂的過程來確認不平衡分離發生的原因。花粉利用碘染測定充實率只是其中一種檢測花粉的方法，澱粉充實率高的花粉不一定具有活性，檢測花粉活性的方式利用 TTC (2,3,5-triphenyltetrazolium chloride, TTC) 測定法，或螢光染色反應法 (fluorochrome reaction) 檢測花粉的活性。TTC 是一種氧化還原劑，滲入細胞後可被呼吸酶 (respiratory enzyme) 還原，由無色的氧化態變成紅色的還原態 (Shivanna *et al.*, 1991)。螢光染色反應法原理是利用螢光染劑本身螢光且無極性，可自由的通過完整的原生質膜，當螢光染劑進入有活力的細胞後，發生酯酶作用 (esterase reaction) 而產生螢光 (Song *et al.*, 2002)。另一方面，也可檢測花粉的萌發情形，可分為植物體內萌發與離體培養基萌發，植物體內萌發是花粉在柱頭上的萌發率判定其活性，也可觀察花粉的萌發與否是否與柱頭有關 (style-dependent)。雌配子的育性可透過稔實率來觀察，發育不完全的雌配子則無法完成授精作用或產生種子，會使稔實率下降。另一方面，也可利用組織透明法 (Young *et al.*, 1979) 或石蠟組織切片 (paraffin section) (Zhi Xing *et al.*, 2001) 觀察胚囊發育的過程。

雌配子效應的SDL被定位在第6條染色體RD0603 – RD0605之間，其分子標誌位在物理圖譜的位置為4.36 – 7.27 Mb，其區間可能包含雜交不稔基因，*S5*。*S5*基因因為導致雌配子敗育的雜交不稔基因，帶有*S5*廣親和對偶基因的品種 (*S5ⁿ*) 可與籼稻或梗稻雜交，產生正常的稔實率；籼梗稻分別帶有*S5ⁱ*、*S5^j*雜交產生的F₁只有部分稔性，即基因型為*S5ⁿS5ⁱ*、*S5ⁿS5^j*的植株具有正常稔性，基因型為*S5ⁱS5^j*的植株只有部分稔性。Qiu (2005) 等人利用廣親和品種02428、籼稻品種Nanjing11、梗稻品種Balilla進行三向雜交 (three-way cross)，其譜系為02428/Nanjing11//Balilla，將*S5*基因區間定位在40 kb範圍內。Chen等人 (2008) 進一步選殖*S5*基因，研究指出，*S5*基因編碼天門冬氨酸蛋白水解酶 (aspartic proteases, APs)，*S5*基因在籼梗稻中僅有兩個鹼基的差別，可導致相對應的兩個胺基酸的替換，可能就是造成雜種

不育的原因。廣親和品種帶有的S5ⁿ對偶基因則在N末端有一大片段序列的缺失，可能導致其功能的缺失，故可與秈稻或梗稻雜交，不影響稔性。本實驗中的雌配子效應是否就是S5基因所影響仍待進一步確認。

已被選殖的另一個雜交不稔基因，*Sa*，是導致花粉不稔的基因 (Long *et al.*, 2008)，但其位於第1條染色體，所以應不是導致本實驗雄配子效應SDL的候選基因，且本實驗花粉充實率的結果也顯示花粉並沒有未充實的問題。雄配子效應的SDL被定位在第3條染色體RD0306 – RD0307之間，其分子標誌位在物理圖譜的位置為12.55 – 15.52 Mb。第3條染色體的雄配子SDL的區間中，可能包含配子體基因，*ga2* (Nakagahra, 1972)。Matsushita與Yamagishi等學者 (Matsushita *et al.*, 2003; Yamagishi *et al.*, 1996; Yamagishi *et al.*, 1998) 建立梗稻Nipponbare與秈稻Milyang23為親本的F₁與F₂族群，發現第3條色體的C1488 – R2170區域中可能帶有*ga2*基因，且F₂族群有發生不平衡分離的現象。另一方面也建立以Milyang23為背景在第3條染色體帶有Nipponbare片段的NIL，NIL與Milyang23為親本雜交產生F₁與F₂族群，F₂族群有發生不平衡分離的現象。由這些族群分析的結果發現*ga2*並不會降低F₁花粉或種子的稔實率 (fertility)，但F₂族群有發生不平衡分離的現象，因此推測*ga2*基因是否就是本實驗的雄配子效應的SDL須進一步研究。

第6條染色體RD0612上也定位到雄配子效應的SDL，其分子標誌位在物理圖譜的位置為29.89 Mb，但在此位置上並未發現有相關的配子體基因存在，值得進一步研究。

二、不平衡分離的影響

根據模擬的結果顯示，在同一條染色體上有兩個 SDL 存在也作用方向相同時會使得兩 SDL 間的連鎖距離縮短，在本實驗中以 F_1 做為父本的回交族群在第 3、6 條染色體中皆為偏向私型對偶基因，由比較不同族群遺傳圖譜的結果，在以 F_1 做為父本的回交族群中發生不平衡分離的區域的染色體長度並未明顯的縮短，因此推測一條染色體中最多只有一個 SDL 存在，因此利用 Chen 等人 (1996, 1998) 所發展的最大概度法可準確估計 SDL 的位置與效應。 F_2 族群在第 6 條染色體中存在 2 個 SDL，但兩 SDL 距離遠 (>50 cM)，因此可視為兩個獨立的 SDL，並不會影響連鎖距離的估計。QTL 的偵測在單一 SDL 的情況下也不會受到影響。

SF、KF 與 F_2 族群中，第 3 條染色體與第 6 條染色體呈現重組率小於 0.5 的連鎖關係，這是由於這些族群在第 3、6 條染色體有顯著的不平衡分離，因此影響兩兩分子標誌的重組率與 LOD 值的計算。在其他族群中並沒有發現不同染色體上的分子標誌間有連鎖關係，即無交感現象。

由一條染色體只有單一 SDL 並不會影響重組率的結果來推論，SDL 並不影響染色體重組的次數的估計值，使染色體重組次數增加或減少，因此，一條染色體有兩個 SDL 且方向相同時造成連鎖距離縮短是因為兩 SDL 間的分子標誌會偏向同一種基因型，不同基因型的分子標誌少，因此估計的重組率就會變低，而並非真正染色體的重組次數減少。同樣的，一條染色體有兩個 SDL 且方向相反時造成連鎖距離增加是因為兩 SDL 間的分子標誌會呈現不同種基因型，不同基因型的分子標誌多，因此估計重組率就會變高，而並非真正染色體的重組次數增加。

不同染色體上存在有 SDL，若兩 SDL 作用方向相同，則可能會被認為有連鎖關係；兩 SDL 作用方向相反，則不會被認為有連鎖關係。同一條染色體上存在有兩個 SDL，若兩 SDL 作用方向相同，使連鎖距離縮短，但不影響分子標誌的順序。若兩 SDL 距離接近時，基因頻度的表現可能因 SDL 作用方向相同而呈現只有一個偏離的高峰存在，容易被誤判為只有單一 SDL 的存在。若兩 SDL 作用方向相反，

則會使連鎖距離增加，也可能會影響分子標誌的順序，若兩 SDL 距離接近時，基因頻度的表現可能因 SDL 作用方向相反而兩 SDL 作用互相抵銷，容易偵測不到 SDL 的存在。至於如何判定一條染色體中 SDL 的數量的問題，可利用 Vogl 與 Xu (2000) 發展的貝氏法 (Bayesian) 來估計，將 SDL 的數量當作未知數來計算。

雖然不平衡分離可能會影響兩兩分子標誌重組率的估計，在不同連鎖群中的分子標誌可能會被認為有連鎖的關係，但這對於已知連鎖群與分子標誌資訊的作物如水稻影響不大，除非是發生染色體結構上的變異如倒置 (inversion)、易位 (translocation) 等，否則可透過已知的分子標誌在物理圖譜上的位置確認分子標誌的連鎖群與順序。對於序列資料未知的作物則可藉由前人所建立的連鎖圖譜作為參考，檢視分子標誌的連鎖群或順序是否正確。另一方面，也可利用螢光原位雜交技術 (fluorescent *in situ* hybridization, FISH) 建立細胞學圖譜 (cytological maps)，確認分子標誌的連鎖群與順序 (Fuchs *et al.*, 1998)。

就育種的角度而言，族群中發生不平衡分離的區域若與目標基因連鎖且偏好有利的基因型時，其基因頻度增加，可增加選拔的效果。另一方面，在建立回交族群時，不平衡分離也可能會影響回交族群輪迴親背景的比例，影響回交的世代數。

在檢測兩兩分子標誌是否連鎖時，除了使用 LOD 值檢定外，也可利用 $1:1:1:1$ 的卡方適合度檢定，但前提是檢測的兩個分子標誌至少要有一個分子標誌在檢測單一分子標誌分離比時符合期望的分離比，若兩個分子標誌都偏離了期望的分離比，則 $1:1:1:1$ 的卡方適合度檢定並不具任何意義。

卡方適合度檢定可以檢測基因的頻度是否偏離了期望的分離比，利用最大概度法可以將 SDL 的位置定位出，許多學者也提出了其他統計模式試圖偵測 SDL 的位置與效應並重建連鎖圖譜，未來也可應用在解決不平衡分離問題上。目前在建立圖譜或分析 QTL 的軟體中，MapManager (QTX for Windows, Manly *et al.*, 2001) 等軟體可計算不平衡分離時的重組率。Zhu 等人 (2007b) 發展多點方法重建連鎖

