

遺傳、環境交感作用對數量性狀基因座定位分析的影響

鄭文吉¹

摘要

作物重要農藝性狀大多屬於數量性狀，這些數量性狀本身是由大量的微效基因或數量基因控制，因此必須透過統計學的方式，來推估控制此一數量性狀的基因群所在位置的機率及其影響效應的大小，將整群基因簡化為數量性狀基因座(quantitative trait loci, QTL)來進行分析及操作。無法像單一等位基因控制的性狀，可以經由簡單的公式推算各世代分離比例，從而預估試驗改良的結果。

作物性狀表現受到遺傳、環境及遺傳與環境間交感作用共同影響，而遺傳因子的影響又可分為累加性、顯性和上位性三種效應。對於含有許多微效基因的數量性狀來說，來自非累加性遺傳效應及各種交感效應的影響更為明顯，因此也使得分析及定位 QTL 的工作變得十分困難。學者研究發現，上位性及遺傳與環境間交感作用的影響十分明顯，部分 QTL 必須在特定環境才會表現而被偵測到。因此除了 QTL 本身的主效應外，對於交感效應也應該加以注意，並應該盡可能透過試驗設計方式蒐集足夠的環境資訊，透過特定的分析方法或在特定環境下進行選拔，才能有效加以控制，使 QTL 定位的精確度得以提昇。

關鍵語：數量性狀基因座、分子基因標誌、上位性、交感作用

前言

作物性狀的表現大致可分為連續及不連續兩種類型。當性狀由一對或少數幾對基因控制時，其表現型可明顯加以區分並計算其分離比，這類基因稱之為主效基因(major gene)；然而許多重要農藝性狀如產量、成熟期、耐旱性等，其性狀表現都呈現連續性的變異型態，這類連續性變異表現是由許多基因所共同控制，因此從表現型無法看出明顯的分離比而呈現連續分布，由於這些基因個別的影響效果不大，因此稱之為數量基因(quantitative gene)或微效基因(polygene)。

作物品種改良的原理，是將想要的優良性狀基因集中在一起，以得到各方面均表現優異的新品種。傳統育種方法是透過不斷的選拔和純化的方式，

¹行政院農業委員會高雄區農業改良場助理研究員

將優良基因出現的頻度提高，此法需歷經多個世代，不但耗時，而且過程中容易受到環境影響。若性狀是由微效基因控制，由於參與的基因數量眾多，加上基因的表現往往受外在環境影響，因而不易以雜交選拔的方式將優良基因集合在一起，增加育種上的困難。近年來由於分子生物技術的進步，人們可以將具有優良基因的染色體片段直接轉殖到優良親本，以提高優良性狀的基因頻度並縮短育種年限，同時選拔過程也不易受到環境影響。

然而，要進行基因轉殖前，必須先了解優良基因所在位置，才能進一步加以操作利用。對於受到許多微效基因所共同控制的數量性狀來說，要了解個別微效基因的效應和所在位置是十分困難的，因此常透過統計學的方式來推估控制此一數量性狀的基因群所在位置的機率及其影響效應的大小，這群基因稱之為數量性狀基因座(quantitative trait loci, QTL)。如此一來，相當於將一整群微效基因所形成的 QTL 視為一個「基因」來看待，這樣就可以降低操作及分析的複雜度。當確認整個 QTL 所在位置後，便可以比照主效基因的方式進行基因轉殖，以改良作物的性狀表現。

然而，性狀表現除了受基因及環境控制外，也同時受到基因×基因間甚至基因×環境間交感作用的影響。對於含有許多微效基因的數量性狀基因座來說，此種交感作用的影響將更為顯著。因此如何控制這些交感作用所造成的影響，以提高數量基因座定位的準確性，進而改進基因轉殖的效率，便成為重要的課題。

影響性狀表現的因素

作物性狀表現受遺傳及環境影響，其中遺傳因子的影響又可分為累加性、顯性和上位性三種效應，而能透過傳統累積優良基因頻度的方式來改良性狀表現的只有累加性效應，因此必須先排除顯性、上位性遺傳效應和環境效應後，才能正確估計累加性遺傳效應大小，進而評估其改良效果。傳統分析方法常採用兩親本A(AA)、B(aa)及其後代F₁(Aa)、F₂(AA、Aa、aa)，以及F₁與大親本回交所產生的B₁(AA、Aa)作為試驗材料，調查其性狀外表型值，各世代的分布及平均變方的關係如圖 1⁽⁷⁾。

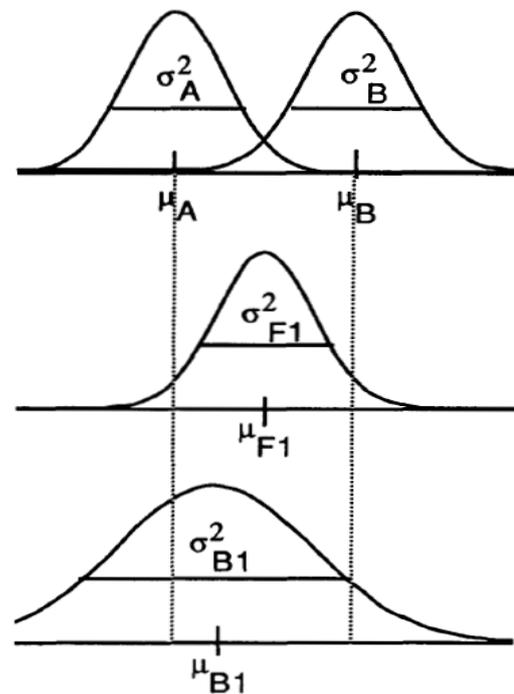


圖 1. 親本及後代的表現型分布
Fig 1. Phenotype distributions. Schematic drawing of phenotype distributions in the A and B parental, F₁ hybrid and B₁ backcross populations.
(Lander and Botstein, 1989)