圖譜，並且比較了新的重建連鎖圖譜的方法與使用 MapManager 與 Mapmaker (Lander *et al.*, 1987) 程式在存在兩個連鎖的 SDL 時的估計結果，結果發現，MapManager 與 Mapmaker 所估計的重組率會有偏估的情形，但 Zhu 等人的方法並不會有偏估的情形，顯示重建過的連鎖圖譜更適用於 QTL 或 SDL 的分析，但尚未發展成公開的軟體供他人分析、使用。

除了不平衡分離的原因會影響遺傳圖譜的建構外，基因型定型的錯誤與缺值也會影響。Hackett 與 Broadfoot (2003) 研究發現基因型定型的錯誤與缺值影響分子標誌的排序，在分子標誌區間為 2 cM 時，資料有 10% 的缺值有可能造成分子標誌排序上的錯誤，但不會影響遺傳圖譜的長度；資料有 1% 的錯誤時，有可能造成分子標誌排序上的錯誤，也會影響遺傳圖譜的長度，會使遺傳圖譜的長度增加。



陸、結論

由最大概度法檢測回交族群的基因頻度結果顯示，存在有 4 個 SDL，位於第 3、6、11 條染色體上，其中第 3、6 條染色體上的 3 個 SDL 由配子型效應所影響，雌配子效應的 SDL 位於第 6 條染色體 RD0603 - RD0605 間，雄配子效應的 SDL 位於第 3 條染色體 RD0306 – RD0307 間，與第 6 條染色體 RD0612 上。第 11 條染色體上的 SDL 僅在 FS 回交族群偵測到，位於 RD1101 – RD1102 間。定位到的 4 個 SDL 皆偏向私型對偶基因。 F_2 族群基因型頻度的表現也符合受到配子型不平衡基因影響的結果。

透過模擬族群的結果顯示，在一條染色體中存在有 1 個 SDL 或 2 個 SDL 獨立在不同染色體中時並不影響連鎖距離，也不會影響 QTL 的偵測。只有在同一條染色體中存在有 2 個 SDL 時會對連鎖圖譜造成影響，2 個 SDL 作用方向相同時會造成連鎖距離的縮短；相反的，2 個 SDL 作用方向相反時會造成連鎖距離的增加。



柒、參考文獻

- 王群山 (2010) 控制水稻穀粒長、穀粒寬、抽穗期、株高與穗長之數量性狀基因座的遺傳定位。國立台灣大學農藝所碩士論文
- 吳心平 (2008) 私梗稻雜交 BC1F1 族群之不平衡分離。國立台灣大學農藝所碩士論文
- 徐雲碧、申宗壇、陳英與朱立煌 (1995) 水稻私梗雜種 F2 群體中 RFLP 標記的異常分離及其染色體分布。植物學報 37: 91-96
- 黃惠娟、曾清山、謝兆樞與林順福 (2003) 穗型稻雜交 F₂ 族群分子標誌偏差分離現象之探討。中華農藝 13: 241-251
- 楊弘遠 (2005) 水稻生殖生物學。浙江大學出版社。
- 劉永勝、朱立煌、孫敬三、何平、王玉忠與沈利爽 (1997) 水稻私梗雜種生殖障礙的基因定位分析。植物學報 39:1099-1104.
- 劉向東、徐雪賓、盧永根與徐是雄 (1997) 水稻胚囊形成過程與分期。中國水稻科學 11:141-150.
- Bailey, N. 1949. The estimation of linkage with differential viability. Heredity 3:220-225.
- Broman, K., H. Wu, S. Sen, and G. Churchill. 2003. R/qtl: QTL mapping in experimental crosses. Bioinformatics 19:889.
- Chen, J.J., J.H. Ding, Y.D. Ouyang, H.Y. Du, J.Y. Yang, K. Cheng, J. Zhao, S.Q. Qiu, X.L. Zhang, J.L. Yao, K.D. Liu, L. Wang, C.G. Xu, X.H. Li, Y.B. Xue, M. Xia, Q. Ji, J.F. Lu, M.L. Xu, and Q.F. Zhang. 2008. A triallelic system of S5 is a major regulator of the reproductive barrier and compatibility of indica-japonica hybrids in rice. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 105:11436-11441.
- Cheng, R., A. Kleinhofs, and Y. Ukai. 1998. Method for mapping a partial lethal-factor locus on a molecular-marker linkage map of a backcross and doubled-haploid population. Thero. Appl. Genet. 97:293-298.
- Cheng, R., A. Saito, Y. Takano, and Y. Ukai. 1996. Estimation of the position and effect of a lethal factor locus on a molecular marker linkage map. Thero. Appl. Genet. 93:494-502.
- Dempster, A., N. Laird, and D. Rubin. 1977. Maximum likelihood from incomplete data via the EM algorithm. J. Roy. Stat. Soc. Ser. B. 39:1-38.
- Diaz, A., and M.R. Macnair. 1999. Pollen tube competition as a mechanism of prezygotic reproductive isolation between *Mimulus nasutus* and its presumed progenitor *M-guttatus*. New Phytol. 144:471-478.
- Doyle, J., and J. Doyle. 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. Focus 12:13-15.
- Faris, J.D., B. Laddomada, and B.S. Gill. 1998. Molecular mapping of segregation distortion loci in *Aegilops tauschii*. Genetics 149:319-27.

- Fishman, L., and J.H. Willis. 2005. A novel meiotic drive locus almost completely distorts segregation in *Mimulus* (monkeyflower) hybrids. *Genetics* 169:347-353.
- Fishman, L., and A. Saunders. 2008a. Centromere-associated female meiotic drive entails male fitness costs in monkeyflowers. *Science* 322:1559-1562.
- Fishman, L., J. Aagaard, and J. Tuthill. 2008b. Toward the evolutionary genomics of gametophytic divergence: patterns of transmission ratio distortion in monkeyflower (*Mimulus*) hybrids reveal a complex genetic basis for conspecific pollen precedence. *Evolution* 62:2958-2970.
- Fishman, L., A.J. Kelly, E. Morgan, and J.H. Willis. 2001. A genetic map in the *Mimulus guttatus* species complex reveals transmission ratio distortion due to heterospecific interactions. *Genetics* 159:1701-1716.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2007. FAOSTAT: FAO Statistical Database. <http://faostat.fao.org/>
- Fu, Y.B., and K. Ritland. 1994. Evidence for the partial dominance of viability genes contributing to inbreeding depression in *Mimulus guttatus*. *Genetics* 136:323-31.
- Fuchs, J., M. Kuhne, and I. Schubert. 1998. Assignment of linkage groups to pea chromosomes after karyotyping and gene mapping by fluorescent in situ hybridization. *Chromosoma* 107:272-276.
- Garris, A.J., T.H. Tai, J. Coburn, S. Kresovich, and S. McCouch. 2005. Genetic structure and diversity in *Oryza sativa* L. *Genetics* 169:1631-1638.
- Hackett, C.A., and L.B. Broadfoot. 2003. Effects of genotyping errors, missing values and segregation distortion in molecular marker data on the construction of linkage maps. *Heredity* 90:33-38.
- Hall, M.C., and J.H. Willis. 2005. Transmission ratio distortion in intraspecific hybrids of *Mimulus guttatus*: implications for genomic divergence. *Genetics* 170:375-86.
- Harushima, Y., M. Nakagahra, M. Yano, T. Sasaki, and N. Kurata. 2001. A genome-wide survey of reproductive barriers in an intraspecific hybrid. *Genetics* 159:883-92.
- Harushima, Y., N. Kurata, M. Yano, Y. Nagamura, T. Sasaki, Y. Minobe, and M. Nakagahra. 1996. Detection of segregation distortions in an indica-japonica rice cross using a high-resolution molecular map. *Thero. Appl. Genet.* 92:145-150.
- Hedrick, P.W., and O. Muona. 1990. Linkage of viability genes to marker loci in selfing organisms. *Heredity* 64:67-72.
- Herrero, M., and H. Dickinson. 1979. Pollen-pistil incompatibility in *Petunia hybrida*: changes in the pistil following compatible and incompatible intraspecific crosses. *J. Cell Sci.* 36:1.
- Howard, D.J. 1999. Conspecific sperm and pollen precedence and speciation. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 30:109-132.
- Jiang, W.Z., S.H. Chu, R.H. Piao, J.H. Chin, Y.M. Jin, J. Lee, Y.L. Qiao, L. Han, Z.Z.