採用這些早期世代作為試驗材料的目的是，由於兩親本及 F_1 的基因型都只有一種，故其遺傳變方可視為 0，因此親本及 F_1 的表現型變方只受到環境影響。在基因表現為完全無顯性且沒有上位性效應的前提下，可以推得下列幾項假設：

$$\mu_{F_1} = \frac{1}{2}(\mu_A + \mu_B), \mu_{B_1} = \frac{1}{2}(\mu_A + \mu_{F_1}), \sigma_E^2 = \sigma_A^2 = \sigma_B^2 = \sigma_{F_1}^2 < \sigma_{B_1}^2$$

其中 μ_A 、 μ_B 、 μ_{F_1} 及 μ_{B_1} 分別為親本A、B及後代 F_1 、 B_1 的表現型平均值， σ_E^2 、 σ_A^2 、 σ_B^2 、 $\sigma_{F_1}^2$ 及 $\sigma_{B_1}^2$ 分別為環境變方及各世代的表現型變方。而遺傳變方 σ_G^2 則可由個世代的外表型變方推得：

$$\sigma_G^2 = \sigma_{B_1}^2 - \sigma_E^2 = \sigma_{B_1}^2 - (\sigma_A^2 + \sigma_B^2 + \sigma_{F_1}^2)/3$$

以上是在完全沒有顯性及上位性效應的前提下所推得的結果，然而實際情況下可能並非如此。Ketata *et al.*(1976)以兩種小麥品種作為親本及其 F_1 後代，分別與 10 種小麥品種進行雜交，4 重複。調查其農藝性狀表現結果，發現其株高、抽穗期、每穗粒數、粒重及穀粒產量等存在顯著上位性效應，而株高及每穗粒數也呈現部分顯性效應，如此都會影響性狀表現而出現偏差。加上試驗只在同一種環境(同年度同地點)下進行，而環境不同也會影響性狀表現，因此Katata *et al.*(1976)認為，這些影響效果應加以注意並設法排除，才能得到更精確的試驗結果⁽⁶⁾。

Eshedm與Zamir(1996)以番茄M82 品系導入 4 至 58cM等不同長度的滲入DNA(introgressed DNA)後，產生 10 種番茄近同源品系。再將之進行半互交後，產生 45 種帶有不同introgressed DNA 的雙異質結合(double-heterozygous)後代，及分別與M82 品系雜交產生的 10 種帶有一個introgressed DNA的單異質結合後代為材料，分析其株重(Plant Weight, PW)、果重(Fruit Mass, FM)、糖度(Brix, B)及單株產量(Yield / plant, Y)等 4 種產量相關性狀，結果發現具有所謂的”less-than-additive”上位性，也就是雙異質結合效力比個別的單異質結合效力總和小。由於出現上位性的性狀比例達 28%(如圖 2)，因此Eshedm及Zamir認為，上位性

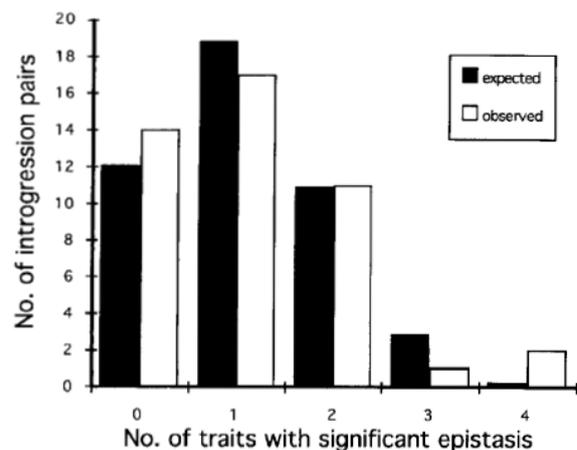


圖 2. 株重、果重、糖度及產量等 4 種性狀同時出現顯著上位性的觀測值與期望值頻度分布。
Fig 2. Distribution of the observed and expected numbers of pairs of introgressions showing simultaneous significant epistasis ($P < 0.05$) for the traits PW, FM, B and Y.

(Eshedm and Zamir, 1996)

在遺傳效應中十分常見，且與QTL間具有累加性、顯性等不同形式的交感作用，但其中累加性仍為QTL間交感作用的主要成分；當基因座數量較多時，此種形式的上位性可能會成為影響育種及性狀改良的重要因子⁽³⁾。

QTL 的定位

由於我們並不清楚QTL實際所在位置，故需加以定位，才能進一步加以利用。Soller與Brody(1976)首先提出利用分子基因標誌(molecular genetic marker)來進行QTL定位的方法。原理是先假設QTL位於已知的標誌因子附近，利用具有同質結合(如AA或aa)及異質結合(如Aa)兩種不同標誌因子組合之個體為材料，比較其性狀表現是否有差異。若差異顯著，表示標誌因子確實與QTL相互連鎖，如此就可以提供研究人員找尋QTL的方向⁽¹⁰⁾。

然而，由於我們不知道QTL的實際位置，若QTL並非恰好落在所選的標誌因子附近，則其效應將會被嚴重低估。舉例來說，假設A及a的性狀表現型值分別為1及0，且標誌因子與QTL二者間的重組交換率為 θ ，則QTL影響其表現型的效應將以 $1-2\theta$ 的比例下降，而由標誌因子所解釋的變異將以 $(1-2\theta)^2$ 的比例下降。如此一來，所需的後代數量則將以 $1/(1-2\theta)^2$ 的比例增加。另一個問題是，此法並未考慮QTL效應強弱的問題，故無法區分緊密連鎖而效應較小的QTL，及鬆散連鎖但效應較強的QTL之間的差別，因此無法精確定位QTL所在位置⁽⁷⁾。