- Piao, and H.J. Koh. 2008. Fine mapping and candidate gene analysis of hwh1 and hwh2, a set of complementary genes controlling hybrid breakdown in rice. *Thero. Appl. Genet.* 116:1117-1127.
- Kao, C., Z. Zeng, and R. Teasdale. 1999. Multiple interval mapping for quantitative trait loci. *Genetics* 152:1203.
- Kosambi, D.D. 1943. The estimation of map distances from recombination values. *Ann. Eugen.* 12:172-175.
- Kumar, S., B.S. Gill, and J.D. Faris. 2007. Identification and characterization of segregation distortion loci along chromosome 5B in tetraploid wheat. *Mol. Genet. Genomics* 278:187-96.
- Lander, E., P. Green, J. Abrahamson, A. Barlow, M. Daly, S. Lincoln, and L. Newburg. 1987. MAPMAKER: an interactive computer package for constructing primary genetic linkage maps of experimental and natural populations. *Genomics* 1:174-181.
- Li, J., P. Xu, X.N. Deng, J.W. Zhou, F.Y. Hu, J.M. Wan, and D.Y. Tao. 2008. Identification of four genes for stable hybrid sterility and an epistatic QTL from a cross between *Oryza sativa* and *Oryza glaberrima*. *Euphytica* 164:699-708.
- Li, W., Z. Lin, and X. Zhang. 2007. A novel segregation distortion in intraspecific population of Asian cotton (*Gossypium arboreum* L.) detected by molecular markers. *J. Genet. Genomics* 34:634-40.
- Liu, H.Y., C.G. Xu, and Q.F. Zhang. 2004. Male and female gamete abortions, and reduced affinity between the uniting gametes as the causes for sterility in an indica/japonica hybrid in rice. *Sex. Plant Reprod.* 17:55-62.
- Liu, R., and J. Meng. 2003. MapDraw: a Microsoft Excel macro for drawing genetic linkage maps based on given genetic linkage data. *Hereditas (Beijing)* 25:317-321.
- Long, Y.M., L.F. Zhao, B.X. Niu, J. Su, H. Wu, Y.L. Chen, Q.Y. Zhang, J.X. Guo, C.X. Zhuang, M.T. Mei, J.X. Xia, L. Wang, H.B. Wu, and Y.G. Liu. 2008. Hybrid male sterility in rice controlled by interaction between divergent alleles of two adjacent genes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 105:18871-18876.
- Lorieux, M., B. Goffinet, X. Pettier, D.G.d. León, and C. Lanaud. 1995a. Maximum-likelihood models for mapping genetic markers showing segregation distortion. 1. Backcross populations. *Thero. Appl. Genet.* 90.
- Lorieux, M., X. Perrier, B. Goffinet, C. Lanaud, and D.G.d. León. 1995b. Maximum-likelihood models for mapping genetic markers showing segregation distortion. 2, F₂ populations. *Thero. Appl. Genet.* 90:81-89.
- Lu, H., J. Romero-Severson, and R. Bernardo. 2002. Chromosomal regions associated with segregation distortion in maize. *Thero. Appl. Genet.* 105:622-628.

- Luo, L., Y.-M. Zhang, and S. Xu. 2005. A quantitative genetics model for viability selection. *Heredity* 94:347–355.
- Lyttle, T. 1991. Segregation distorters. *Annu. Rev. Genet.* 25:511-581.
- Lyttle, T.W. 1993. Cheaters sometimes prosper: distortion of mendelian segregation by meiotic drive. *Trends Genet.* 9:205-10.
- Manly, K., J. Cudmore, RH, and J. Meer. 2001. Map Manager QTX, cross-platform software for genetic mapping. *Mamm. Genome* 12:930-932.
- Matsubara, K., Khin-Thidar, and Y. Sano. 2003. A gene block causing cross-incompatibility hidden in wild and cultivated rice. *Genetics* 165:343-352.
- Matsushita, S., T. Iseki, Y. Fukuta, E. Araki, S. Kobayashi, M. Osaki, and M. Yamagishi. 2003. Characterization of segregation distortion on chromosome 3 induced in wide hybridization between indica and japonica type rice varieties. *Euphytica* 134:27-32.
- Moyle, L.C., and E.B. Graham. 2006. Genome-wide associations between hybrid sterility QTL and marker transmission ratio distortion. *Mol. Biol. Evol.* 23:973-980.
- Nakagahra, M. 1972. Genetic mechanism on the distorted segregation of marker genes belonging to the eleventh linkage group in cultivated rice. *Japan J. Breed* 22:232-238.
- Plomion, C., D. O'Malley, and C. Durel. 1995. Genomic analysis in maritime pine (*Pinus pinaster*). Comparison of two RAPD maps using selfed and open-pollinated seeds of the same individual. *Thero. Appl. Genet.* 90:1028-1034.
- Qiu, S., K. Liu, J. Jiang, X. Song, C. Xu, X. Li, and Q. Zhang. 2005. Delimitation of the rice wide compatibility gene S5 n to a 40-kb DNA fragment. *Thero. Appl. Genet.* 111:1080-1086.
- Quillet, M.C., N. Madjidian, Y. Griveau, H. Serieys, M. Tersac, M. Lorieux, and A. Berville. 1995. Mapping genetic factors controlling pollen viability in an interspecific cross in *Helianthus* sect *Helianthus*. *Thero Apple Genet* 91:1195-1202.
- Rick, C. 1966. Abortion of male and female gametes in the tomato determined by allelic interaction. *Genetics* 53:85.
- Shivanna, K., H. Linskens, and M. Cresti. 1991. Pollen viability and pollen vigor. *Thero. Appl. Genet.* 81:38-42.
- Song, Z., B. Lu, Y. Zhu, and J. Chen. 2002. Pollen competition between cultivated and wild rice species (*Oryza sativa* and *O. rufipogon*). *New Phytol.*:289-296.
- Törjék, O., H. Witucka-Wall, R.C. Meyer, M. von Korff, B. Kusterer, C. Rautengarten, and T. Altmann. 2006. Segregation distortion in *Arabidopsis* C24/Col-0 and Col-0/C24 recombinant inbred line populations is due to reduced fertility caused

- by epistatic interaction of two loci. *Thero. Appl. Genet.* 113:1551-61.
- Vogl, C., and S. Xu. 2000. Multipoint mapping of viability and segregation distorting loci using molecular markers. *Genetics* 155:1439-47.
- Wang, D., J. Shi, S. Carlson, P. Cregan, R. Ward, and B. Diers. 2003. A low-cost, high-throughput polyacrylamide gel electrophoresis system for genotyping with microsatellite DNA markers. *Crop Sci.* 43:1828.
- Xu, S., and Z. Hu. 2010. Mapping quantitative trait loci using distorted markers. *Int. J. Plant Genomics* 2009.
- Xu, S.Z. 2008. Quantitative trait locus mapping can benefit from segregation distortion. *Genetics* 180:2201-2208.
- Yamagishi, M., M. Yano, Y. Fukuta, K. Fukui, M. Otani, and T. Shimada. 1996. Distorted segregation of RFLP markers in regenerated plants derived from anther culture of an F₁ hybrid of rice. *Genes Genet. Syst.* 71:37-41.
- Yamagishi, M., M. Otani, M. Higashi, Y. Fukuta, K. Fukui, and T. Shimada. 1998. Chromosomal regions controlling anther culturability in rice (*Oryza sativa L.*). *Euphytica* 103:227-234.
- Young, B., R. Sherwood, and E. Bashaw. 1979. Cleared-pistil and thick-sectioning techniques for detecting aposporous apomixis in grasses. *Can. J. Bot.* 57:1668-1672.
- Zeng, Y.X., C.Y. Hu, Y.G. Lu, J.Q. Li, and X.D. Liu. 2009. Abnormalities occurring during female gametophyte development result in the diversity of abnormal embryo sacs and leads to abnormal fertilization in indica/japonica hybrids in rice. *J. Plant Integr. Plant Biol.* 51:3-12.
- Zhao, B., Q.M. Deng, Q.J. Zhang, J.Q. Li, S.P. Ye, Y.S. Liang, Y. Peng, and P. Li. 2006. Analysis of segregation distortion of molecular markers in F₂ population of rice. *Yi Chuan Xue Bao* 33:449-57.
- Zhi Xing, Y., A. Guo Yong, and Z. Zhi Ping. 2001. Rice bicoid-related cDNA sequence and its expression during early embryogenesis. *Cell Res.* 11:74-80.
- Zhu, C.S., and Y.M. Zhang. 2007a. An EM algorithm for mapping segregation distortion loci. *BMC Genetics* 8:82-90.
- Zhu, C.S., C.M. Wang, and Y.M. Zhang. 2007b. Modeling segregation distortion for viability selection I. Reconstruction of linkage maps with distorted markers. *Thero. Appl. Genet.* 114:295-305.
- Zhu, C.S., F.H. Wang, J.F. Wang, G.J. Li, H.S. Zhang, and Y.M. Zhang. 2007c. Reconstruction of linkage maps in the distorted segregation populations of backcross, doubled haploid and recombinant inbred lines. *Chin. Sci. Bull.* 52:1648-1653.

附錄

一、模擬族群連鎖距離比較

(a) 存在單一 SDL 下

$n = 300$, SDL viability = 0.5

interval	chromosome 1			chromosome 2		
	Normal (cM)	Sub-pop. (cM)	p value	Normal (cM)	Sub-pop. (cM)	p value
1	9.93±1.77	9.9±2.06	0.73	9.93±1.74	9.89±2.04	0.62
2	10.08±1.81	10.09±2.13	0.88	10±1.72	9.98±1.99	0.82
3	9.92±1.83	9.93±2.17	0.94	10.02±1.82	10±2.06	0.81
4	9.96±1.8	10±2.1	0.69	9.92±1.85	9.88±2.11	0.68
5	9.94±1.78	9.97±2.11	0.72	10.06±1.72	10.09±2.01	0.70
6	10.04±1.9	9.98±2.16	0.50	10.16±1.83	10.18±2.07	0.82
7	10.01±1.8	10.04±2.1	0.72	9.95±1.7	9.97±1.99	0.81
8	9.97±1.78	9.99±2.06	0.82	9.93±1.78	9.86±2.02	0.40
9	10±1.84	10±2.16	0.93	10.04±1.7	10.05±2.01	0.82
10	9.89±1.71	9.97±2	0.36	9.97±1.79	9.99±2.08	0.81

$N = 300$, SDL viability = 0.1

interval	chromosome 1			chromosome 2		
	Normal	Sub-pop.	p value	Normal	Sub-pop.	p value
1	10.08±1.79	10.08±2.38	0.98	9.96±1.79	10.01±2.4	0.62
2	10.02±1.77	10.01±2.38	0.88	10.06±1.74	10.03±2.42	0.82
3	10.01±1.79	10±2.44	0.94	9.99±1.72	9.92±2.31	0.47
4	10.04±1.75	10.07±2.33	0.79	9.99±1.83	9.94±2.48	0.61
5	10.01±1.84	9.97±2.51	0.68	10±1.85	9.99±2.45	0.93
6	9.91±1.81	9.91±2.43	0.97	9.95±1.78	9.94±2.43	0.86
7	9.93±1.73	9.92±2.48	0.95	9.97±1.84	10.08±2.46	0.27
8	10.04±1.8	10.11±2.44	0.47	9.88±1.75	9.93±2.43	0.60
9	9.92±1.82	9.92±2.44	0.99	10.1±1.82	10.11±2.38	0.93
10	9.88±1.78	9.94±2.42	0.55	9.96±1.82	9.91±2.49	0.60

(a) (續上表)

N = 1000 , SDL viability = 0.5

interval	chromosome 1			chromosome 2		
	Normal	Sub-pop.	p value	Normal	Sub-pop.	p value
1	9.97±0.95	9.98±1.09	0.76	9.97±0.99	10±1.15	0.57
2	9.95±0.99	9.94±1.11	0.85	9.96±0.99	9.97±1.16	0.91
3	9.95±1.01	9.98±1.18	0.57	9.99±0.97	10.03±1.12	0.52
4	9.97±0.98	9.98±1.13	0.90	9.96±1	9.97±1.16	0.69
5	10.01±0.96	9.97±1.12	0.44	10±0.95	10.02±1.11	0.69
6	9.99±0.95	9.99±1.12	0.99	9.96±1	9.98±1.15	0.65
7	10.02±1	9.99±1.18	0.48	10.02±0.96	10.03±1.1	0.88
8	10±0.94	10.02±1.1	0.70	9.98±1.01	9.95±1.17	0.61
9	9.98±0.95	9.97±1.11	0.82	9.98±0.99	10.01±1.16	0.62
10	9.91±0.98	9.91±1.13	0.98	9.92±1	9.94±1.15	0.60

N = 1000 , SDL viability = 0.1

interval	chromosome 1			chromosome 2		
	Normal	Sub-pop.	p value	Normal	Sub-pop.	p value
1	9.99±0.99	9.98±1.37	0.86	9.96±0.97	9.96±1.32	0.96
2	9.94±0.97	9.92±1.3	0.74	10±0.98	10.01±1.32	0.83
3	10±0.97	10±1.33	0.87	10.03±0.97	10.07±1.29	0.48
4	9.93±0.95	9.88±1.29	0.30	9.98±0.99	9.99±1.32	0.81
5	9.92±0.95	9.89±1.26	0.53	10.04±0.95	10.08±1.29	0.48
6	9.97±0.98	9.97±1.36	0.96	10.02±0.97	10.04±1.32	0.73
7	10.02±0.98	10.01±1.34	0.85	9.93±0.95	9.95±1.29	0.66
8	9.99±0.95	10.05±1.26	0.17	10.01±0.99	10.01±1.35	1.00
9	9.95±1.01	9.93±1.33	0.59	10.03±1	10±1.33	0.56
10	10.02±1.01	10.05±1.32	0.63	10.04±0.96	10.05±1.34	0.74

(b) 存在兩獨立SDL

$N = 300$, SDL viability = 0.5, 0.5

interval	chromosome 1			chromosome 2		
	Normal	Sub-pop.	p value	Normal	Sub-pop.	p value
1	9.23±1.76	9.23±2.27	0.98	9.14±1.76	9.19±2.35	0.6
2	9.14±1.67	9.17±2.3	0.77	9.16±1.76	9.19±2.37	0.77
3	9.21±1.75	9.15±2.32	0.56	9.09±1.69	9.07±2.22	0.8
4	9.09±1.7	9.08±2.26	0.88	9.08±1.73	9.05±2.29	0.7
5	9.23±1.76	9.29±2.34	0.52	9.18±1.69	9.18±2.22	0.95
6	9.13±1.78	9.25±2.44	0.21	9.17±1.71	9.17±2.31	0.96
7	9.16±1.68	9.14±2.22	0.79	9.05±1.73	9.03±2.33	0.85
8	9.16±1.81	9.18±2.37	0.86	9.15±1.66	9.12±2.23	0.75
9	9.15±1.68	9.2±2.35	0.55	9.19±1.7	9.24±2.35	0.62
10	9.2±1.68	9.2±2.3	0.97	9.13±1.7	9.15±2.3	0.77

$N = 300$, SDL viability = 0.5, 0.1

interval	chromosome 1			chromosome 2		
	Normal	Sub-pop.	p value	Normal	Sub-pop.	p value
1	9.23±1.73	9.25±2.71	0.84	9.22±1.74	9.25±2.65	0.75
2	9.14±1.69	9.27±2.63	0.18	9.17±1.74	9.36±2.83	0.07
3	9.07±1.68	9.09±2.66	0.84	9.11±1.77	9.1±2.71	0.93
4	9.23±1.69	9.31±2.7	0.44	9.18±1.69	9.23±2.69	0.59
5	9.2±1.72	9.16±2.61	0.69	9.17±1.79	9.28±2.77	0.27
6	9.07±1.74	9.15±2.71	0.43	9.14±1.76	9.19±2.69	0.66
7	9.11±1.67	9.06±2.69	0.63	9.24±1.7	9.25±2.63	0.86
8	9.17±1.72	9.2±2.64	0.74	9.04±1.63	9.05±2.69	0.89
9	9.09±1.75	9.06±2.6	0.72	9.06±1.7	9.04±2.65	0.87
10	9.17±1.74	9.2±2.77	0.78	9.1±1.74	9.16±2.67	0.53

(b) (續上表)

N = 300 , SDL viability = 0.1, 0.5

interval	chromosome 1			chromosome 2		
	Normal	Sub-pop.	p value	Normal	Sub-pop.	p value
1	9.23±1.72	9.22±2.7	0.9	9.12±1.69	9.17±2.57	0.58
2	9.14±1.72	9.13±2.72	0.98	9.03±1.68	8.95±2.7	0.44
3	9.07±1.7	9.04±2.64	0.76	9.23±1.72	9.22±2.75	0.98
4	9.23±1.75	9.19±2.7	0.73	9.15±1.76	9.12±2.65	0.72
5	9.16±1.77	9.12±2.72	0.75	9.17±1.77	9.24±2.64	0.47
6	9.13±1.74	9.17±2.61	0.67	9.25±1.75	9.33±2.8	0.47
7	9.16±1.74	9.24±2.7	0.4	9.26±1.69	9.13±2.68	0.22
8	9.17±1.76	9.09±2.76	0.43	9.17±1.73	9.13±2.76	0.72
9	9.09±1.74	9.13±2.81	0.75	9.15±1.72	9.22±2.69	0.51
10	9.25±1.73	9.23±2.73	0.86	9.12±1.7	9.12±2.6	0.95

N = 300 , SDL viability = 0.1, 0.1

interval	chromosome 1			chromosome 2		
	Normal	Sub-pop.	p value	Normal	Sub-pop.	p value
1	9.29±1.72	9.43±3.13	0.23	9.17±1.69	9.21±3.1	0.75
2	9.08±1.67	9.18±3.19	0.42	9.23±1.72	9.33±3.2	0.39
3	9.2±1.71	9.1±3.05	0.36	9.12±1.7	9.17±3.16	0.67
4	9.15±1.74	9.12±3.21	0.74	9.21±1.73	9.16±3.28	0.66
5	9.17±1.73	9.17±3.12	0.98	9.14±1.73	9.06±3.2	0.5
6	9.23±1.76	9.21±3.1	0.89	9.17±1.73	9.16±3.26	0.94
7	9.27±1.71	9.45±3.18	0.11	9.11±1.73	9.2±3.12	0.42
8	9.13±1.77	9.31±3.3	0.15	9.25±1.71	9.19±3.12	0.61
9	9.03±1.72	8.97±3.13	0.62	9.16±1.78	9.15±3.12	0.93
10	9.15±1.7	9.17±3.25	0.82	9.2±1.69	9.2±3.08	0.95

(b) (續上表)