為解決以上問題，Lander與Botstein(1989)提出利用限制性片段長度多形性(restriction fragment length polymorphism, RFLP)作為標誌因子的技術來定位QTL的區間定位法(method of interval mapping)⁽⁷⁾。此法是利用RFLP技術先在染色體上標定一系列區間，由於各區間兩翼標誌因子(frinking marker)位置已知，故可計算此區間內任意位置若存在QTL時，各種可能基因型出現的機率，再以最大概度法(maximum likelihood method)估算QTL在每個位置存在的機率及其效應大小，方法如下：

利用回交世代BC₁作為試驗材料，其基因型為Aa及aa各半，故其性狀表現型迴歸模式為： $y_i = \mu + ax_i + \varepsilon_{ij}$ 。其中 μ 為總平均值，參數a為QTL效應的大小， x_i 為指標函數，當基因型為Aa時 $x_i = 1$ ，為aa時 $x_i = 0$ ；機差 $\varepsilon_{ij} \sim N(0, \sigma^2)$ ，為不受QTL控制的變異部分。

然而，除非QTL剛好位於標誌因子上，否則QTL基因型 x_i 是未知的，因此只能知道個別的機率分布，故無法使用一般的線性迴歸法來估算各參數估值，而需採用數值方法(如牛頓法)或EM演算法來估算最大概度估值。由於QTL效應大小及機差均未知，因此 μ, a, σ^2 為未知參數，其概度函數為：

$$L(\mu, a, \sigma^2) = \prod_{i=1}^n [p_i(0)f_i(0) + p_i(1)f_i(1)]$$

其中 $p_i(0)$ 及 $p_i(1)$ 分別為 $x_i = 0$ 、 1 的機率，故 $p_i(0) + p_i(1) = 1$ ； $f_i(0)$ 及 $f_i(1)$ 分別為平均 $= \mu(x=0)$ 時及 $\mu+a(x=1)$ 時、變方為 σ^2 的常態機率密度函數。

Lander與Botstein(1989)並推算出要定位QTL所需的後代數量最少為： $(Z_\alpha)^2(\sigma_{res}^2 / \sigma_{exp}^2)$ ，其中 α 為第一型錯誤機率，可由QTL解釋的變異為 $\sigma_{exp}^2 = \delta^2 / 16$ ，其中 δ 為QTL基因的影響效果，而剩下的遺傳變異部份為 $\sigma_{res}^2 = \sigma_{B1}^2 - \sigma_{exp}^2$ 。因此建議，若要提高QTL定位能力，可以從選擇極端後代基因型及降低環境變異兩方面著手⁽⁷⁾。

Lander與Botstein(1989)所提出的QTL區間定位法一次只能定位一個QTL，而忽略其他QTL的作用。若能同時定位多個QTL，將會更為精確且有效率。因此Jansen and Stam(1994)提出MQM(multiple-QTL model)法，此法一方面利用標誌因子做輔助，以同時定位多個QTL；另一方面則利用兩親本(A、B)及F₁世代(H)的資料來固定遺傳與環境變異，從而有效的定位QTL所在位置⁽⁴⁾。說明如下：

假設所有影響數量性狀表現的基因型已知，且其中沒有上位性效應。其表現型迴歸模式為： $y = \mu + \sum_i a_i x_{ai} + \sum_i d_i x_{di} + E$

其中參數 a_i 為個別基因座的累加性效應大小， d_i 為顯性效應大小； x_{ai} 及 x_{di} 為指標函數，當基因型為A、H、B時， x_{ai} 值分別為 1、0、-1，而 x_{di} 值分別為 0、1、0；機差 $E \sim N(0, \sigma^2)$ ，為不受遺傳控制的剩餘變異部分。如此可以透過EM演算法，利用加權後的表現型迴歸模式來估算缺失的模式係數，然後再不斷修正權重及重新估算係數，最後得到具有最大概度估值的迴歸模式⁽⁴⁾。

上位性對 QTL 定位效果的影響

由於上位性已被證實是十分常見的現象，且常由QTL與遺傳背景間的交感作用所產生，故Jannink與Jansen(2001)提出新的估算方法，利用多個相關近交系相互雜交後代為材料來估算其上位性⁽⁵⁾。方法如下：

以三個親本 A、B、C 進行三種互交 A×B、A×C 及 B×C 所得之雙單倍體(doubled-haploid)後代為試驗材料，其基因型為 AA、BB、CC，則其表現型完全迴歸模式(Full model)為：

$$y_{ij} = \mu_i + \alpha_i x_{ij}^a + \sum_{c=1}^{f_i} \beta_{ic} x_{ij}^c + \varepsilon_{ij}$$

其中 y_{ij} 表第 i 族群第 j 個體的外表型值，每一族群分別有 f_i 種標誌輔助因子 (marker cofactor) 參與， x_{ij}^q 及 x_{ij}^c 分別為 QTL 及標誌輔助因子的指標係數，其值如表 1。

設 g_A 、 g_B 、 g_C 分別代表 A、B、C 三親本的基因型效應，迴歸係數 α_i 為第 i 族群 QTL 主效應估值，可視為第 i 族群兩親本基因型效應差的估值；而 β_i 為第 i 族群 QTL 與 f_i 種標誌因子交感