N = 1000 , SDL viability = 0.5, 0.5

interval	chromosome 1			chromosome 2		
	Normal	Sub-pop.	p value	Normal	Sub-pop.	p value
1	9.1±0.91	9.17±1.26	0.17	9.19±0.93	9.2±1.22	0.87
2	9.17±0.93	9.18±1.25	0.96	9.14±0.97	9.15±1.26	0.9
3	9.18±0.94	9.16±1.24	0.75	9.16±0.94	9.17±1.22	0.9
4	9.16±0.93	9.17±1.25	0.76	9.17±0.91	9.21±1.25	0.4
5	9.14±0.93	9.13±1.29	0.91	9.17±0.96	9.2±1.26	0.58
6	9.11±0.94	9.07±1.27	0.41	9.12±0.9	9.12±1.23	0.98
7	9.1±0.93	9.12±1.23	0.68	9.06±0.94	9.08±1.24	0.74
8	9.16±0.99	9.15±1.27	0.86	9.13±0.92	9.11±1.22	0.66
9	9.18±0.97	9.15±1.29	0.58	9.13±0.94	9.14±1.29	0.74
10	9.2±0.93	9.21±1.28	0.93	9.11±0.94	9.14±1.3	0.45

N = 1000 , SDL viability = 0.5, 0.1

interval	chromosome 1			chromosome 2		
	Normal	Sub-pop.	p value	Normal	Sub-pop.	p value
1	9.18±0.99	9.19±1.57	0.82	9.19±0.93	9.23±1.48	0.48
2	9.16±0.94	9.21±1.47	0.4	9.13±0.95	9.13±1.46	0.99
3	9.17±0.92	9.18±1.49	0.87	9.18±0.94	9.13±1.5	0.47
4	9.21±0.98	9.23±1.52	0.83	9.17±0.93	9.2±1.4	0.69
5	9.15±0.95	9.12±1.45	0.55	9.17±0.93	9.18±1.49	0.81
6	9.16±0.95	9.11±1.49	0.36	9.13±0.96	9.21±1.44	0.15
7	9.11±0.92	9.1±1.47	0.87	9.14±0.92	9.12±1.45	0.74
8	9.13±0.97	9.12±1.5	0.99	9.17±0.9	9.16±1.38	0.85
9	9.19±0.96	9.19±1.44	0.98	9.15±0.93	9.16±1.52	0.74
10	9.19±0.94	9.24±1.51	0.41	9.18±0.95	9.17±1.54	0.79

(b) (續上表)

N = 1000 , SDL viability = 0.1, 0.5

interval	chromosome 1			chromosome 2		
	Normal	Sub-pop.	p value	Normal	Sub-pop.	p value
1	9.14±0.96	9.07±1.5	0.21	9.11±0.9	9.16±1.42	0.35
2	9.16±0.92	9.11±1.4	0.37	9.09±0.95	8.96±1.45	0.02
3	9.16±0.93	9.2±1.45	0.47	9.13±0.97	9.13±1.47	0.89
4	9.16±0.94	9.19±1.45	0.68	9.06±0.94	9.08±1.46	0.73
5	9.13±0.93	9.1±1.41	0.6	9.17±0.9	9.18±1.4	0.84
6	9.16±0.95	9.18±1.49	0.67	9.13±0.99	9.15±1.47	0.75
7	9.18±0.93	9.19±1.43	0.87	9.14±0.93	9.1±1.46	0.39
8	9.2±0.95	9.18±1.46	0.73	9.14±0.94	9.1±1.45	0.5
9	9.16±0.97	9.19±1.47	0.56	9.16±0.95	9.2±1.52	0.51
10	9.15±0.95	9.21±1.46	0.3	9.19±0.96	9.15±1.42	0.42

N = 1000 , SDL viability = 0.1, 0.1

interval	chromosome 1			chromosome 2		
	Normal	Sub-pop.	p value	Normal	Sub-pop.	p value
1	9.14±0.94	9.18±1.73	0.58	9.12±0.92	9.14±1.66	0.76
2	9.15±0.94	9.17±1.66	0.79	9.16±0.92	9.25±1.65	0.14
3	9.16±0.91	9.17±1.65	0.92	9.13±0.95	9.07±1.67	0.3
4	9.13±0.97	9.17±1.71	0.59	9.13±0.94	9.15±1.73	0.74
5	9.11±0.93	9.2±1.65	0.16	9.13±0.95	9.14±1.72	0.91
6	9.16±0.96	9.12±1.63	0.44	9.1±0.9	9.11±1.7	0.9
7	9.16±0.98	9.14±1.72	0.77	9.13±0.96	9.17±1.7	0.58
8	9.13±0.9	9.07±1.62	0.28	9.13±0.93	9±1.72	0.04
9	9.13±0.97	9.03±1.7	0.11	9.2±0.97	9.19±1.67	0.87
10	9.17±0.99	9.22±1.73	0.48	9.11±0.9	9.15±1.68	0.51

(b) (續上表)

N = 300 , SDL viability = 0.5, -0.5

interval	chromosome 1			chromosome 2		
	Normal	Sub-pop.	p value	Normal	Sub-pop.	p value
1	9.19±1.72	9.21±2.33	0.79	9.16±1.69	9.15±2.17	0.95
2	9.08±1.69	9.01±2.15	0.44	9.23±1.77	9.23±2.3	0.97
3	9.15±1.7	9.17±2.26	0.82	9.09±1.73	9.12±2.29	0.7
4	9.18±1.72	9.13±2.27	0.54	9.18±1.67	9.14±2.23	0.65
5	9.23±1.71	9.21±2.36	0.84	9.21±1.77	9.14±2.34	0.48
6	9.13±1.68	9.09±2.2	0.66	9.16±1.85	9.13±2.39	0.77
7	9.07±1.78	9.06±2.32	0.87	9.2±1.7	9.18±2.36	0.84
8	9.23±1.8	9.28±2.32	0.59	9.15±1.73	9.18±2.34	0.74
9	9.11±1.71	9.06±2.31	0.56	9.15±1.71	9.22±2.24	0.4
10	9.13±1.68	9.15±2.31	0.82	9.17±1.71	9.19±2.32	0.78

N = 300 , SDL viability = 0.5, -0.1

interval	chromosome 1			chromosome 2		
	Normal	Sub-pop.	p value	Normal	Sub-pop.	p value
1	9.12±1.7	9.14±2.73	0.85	9.14±1.74	9.15±2.63	0.92
2	9.17±1.65	9.19±2.62	0.84	9.18±1.66	9.16±2.58	0.86
3	9.2±1.66	9.22±2.73	0.81	9.14±1.71	8.99±2.76	0.14
4	9.2±1.65	9.28±2.64	0.42	9.15±1.69	9.2±2.59	0.56
5	9.08±1.68	9.13±2.62	0.57	9.05±1.7	9.07±2.73	0.85
6	9.1±1.73	9.13±2.67	0.79	9.12±1.67	9.18±2.78	0.53
7	9.17±1.62	9.1±2.61	0.44	9.13±1.72	9.15±2.71	0.87
8	9.23±1.64	9.21±2.63	0.81	9.21±1.71	9.34±2.75	0.21
9	9.21±1.8	9.26±2.71	0.6	9.21±1.75	9.35±2.67	0.17
10	9.1±1.72	9.05±2.6	0.59	9.15±1.77	9.09±2.71	0.54

(b) (續上表)

N = 300 , SDL viability = 0.1, -0.5

interval	chromosome 1			chromosome 2		
	Normal	Sub-pop.	p value	Normal	Sub-pop.	p value
1	9.21±1.68	9.19±2.58	0.84	9.08±1.73	9.13±2.69	0.6
2	9.17±1.73	9.21±2.71	0.75	9.21±1.67	9.12±2.7	0.37
3	9.18±1.69	9.2±2.69	0.8	9.17±1.71	9.15±2.69	0.87
4	9.03±1.68	9±2.64	0.78	9.21±1.67	9.22±2.66	0.87
5	9.16±1.75	9.11±2.69	0.6	9.2±1.65	9.27±2.62	0.48
6	9.04±1.64	9.12±2.64	0.46	9.1±1.71	9.08±2.59	0.85
7	9.22±1.74	9.22±2.65	0.96	9.09±1.68	9.14±2.58	0.65
8	9.17±1.75	9.11±2.64	0.54	9.13±1.73	9.18±2.78	0.62
9	9.15±1.73	9.14±2.59	0.96	9.13±1.73	9.01±2.61	0.26
10	9.13±1.77	9.01±2.78	0.28	9.13±1.68	9.16±2.65	0.81

N = 300 , SDL viability = 0.1, -0.1

interval	chromosome 1			chromosome 2		
	Normal	Sub-pop.	p value	Normal	Sub-pop.	p value
1	9.08±1.74	8.97±3.09	0.31	9.19±1.68	9.06±3.11	0.27
2	9.18±1.64	9.19±3.02	0.89	9.17±1.74	9.13±3.09	0.7
3	9.16±1.64	9.12±3.12	0.73	9.21±1.76	9.07±3	0.19
4	9.12±1.72	9.16±3.03	0.66	9.29±1.75	9.32±3.13	0.79
5	9.12±1.69	9.15±3.17	0.81	9.25±1.73	9.18±3.21	0.55
6	9.21±1.73	9.19±3.15	0.87	9.14±1.68	9.17±3.12	0.83
7	9.18±1.72	9.25±3.09	0.49	9.09±1.7	9.12±3.22	0.79
8	9.14±1.72	9.32±3.09	0.12	9.21±1.7	9.16±3.06	0.64
9	9.24±1.63	9.17±3.05	0.58	9±1.71	9.01±3.07	0.92
10	9.22±1.75	9.18±3.27	0.78	9.08±1.7	9.19±3.16	0.36