效應估值。故若 QTL 與遺傳背景之交感作用不存在，因 $g_A - g_C = (g_A - g_B) + (g_B - g_C)$ ，即可定義新的迴歸係數 $\alpha_2^* = \alpha_1^* - \alpha_3^*$ ，而得到下列退化模式 (Reduced model)：

$$y_{ij} = \mu_i + \alpha_1^* x_{ij}^{q*} + \alpha_3^* x_{ij}^{c*} + \sum_{c=1}^{f_i} \beta_{ic} x_{ij}^c + \varepsilon_{ij}$$

由上述 Full model 及 Reduced model 二式可知，QTL 與其他遺傳背景交感效應是造成二者概度差異的原因，故計算二者與無 QTL 模式間概度比可得：

$$LR_{Full} = 2 \log(L_{full} / L_{noQTL})$$

$$LR_{Reduced} = 2 \log(L_{Reduced} / L_{noQTL})$$

$$LR_{Deviation} = 2 \log(L_{Full} / L_{Reduced})$$

前兩個統計量分別表示採用 Full 及 Reduced model 時，測得 QTL 存在的程度，第三項 $LR_{Deviation}$ 則會隨著交感作用程度提高而增加。

以模擬試驗材料進行分析作圖結果如圖 3，顯示 LR_{Full} 均高於 $LR_{Reduced}$ ，並指出 QTL 所在位置位於前三個染色體的中間，而第四個染色體則無。下方的 $LR_{Deviation}$ 則顯示，前兩個染色體的 QTL 具有交感效應，第三個 QTL 則無交感效應。

上述上位性估算法是利用多個相關近交系相互雜交後代為材料來進行估算⁽⁵⁾。Boer *et al.* (2002) 將 Jansen 與 Stam (1994) 的 MQM 法加以改進，提出只利用單一族群為材料進行上位性估算的新方法，稱之為 EpiMQM (epistatic multiple QTL mapping) 法⁽¹⁾。此法分為兩步驟，說明如下：

表 1. 不同基因型族群在完全及退化迴歸模式中所用的 QTL 及標誌輔助因子指標係數。

Table 1. Linear model coefficients from (FULL) and (REDUCED) as determined by the population being analyzed and the genotype at either a QTL or a marker cofactor.

(Jannink and Jansen, 2001)

Population	Genotype	(FULL) (x_{ij}^q and x_{ij}^c)			(REDUCED) (x_{ij}^{q*})	
		x_{ij}^q	x_{ij}^c	x_{ij}^c	x_{ij}^{q*}	x_{ij}^{c*}
1. A × B	AA	+1	0	0	+1	0
	BB	-1	0	0	-1	0
2. A × C	AA	0	+1	0	+1	+1
	CC	0	-1	0	-1	-1
3. B × C	BB	0	0	+1	0	+1
	CC	0	0	-1	0	-1

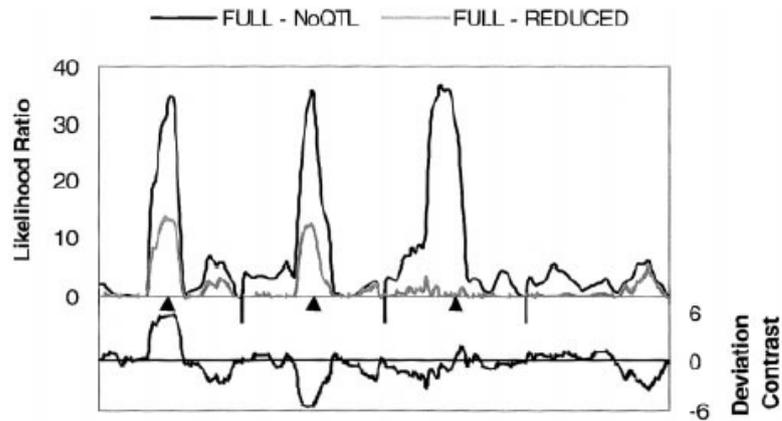


圖 3. 互交分析結果，上方為完全模式與非 QTL 模式及完全模式與退化模式間的概度比。顯示 QTL 位置在前三個染色體的中間位置(三角形處)，第四個染色體則沒有 QTL；下方為變異數估值，顯示前兩個 QTL 有交感效應，第三個 QTL 則無。

Fig 3. Diallel analysis results. The top shows the likelihood ratio between (FULL) and a non-QTL model and between (FULL) and (REDUCED). The bottom shows estimates of the deviation contrast. QTL were simulated at the center of the first three chromosomes (triangles), and none were simulated on the fourth chromosome. The first two QTL were simulated to interact using genetic values, and the third QTL did not interact. (Jannink and Jansen, 2001)

步驟 1. 懲罰性迴歸(penalized regression on the markers)

利用回交世代BC₁作為試驗材料，如此其後代基因型Aa及aa各半。設有m個標誌因子，個體數有n個，則其性狀表現型迴歸模式為：

$$y_i = \mu + \sum_{j=1}^m \alpha_j x_{ij} + \varepsilon_i$$

其中迴歸係數 α_j 為第j個標誌因子的效應， x_{ij} 為指標函數，當第i個體的第j個標誌因子基因型為同質結合時設為 1/2，異質結合時設為-1/2。故上述迴歸模式可改寫為向量形式： $Y = X\beta + \varepsilon$ ，其中：

$$Y = \begin{pmatrix} y_1 \\ y_2 \\ \dots \\ y_n \end{pmatrix}, \quad X = \begin{pmatrix} 1 & x_{11} & \dots & x_{1m} \\ 1 & x_{21} & \dots & x_{2m} \\ \dots & \dots & \dots & \dots \\ 1 & x_{n1} & \dots & x_{nm} \end{pmatrix}, \quad \beta = \begin{pmatrix} \mu \\ \alpha_1 \\ \alpha_2 \\ \dots \\ \alpha_m \end{pmatrix}, \quad \varepsilon = \begin{pmatrix} \varepsilon_1 \\ \varepsilon_2 \\ \dots \\ \varepsilon_n \end{pmatrix}.$$

一般進行迴歸分析時，並不會對迴歸係數估值做限制，因此即使所求出的係數值很大也無妨。然而此處的迴歸係數代表標誌因子的效應，故需加以限制，使出現小 α 值較大 α 值有利。一般假定 $\alpha_j \sim N(0, \sigma_{\alpha_j}^2)$ ，也就是 α_j 越接近 0 出現機率越高。而其懲罰性概度為：

$$L = P(Y, \beta) = P(\beta)P(Y | \beta) = \prod_{j=1}^m \phi(\alpha_j, \sigma_{\alpha_j}^2) \prod_{i=1}^m \phi(y_i - \mu - \sum_{j=1}^m \alpha_j x_{ij}, \sigma^2)$$

其中 $\phi(x, \sigma^2)$ 為平均為 x 、變方為 σ^2 的常態分布機率密度函數。權重矩陣 W 設為條件機率 $P(\text{genotype} | y_i, \beta, \sigma^2)$ 的對角線矩陣，也就是在特定的 y_i, β, σ^2 下，得到某種基因型的機率。

為使懲罰性概度最大化，故設 $\lambda_j = \sigma^2 / \sigma_{\alpha_j}^2$ ，懲罰係數矩陣 $Q = \text{diag}(0, \lambda_1, \lambda_2, \dots, \lambda_m)$ ，如此可估算模式係數：

$$\hat{\beta} = (X^T W X + Q)^{-1} X^T W Y, \hat{\sigma}^2 = (Y - X \hat{\beta})^T W (Y - X \hat{\beta}) / n$$

在此將所有 λ_i 統一設為 λ 。如此可以利用 EM 演算法反覆進行權重矩陣 W 的修正，再以新的加權後的表現型迴歸模式來估算新的模式係數，透過不斷修正權重及重新估算係數，直到概度估值收斂到穩定為止，最後得到具有最大概度估值的迴歸模式。

步驟 2. 對上位性 QTL 進行一維基因組掃描

假設想檢定特定圖譜位置是否存在 QTL，可以將模式視為該 QTL 效應加上與其他標誌因子的交感作用，模式如下：

$$y_i = \mu + \alpha_0 x_{i0} + \sum_{j=1}^m \alpha_j x_{ij} + \sum_{j=1}^m \delta_j x_{i0} x_{ij} + \varepsilon_i$$

其中迴歸係數 α_0 為 QTL 的累加性效應， δ_j 為 QTL 與第 j 個標誌因子的交感效應。模式同樣可改寫為 $Y = X\beta + \varepsilon$ ，其中 $\beta = (\mu, \alpha_0, \alpha_1, \dots, \alpha_m, \delta_1, \dots, \delta_m)^T$ ，懲罰係數矩陣 $Q = \text{diag}(0, 0, \lambda_1, \lambda_2, \dots, \lambda_m, \xi_1, \xi_2, \dots, \xi_m)$ ， λ_j 為標誌因子 j 的懲罰， ξ_j 為 QTL 與標誌因子 j 的懲罰。當 QTL 與第 j 個標誌因子的距離較遠（至少超過 10cM 以上）時，將所有 λ_j 及 ξ_j 統一設為 λ 及 ξ ；若距離太近則設為 $\lambda_j = \xi_j = \infty$ ，使得 $\alpha_j = \delta_j = 0$ ，表示此標誌因子無作用，故而不列入考慮。

要檢定新 QTL 效應是否顯著，相當於檢定下列虛無擬說：

$$H_0 : \alpha_0 = \delta_1 = \delta_2 = \dots = \delta_m = 0$$

$$H_1 : \alpha_0 \neq 0 \text{ or } \delta_1 \neq 0 \text{ or } \delta_2 \neq 0 \text{ or } \dots \text{ or } \delta_m \neq 0$$

再計算各圖譜位置的 LOD 值及 T 值，計算式如下：

$$LOD = \log \left(\frac{p(Y | \hat{\beta}_1)}{p(Y | \hat{\beta}_0)} \right), T = x / (2 \ln 10)$$

其中 LOD 為可偵測到的 QTL 數量估計值，T 為臨界值。若 $LOD > T$ ，則判定此位置存在顯著 QTL 效應。x 由以下方程式定義： $(C + 2Gx)X_f^2(x) = \alpha$ ，其中 C 為染色體數，G 為染色體組長度， $X_f^2(x)$ 為自由度 $f = d_{\text{epi}} + 1$ 之 X^2 分布累

積機率密度函數。

以模擬試驗材料分別計算(a) $d_{epi} = 0$ 及(b) $d_{epi} = 3$ 下所得臨界值(a) $T_0 = 2.1$ 及(b) $T_3 = 3.7$ ，計算各圖譜位置LOD值並作圖結果如圖 4。可見當不考慮上位性($d_{epi}=0$)時，只能定位出QTL3；但加入上位性效應($d_{epi}=3$)後，3 個QTL 就都可以被定位出來⁽¹⁾。