(b) (續上表)

N = 1000 , SDL viability = 0.5, -0.5

interval	chromosome 1			chromosome 2		
	Normal	Sub-pop.	p value	Normal	Sub-pop.	p value
1	9.18±0.94	9.22±1.27	0.4	9.16±0.94	9.2±1.25	0.35
2	9.16±0.93	9.13±1.26	0.52	9.1±0.93	9.12±1.25	0.69
3	9.14±0.94	9.15±1.26	0.89	9.15±0.93	9.18±1.2	0.49
4	9.14±0.96	9.17±1.33	0.59	9.16±0.97	9.13±1.28	0.55
5	9.14±0.91	9.14±1.25	1	9.16±0.96	9.16±1.23	0.93
6	9.14±0.95	9.18±1.3	0.41	9.18±0.96	9.2±1.27	0.75
7	9.11±0.92	9.12±1.25	0.9	9.09±0.94	9.09±1.27	0.99
8	9.17±0.97	9.18±1.32	0.75	9.15±0.97	9.16±1.27	0.81
9	9.11±0.96	9.1±1.25	0.75	9.16±0.94	9.11±1.26	0.27
10	9.15±0.95	9.16±1.24	0.8	9.14±0.96	9.19±1.29	0.35

N = 1000 , SDL viability = 0.5, -0.1

interval	chromosome 1			chromosome 2		
	Normal	Sub-pop.	p value	Normal	Sub-pop.	p value
1	9.15±0.98	9.18±1.51	0.65	9.16±0.95	9.21±1.46	0.4
2	9.14±0.95	9.11±1.48	0.6	9.14±0.91	9.15±1.46	0.84
3	9.13±0.96	9.13±1.43	0.99	9.21±0.93	9.22±1.46	0.83
4	9.15±0.91	9.14±1.44	0.96	9.14±0.93	9.16±1.4	0.69
5	9.15±0.95	9.13±1.45	0.74	9.19±0.97	9.21±1.5	0.75
6	9.17±0.93	9.18±1.49	0.95	9.13±0.95	9.14±1.47	0.83
7	9.1±0.92	9.06±1.43	0.43	9.16±0.94	9.16±1.48	0.97
8	9.2±0.97	9.26±1.49	0.3	9.11±0.93	9.11±1.49	0.91
9	9.15±0.94	9.17±1.5	0.68	9.14±0.97	9.15±1.45	0.91
10	9.13±0.94	9.12±1.46	0.86	9.16±0.93	9.16±1.45	0.95

(b) (續上表)

N = 1000 , SDL viability = 0.1, -0.5

interval	chromosome 1			chromosome 2		
	Normal	Sub-pop.	p value	Normal	Sub-pop.	p value
1	9.1±0.92	9.13±1.5	0.58	9.13±0.96	9.23±1.54	0.1
2	9.14±0.94	9.13±1.48	0.85	9.14±0.94	9.15±1.5	0.87
3	9.13±0.91	9.14±1.45	0.86	9.17±0.92	9.13±1.46	0.47
4	9.17±0.92	9.18±1.46	0.8	9.11±0.95	9.12±1.48	0.84
5	9.16±0.91	9.2±1.45	0.47	9.17±0.92	9.14±1.52	0.63
6	9.11±0.95	9.18±1.5	0.21	9.14±0.97	9.16±1.47	0.83
7	9.24±0.94	9.22±1.43	0.73	9.14±0.97	9.14±1.46	0.96
8	9.2±0.94	9.21±1.46	0.9	9.16±1	9.2±1.52	0.45
9	9.18±0.98	9.15±1.51	0.61	9.14±0.93	9.1±1.46	0.52
10	9.17±0.94	9.19±1.43	0.66	9.14±0.92	9.11±1.45	0.55

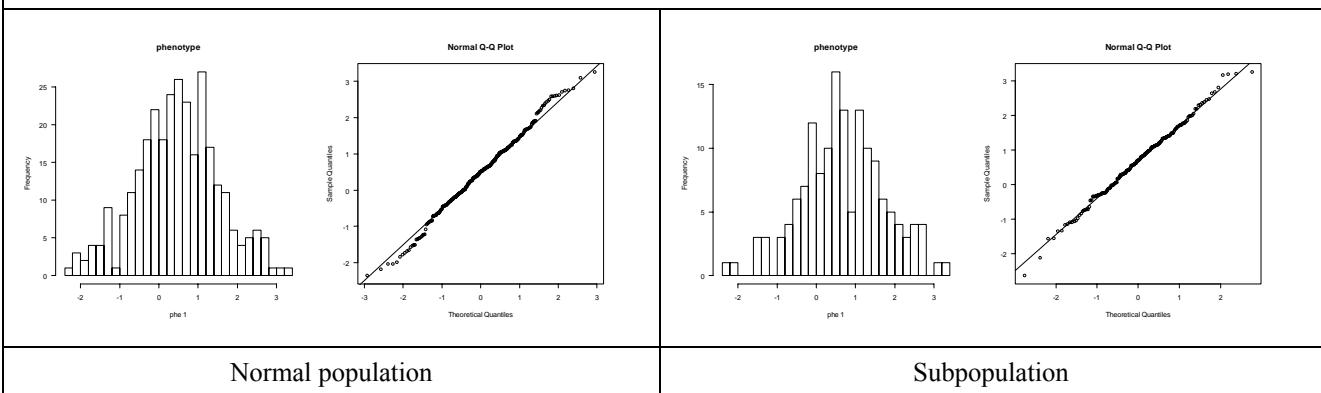
N = 1000 , SDL viability = 0.1, -0.1

interval	chromosome 1			chromosome 2		
	Normal	Sub-pop.	p value	Normal	Sub-pop.	p value
1	9.18±0.93	9.19±1.71	0.89	9.1±0.93	9.13±1.7	0.57
2	9.17±0.95	9.23±1.71	0.29	9.15±0.96	9.14±1.85	0.97
3	9.18±0.92	9.07±1.69	0.08	9.18±0.93	9.12±1.75	0.27
4	9.13±0.94	9.19±1.69	0.29	9.15±0.92	9.29±1.74	0.03
5	9.13±0.93	9.17±1.73	0.54	9.15±0.92	9.14±1.7	0.96
6	9.17±0.94	9.15±1.67	0.75	9.15±0.93	9.22±1.7	0.21
7	9.1±0.91	9.07±1.69	0.66	9.11±0.96	9.15±1.68	0.48
8	9.19±0.93	9.19±1.74	0.99	9.15±0.96	9.13±1.71	0.68
9	9.18±0.93	9.14±1.7	0.47	9.14±0.94	9.06±1.67	0.16
10	9.1±0.93	9.03±1.66	0.26	9.18±0.96	9.18±1.71	0.89

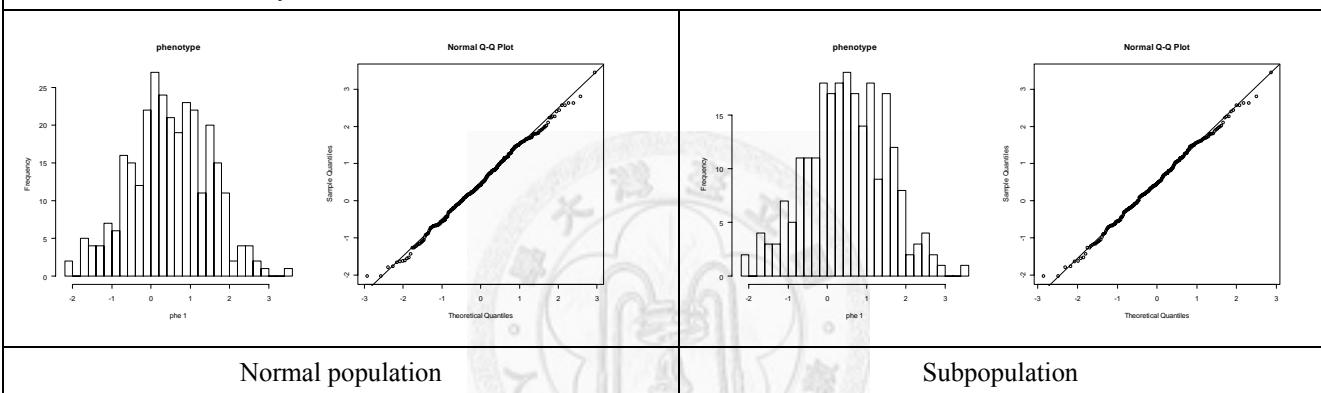
*註：SDL viability 之第一個數字為第 1 條染色體上次族群 SDL 的存活力，第二個數字為第 2 條染色體上次族群 SDL 的存活力；正負號代表 SDL 作用方向相同或相反。