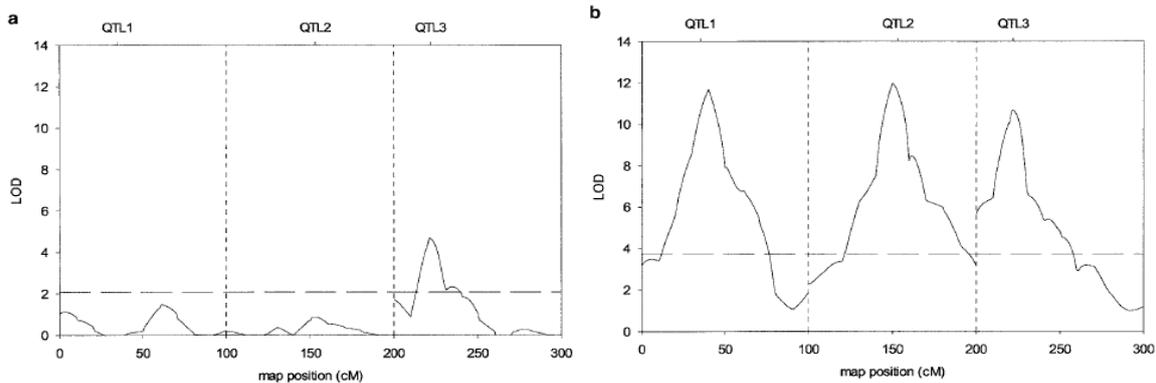


圖 4. 經 10,000 次模擬運算分別計算(a) $d_{epi} = 0$ 及(b) $d_{epi} = 3$ 下之LOD值，水平虛線為臨界值(a) $T_0 = 2.1$ 及(b) $T_3 = 3.7$ 。

Fig 4. LOD scores along the genome for simulation I for $d_{epi} = 0$ (a) and $d_{epi} = 3$ (b). The horizontal dashed lines are the 5% significance threshold values $T_0 = 2.1$ (a) and $T_3 = 3.7$ (b), obtained from 10,000 simulation runs.

(Boer *et al.*, 2002)

環境效應對 QTL 定位效果的影響

作物性狀表現受遺傳及環境影響，同樣的基因型在不同環境條件下，可能也會產生不同的表現。Zhuang *et al.*(1997)以水稻品種Tesanai 2 × CB 雜交後所得之 171 個 F_2 世代所得種子(F_3 世代)為材料，分別栽培於中國水稻研究所(China National Rice Research Institute, CNRRI)及國際稻米研究所(International Rice Research Institute, IRRI)，代號分別為 CNF_3 及 IRF_3 。然後以RFLP分析法對 F_2 、 CNF_3 及 IRF_3 世代材料進行 8 種數量性狀的QTL定位，計算三種試驗材料所測得的QTL數量，結果如表 2。發現即使是同樣來源的 F_3 世代，栽培在不同地方後對其QTL定位位置及數量都會產生影響，顯示我們所找尋的QTL可能還有很多受到環境影響而未能表現出來^(11,12)。

MacMillan *et al.*(2006a,b)以水稻品種Bala × Azucena雜交所得之 168 個 F_6 世代重組自交系為材料，分別栽培於低肥(LN)、低光(LL)、乾旱(D)及對照(C)等四種環境作為處理，兩重複，調查六種根部性狀，進行變方分析並計算

表 2. 三種試驗材料所測得的 QTL 數目

Table 2. The number of QTLs detected in the three trials.

(Zhuang *et al.*, 1997)

Trial	NP	NFG	TNS	SF	TGWT	GWT	PH	LP	Yield components	Plant stature	Total
F ₂	2	4	3	1	3	5	7	3	18	10	28
CNF ₃	0	0	1	1	5	2	2	4	9	6	15
IRF ₃	2	2	3	1	4	2	3	5	14	8	22
One trial	2	4	5	3	3	2	6	2	19	8	27
Two trials	1	1	1	0	3	2	0	5	8	5	13
Three trials	0	0	0	0	1	1	2	0	2	2	4
Total	3	5	6	3	7	5	8	7	29	15	44

$$\text{其廣義遺傳率}(h^2) : h^2 = \frac{\sigma_{GT}^2}{\sigma_{GT}^2 + \sigma_{GT \times Env}^2 / t + \sigma_e^2 / (rt)}$$

其中 σ_{GT}^2 、 $\sigma_{GT \times Env}^2$ 、 σ_e^2 分別為基因型(genotype)、基因x環境(GTxEnv)及環境(e)變方，t為處理數，r為重複數。其結果如表 3，除MRL(最大根長)外，其他五種性狀的遺傳x處理(即環境)的交感作用都達顯著差異水準。氏等認為，由於試驗並未包含合併環境處理，故此一交感作用可能被低估。然而在比較性狀表現差異時，若能同時將遺傳與環境交感作用整合進去，對於結果應有幫助⁽⁸⁾。

表 3. 親本及 168 個重組自交系進行變方分析所得 F 統計量與廣義遺傳率。

Table 3. Wald F-statistic and broad sense heritability calculated for the parental genotypes and the 168 RILs for which data is available for all experiments using mixed mode with fixed genotype and treatment (and interaction) effects and random design effects.