二、 模擬族群外表型分布與 Normal Q-Q plot

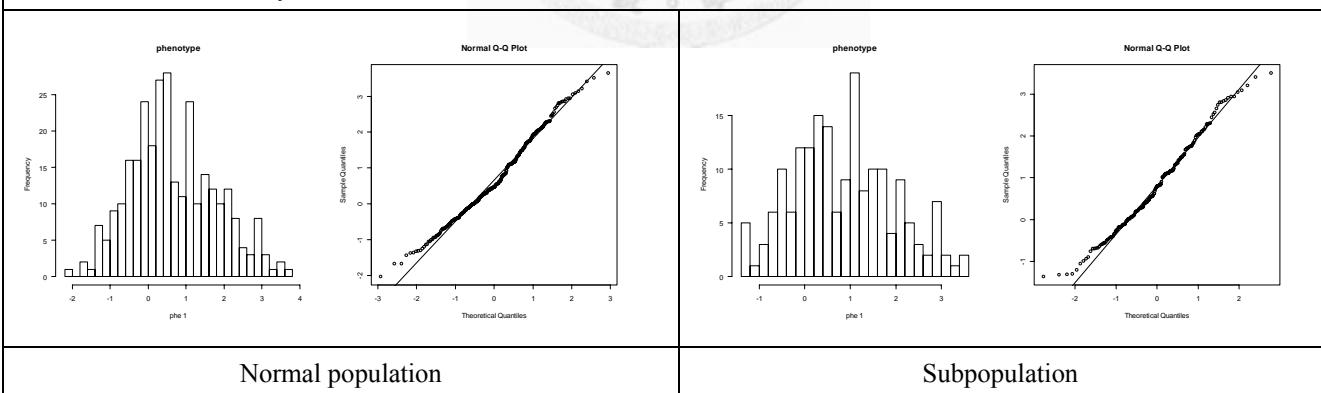
$N = 300$ $h^2 = 0.1$ viability = 0.1



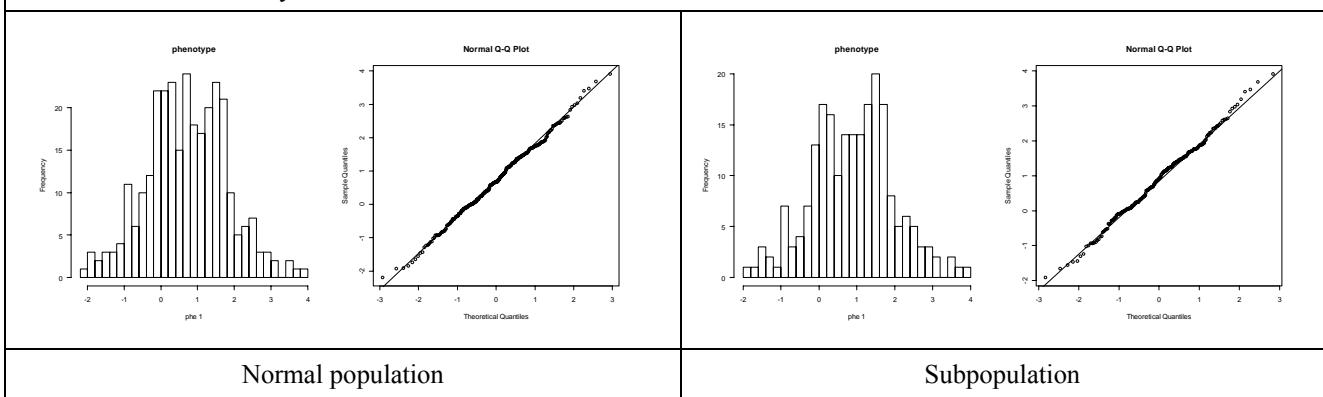
$N = 300$ $h^2 = 0.1$ viability = 0.5



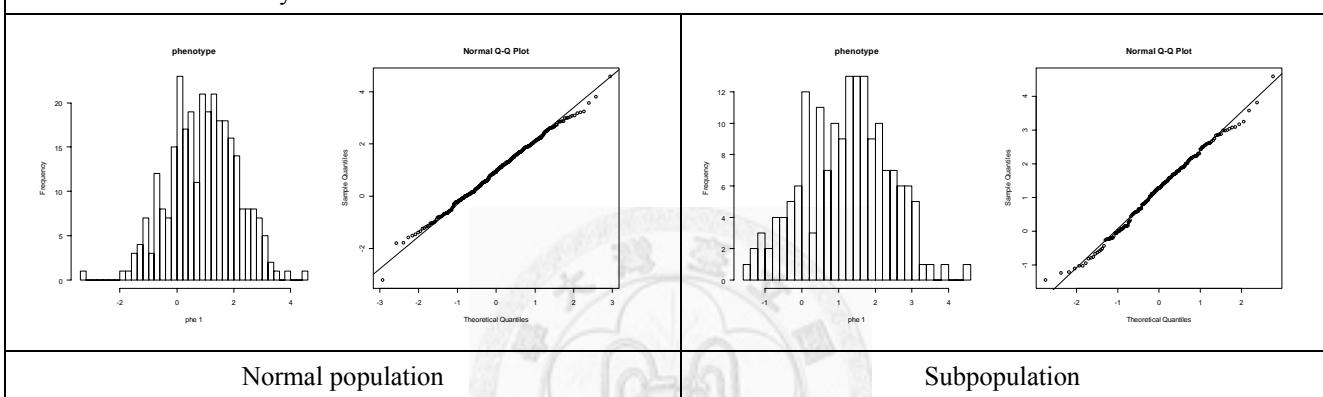
$N = 300$ $h^2 = 0.2$ viability = 0.1



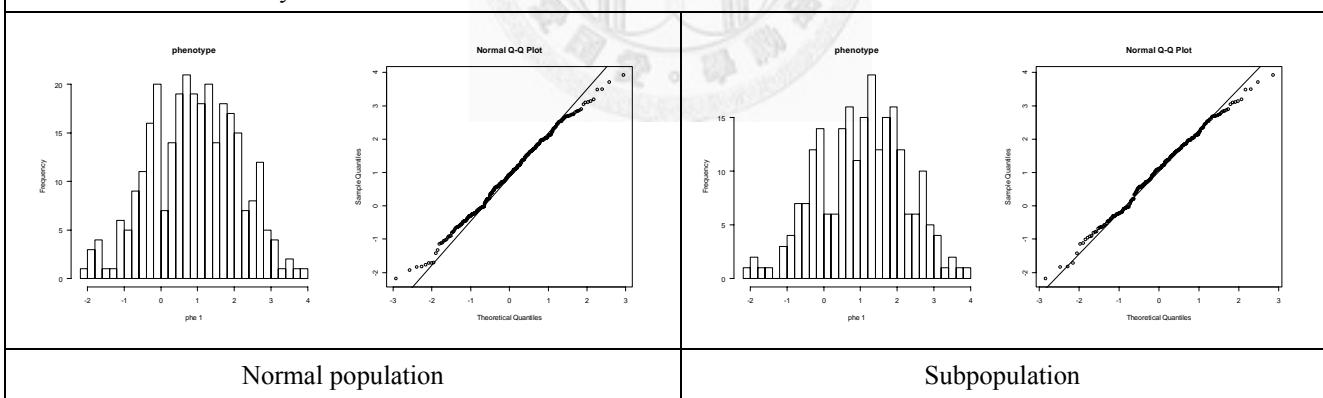
$N = 300$ $h^2 = 0.2$ viability = 0.5



$N = 300$ $h^2 = 0.3$ viability = 0.1

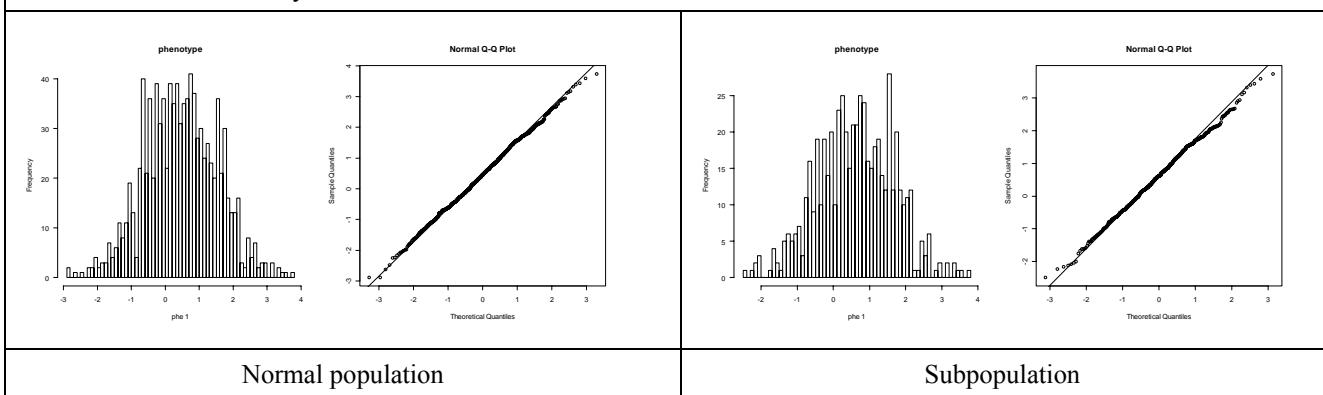


$N = 300$ $h^2 = 0.3$ viability = 0.5

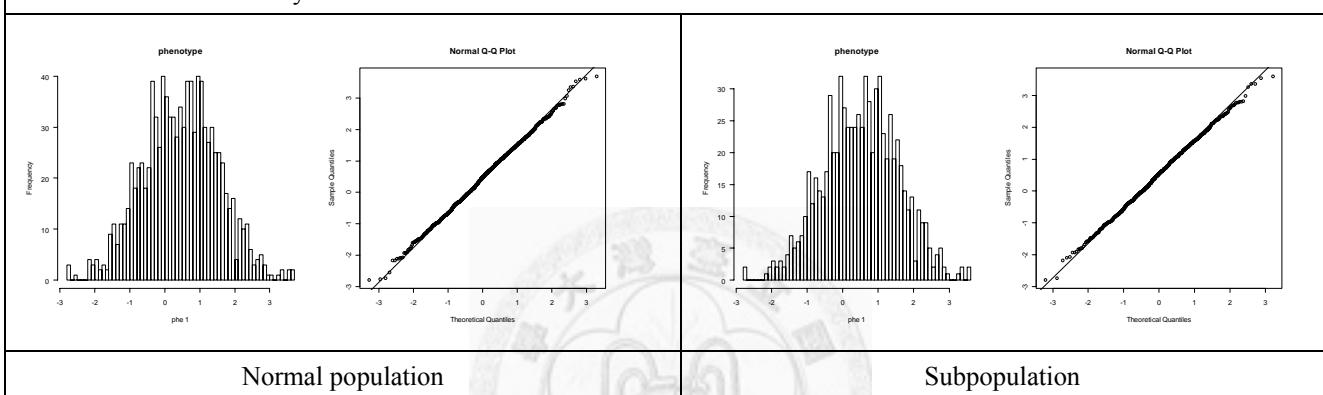


(續上圖)

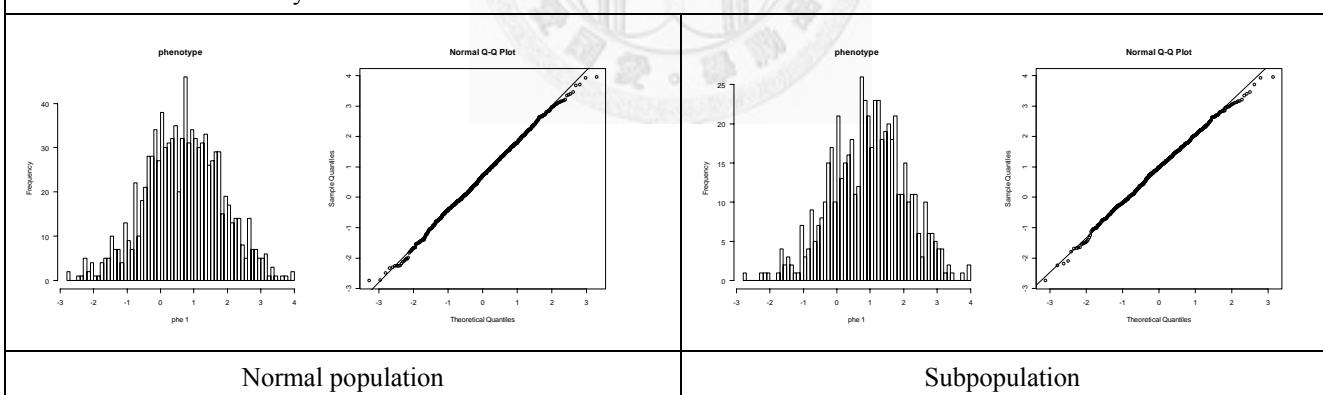
$N = 1000$ $h^2 = 0.1$ viability = 0.1



$N = 1000$ $h^2 = 0.1$ viability = 0.5

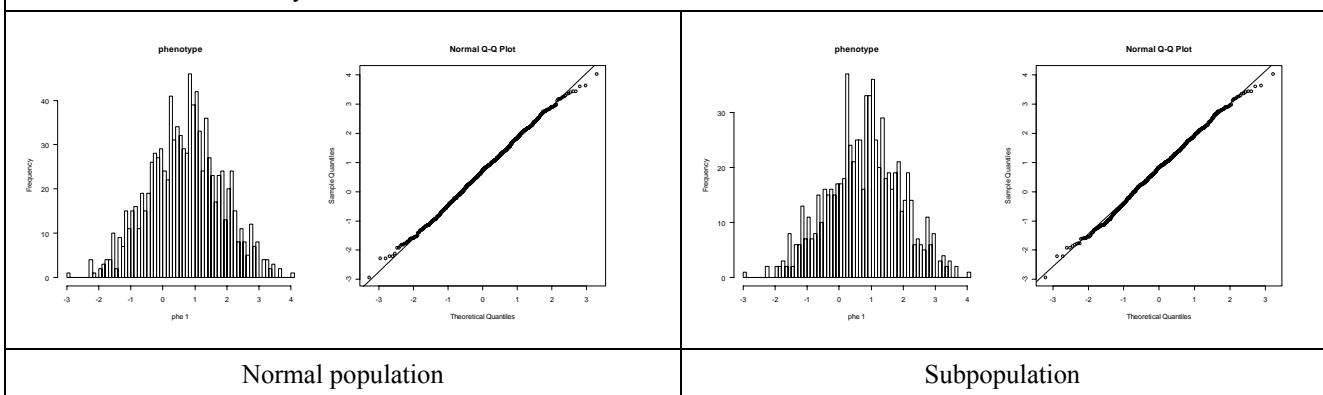


$N = 1000$ $h^2 = 0.2$ viability = 0.1

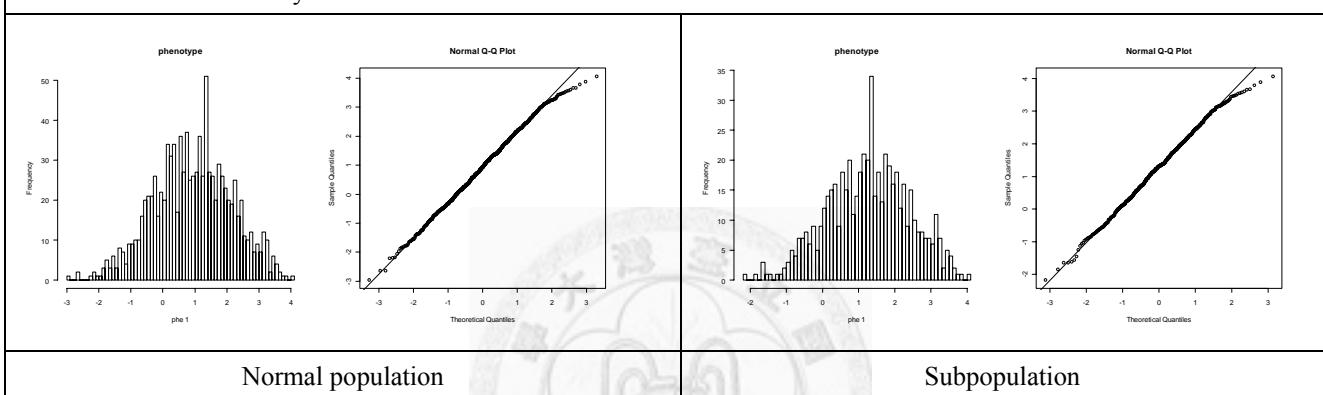


(續上圖)

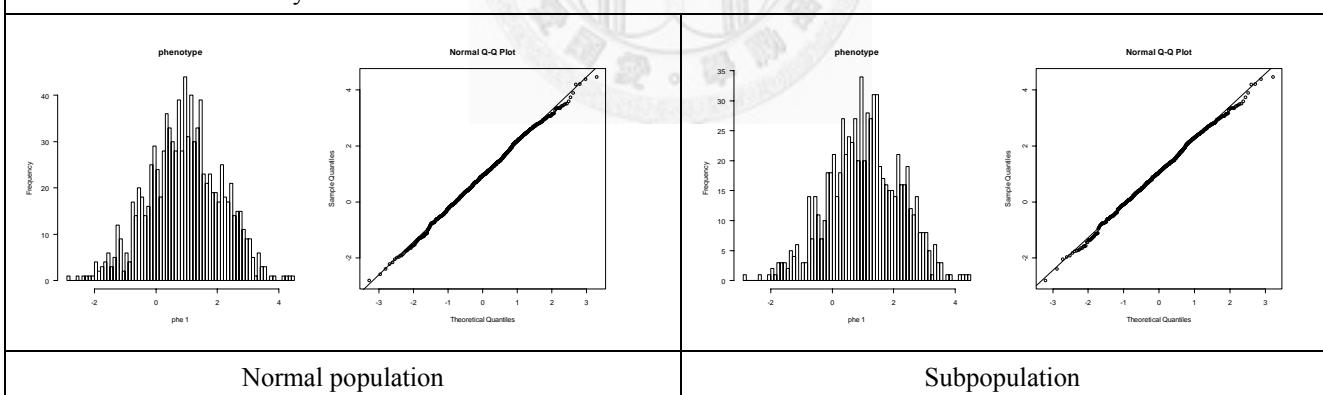
$N = 1000$ $h^2 = 0.2$ viability = 0.5



$N = 1000$ $h^2 = 0.3$ viability = 0.1



$N = 1000$ $h^2 = 0.3$ viability = 0.5



(續上圖)