(MacMillan *et al.*, 2006a)

	df	MRL	MRT	RML ^a	%RM	TPM ^a	SL28 ^a
Genotype	169	2.87***	3.80***	3.74***	3.08***	4.94***	15.6***
Treatment	3	13.8*	46.9**	12.8**	73.7***	17.0**	46.4**
Genotype × treatment interaction	500-507 ^c	1.12	1.36***	1.20*	1.42***	1.51***	2.11***
Broad sense heritability ^b		64%	64%	69%	57%	73%	86%

Given are the F-statistics and the P-values (type 3)

*,**,*** indicate significant effect at the 5, 1 and 0.1% level

^aModels for RML, TPM and SL28 contain (fixed) margin and margin × treatment effects^bHeritability is calculated under assumption of random RILs and a compound symmetry structure^cdepends on the number of missing values (genotypes) (resp. class frequencies)

MacMillan *et al.*(2006b)進行QTL定位分析結果，6種性狀在全部 12 條染色體上共定位出 145 個QTL，分別位於 37 個不同位置。進一步分析QTL在 4 種不同環境處理下的差異情形，發現共有 5 個QTL呈現顯著遺傳x處理交感效應(表 4)，顯示這些QTL只能在特定環境中被檢測出來，如此可提供未來進行相關研究時的參考⁽⁹⁾。

表 4. 以最近標誌因子的基因型(G)與處理(T)為因子進行雙向變方分析所得 F 統計量證明 QTL 存在基因型 X 環境間의 交互作用。

Table 4. Evidence of genotype by environment interaction for QTLs showing the wald F statistic obtained for two-way analysis of variance where factors are marker genotype(G) at nearest marker and treatment(T) (MacMillan *et al.*, 2006b)

QTL	Trait	LOD value for each treatment				Nearest marker	Distance between marker and QTL	Wald statistic	
		C	LN	LL	D			G	G × T
1.4	MRL ^a	6.2	0.2	3.2	0.0	RZ14	0	14.2 ^b	13.2
	MRT	6.1	4.7	10	0.7	RZ14	0-9	7.7 ^b	5.0
	TPM	4.7	6.7	8.4	0.6	RZ14	0-8	7.3 ^b	6.3
	SL28 ^a	4.6	5.0	8.5	5.0	C949	0	4.7	20.3 ^b
2.1	TPM	0.5	0.3	5.7	0.1	RG509	0-4	1.5	11.4 ^b
2.3	TPM	0.4	0.9	9.5	3.6	RM6	0-2	3.0	2.9
	RML	3.6	2.8	6.0	3.4	RM6	0-4	8.2 ^b	1.4
3.2	MRT	0.8	0.4	5.3	0.6	e12m36.10	1	2.7	4.4
3.5	SL28 ^a	7.9	6.2	2.8	3.5	R1618	3-7	19.1 ^b	14.9 ^b
4.1	%RM ^a	4.8	5.1	2.8	1.6	RG449	10	14.5 ^b	0.8
4.2	SL28	2.4	2.0	0.9	6.9	RG163	2	3.6 ^b	1.0
5.2	MRT	6.1	4.7	3.1	1.2	RZ70	0-28	5.8	4.4
	RML	3.6	5.9	0.5	0.1	RZ70	0-22	5.5 ^b	9.0
	TPM ^a	6.8	7.0	4.8	0.4	RZ70	4-22	1.3	14.9 ^b
	SL28	10	7.3	6.3	2.8	RZ70	0	10.0 ^b	7.2
6.4	MRT ^a	0.3	0.7	6.2	0.7	RZ682	0-5	1.6	9.4
7.1	MRT	1.1	1.0	7.2	0.5	C39	0	0.4	9.0
8.3	TPM	6.3	2.0	0.5	0.1	RG598	0-2	8.8 ^b	8.8
9	RML	8.0	5.0	3.3	4.1	RM242	2-4	8.1 ^b	9.5
	SL28	5.6	0.8	4.2	4.5	e12m39.1	0-9	10.1 ^b	5.3
10.1	SL28	1.2	0.4	5.8	0.4	G89d	1	4.1 ^b	9.7
11.2	MRT	6.1	1.5	3.9	3.1	C189	0-22	15.2 ^b	17 ^b
	TPM	5.0	0.4	0.6	0.4	C189	0	2.9	8.2
12.1	SL28	6.2	0.2	0.0	0.1	G124	1	0.3	0.3

^a Data is also presented in Fig. 2

^b Indicates significant effect for G and G × T interaction at a q level of 20%, based on Storey and Tibshirani (2003), who present the q-value as a FDR-based measure of significance for genome-wide studies. Tests at all markers were considered in the computation of q-values

Boer *et al.*(2007)利用兩個玉米自交系為親本，以雜交後代F₂開始自交產生 990 個F₅系統，分別栽種於兩年度共計 12 個地點的環境下，同時考慮QTL、環境及QTL×環境間的交互作用(QEI, QTL-Environment-Interaction)效應。為簡化分析，將環境效應重新分配到新的環境共變數(Environmental covariates)，包含經緯度(Latitude and Longitude)、灌溉(irrig)以及各生育期的最高(TM_{XA})、最低溫度(TM_{NA})與水份逆境(WS)等，各環境共變數與原始環境變數的關係如圖 5 所示。其中第i基因型(G)、第j環境(E)、第r重複下的性狀表現型迴歸模式為： $y_{ijr} = \mu + E_j + G_{ij} + \varepsilon_{ijr}$ 。

由於遺傳效應項 G_{ij} 又包含交互效應部分，故可改寫成： $G_{ij} = x_{iq}(\alpha + \beta z_j + \delta_j) + \sum_{c \in S, c \neq q} a_{jc} x_{ic} + g_{ij}$ ，其中 α 為 QTL 主效應， β 為斜率係數，為所選 QTL 對環境共變數的反應， z_j 為環境共變數， δ_j 為該環境剩餘的 QTL 效應。

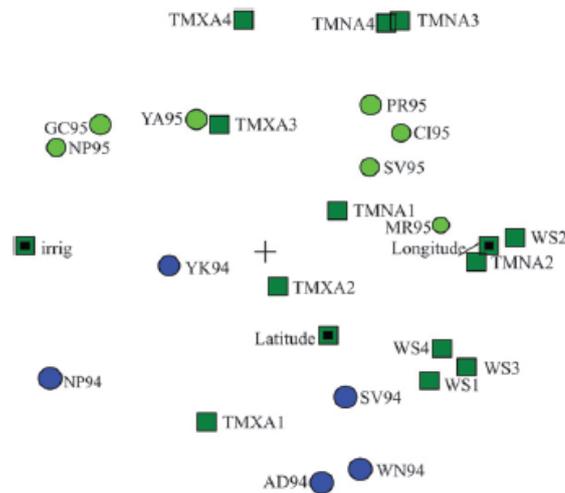


圖 5. 圖示環境效應資料，圓形表不同環境，其中 1994 年為藍色、1995 年為淺綠色，環境共變數以正方形表示。

Fig 5. Biplot for environmental classification data. The circles are the environments, with 1994 in blue and 1995 in light green. The environmental covariates are indicate by squates.

(Boer *et al.*, 2007)

結果發現，以產量為例，在第 6、8、9、10 染色體上具有顯著 QTL 主效應，第 4、7 染色體上則出現 QTL × 環境間交感作用(如圖 6)。環境效應方面，以遺傳背景均一的兩親本為材料，發現第 7 染色體只有 A 親本表現，而第 8 染色體只有 B 親本表現，呈現顯著的年度間差異。因此 Boer *et al.*(2007) 等認為，數量性狀具有 QTL × 環境間交感作用，且此種交感作用可由 QTL 對環境共變方的反應來加以解釋。因此研究上除了應該注意 QTL 本身的主效應外，對於交感效應也應該加以注意，並應該儘可能透過試驗設計方式蒐集足夠的環境資訊，才能提供更精準的結果⁽²⁾。

結語

作物重要農藝性狀大多屬於數量性狀，這些數量性狀本身是由大量的微效基因或數量基因控制，因此必須透過統計學的方式來推估某處存在控制此一數量性狀的基因群的機率及其影響效應的大小，將整群基因簡化為數量性狀基因座(QTL)來進行操作。而無法像單一等位基因控制的性狀那樣，可以經由簡單的公式推算各世代分離比例，從而預估試驗改良的結果。

由於性狀表現是由基因、環境及基因與環境間交感作用，產生非常錯綜複雜的關係，因此也使得分析及定位 QTL 的工作變得十分困難。經由眾多學者不斷努力，提出各種數學模式來解釋性狀表現型的變異組成，並進而估算

各種變異成分的效應大小，包括 QTL 主成分、不同 QTL 間、不同環境間及 QTL×環境間의 交感作用等不同的效應，如此得以將各種非遺傳成分排除，並配合不同環境下 QTL 表現的特性，選擇最合適的試驗方法來提升準確度，使得 QTL 定位的精確度得以提昇。

參考文獻

1. Boer, M. P., C. J. F. ter Braak, and R. C. Jansen. 2002. A penalized likelihood method for mapping epistatic quantitative trait loci with one-dimensional genome searches. *Genetics* 162:951-960.
2. Boer, M. P., D. Wright, L. Feng, D. W. Podlich, L. Luo, M. Cooper, and F. A. van Eeuwijk. 2007. A mixed-model quantitative trait loci (QTL) analysis for multiple-environment trial data using environmental covariables for QTL-by-environment interactions with an example in maize. *Genetics* 177:1801-1813
3. Eshed, Y., and D. Zamir. 1996. Less-than-additive epistatic interactions of quantitative trait loci in tomato. *Genetics* 143:1807- 1817.
4. Jansen, R. C., and P. Stam. 1994. High resolution of quantitative traits into multiple loci via interval mapping. *Genetics* 136:1447-1455.
5. Jannink, J. L., and R. C. Jansen. 2001. Mapping epistatic quantitative trait loci with one-dimensional genome searches. *Genetics* 157:445-454.
6. Ketata, H., E. L. Smith, L. H. Edwards, and R. W. McNew. 1976. Detection of epistatic, additive, and dominance variation in winter wheat (*Triticum aestivum* L. em Thell.) *Crop Sci.* 16:1-4.
7. Lander, E. S., and D. Botstein. 1989. Mapping mendelian factors underlying quantitative traits using RFLP linkage maps. *Genetics* 121:185-199.
8. MacMillan, K., K. Emrich, H. P. Piepho, C. E. Mullins and A. H. Price. 2006a. Assessing the importance of genotype × environment interaction for root traits in rice using a mapping population. I: A soil-filled box screen. *Theor. Appl. Genet.* 113:977–986.
9. MacMillan, K., K. Emrich, H. P. Piepho, C. E. Mullins and A. H. Price. 2006b. Assessing the importance of genotype × environment interaction for root traits in rice using a mapping population. II: Conventional QTL analysis. *Theor. Appl. Genet.* 113:953–964.
10. Soller, M., and T. Brody. 1976. On the Power of experimental designs for the

- detection of linkage between marker loci and quantitative loci in crosses between inbred lines. *Theor. Appl. Genet.* 47:35-39.
11. Zhao, W., J. Zhu, M. Gallo-Meagher, and R. Wu. 2004. A unified statistical model for functional mapping of environment-dependent genetic expression and genotype \times environment interactions for ontogenetic development. *Genetics* 168:1751-1762.
 12. Zhuang, J. Y., H. X. Lin, J. Lu, H. R. Qian, S. Hittalmani, N. Huang, and K. L. Zheng. 1997. Analysis of QTL \times environment interaction for yield components and plant height in rice. *Theor. Appl. Genet.* 95:799-808.