



猪 2、7 和 8 号染色体上影响血常规指标的 QTL 检测*

巩元芳^{1) 2)} 卢昕¹⁾ 王志鹏¹⁾ 李珊¹⁾ 邱小田¹⁾ 张勤^{1) **}

(¹⁾ 农业生物技术国家重点实验室, 农业部畜禽遗传育种重点开放实验室, 中国农业大学动物科技学院, 北京 100193;

(²⁾ 河北科技师范学院动物科学系, 河北昌黎, 066600)

摘要 以 3 个品种 (长白猪、大白猪、松辽黑猪) 16 个公猪家系共计 368 头仔猪组成资源群体, 在猪 2、7 和 8 号染色体上共选取 35 个微卫星标记, 采用基于线性混合模型的方差组分分析方法, 对影响与猪白细胞、红细胞和血小板相关的共计 18 项血常规指标的 QTL 进行了检测. 通过似然比检验, 并以自由度为 2 的卡方分布作为检验统计量的分布, 共发现 22 个在 $P \leq 0.05$ 水平下显著的 QTL, 其中在 2 号染色体上有 9 个, 分别影响白细胞总数、中性粒细胞数、平均红细胞体积、血红蛋白含量、平均红细胞血红蛋白浓度、血小板总数、平均血小板体积、血小板分布宽度和血小板压积; 在 7 号染色体有 7 个, 分别影响白细胞总数、中性粒细胞数、平均红细胞血红蛋白浓度、血红蛋白含量、血小板总数、平均红细胞体积和红细胞分布宽度变异; 在 8 号染色体上有 6 个, 分别影响中性粒细胞百分比、淋巴细胞百分比、平均红细胞血红蛋白浓度、血小板总数、血小板压积和平均红细胞体积. 为尽可能地避免由于多重检验所造成的假阳性率的升高, 我们采用了控制 FDR (false discovery rate) 的方法来对这 22 个 QTL 进行进一步检验, 发现有 14 个达到 $FDR < 5\%$ 显著水平, 其中又有 9 个达到 $FDR < 1\%$ 显著水平.

关键词 猪, 血常规指标, QTL, 方差组分分析, FDR

学科分类号 S828.2

*国家重点基础研究发展计划资助项目 (2006CB102104)

**通讯联系人.

Tel: 010-62732634, E-mail: qzhang@cau.edu.cn.

收稿日期: 2008-03-18, 接受日期: 2008-08-05

疾病,尤其是传染性疾病,是影响养猪生产效率和食品安全的重要因素.在过去的几十年中,猪的生产性能有了大幅度的提高,但是,传染性疾病对养猪业的威胁和危害却并没有减弱,相反,还有越来越严重的趋势.疾病对养猪业的危害是多方面的,它不仅造成猪只死亡、生产性能降低、生产成本增加、遗传改良速度受阻等等,还严重影响食品安全,威胁人类健康.长期以来,人们主要从两个方面采取措施来减少疾病所造成的危害,一是改善环境条件,减少病原体的传播途径,二是进行药物预防和治疗.但是这些措施并不是总能奏效或效果有限.近年来,由于消费者对药物残留所导致的食品安全问题越来越重视,药物预防和治疗措施受到了很大的限制.另一方面由于病原微生物的抗药性的增强和变异性的增加,药物预防和治疗难度越来越大.这迫使人们越来越多地从另一个角度考虑如何降低疾病的危害,即通过抗病育种从遗传上提高猪只个体对传染性疾病的抵抗能力.动物对传染性疾病的抗病性分为先天性免疫和获得性免疫两个方面,对多数传染性疾病来说,个体的抵抗能力是先天性免疫和获得性免疫共同作用的结果.而无论先天性免疫还是获得性免疫都或多或少受其遗传基因的控制.有些抗病性是由单基因控制的,但对大多数疾病,尤其是传染性疾病,抗病性是由多个基因共同影响的,而其中有些个别基因(QTL或主效基因)会起着较大的作用,因此,对这些单基因或QTL进行检测定位对于抗病育种具有重要意义.

随着DNA分子标记不断增加和猪基因组研究的深入开展,许多控制猪数量性状的QTL或主效基因逐渐被发现,并已成功定位到染色体的相应区段^[1],这些QTL的发现对于揭示数量性状的遗传机理,提高育种效益具有重要意义^[2].Hu等^[3,4]将目前已报道与猪各类性状相关的QTL汇总在一个可供在线搜索查询的数据库中(<http://www.animalgenome.org/QTLdb/pig.html>),从该数据库可看出,在目前所报道的近1700个QTL中,绝大部分是与生长发育、肉质、繁殖和外貌有关的QTL,而与免疫或抗病性状有关的QTL却非常有限.其原因主要是这类性状度量较复杂,指标难以确定,测定成本较高等.

动物的血液与机体的免疫功能密切相关.血液中的某些常规生化指标是反应机体健康状况及抗病能力的重要参数.动物的血常规指标分为3大类,即白细胞数及其分类、红细胞和血小板.白细胞是一类有核细胞,在正常动物的血液中常见的白细胞主要包括中性粒细胞、淋巴细胞和单核细胞.白细胞是机体的防卫细胞,它参与机体对细菌、病毒等异物入侵时的察觉和反映过程.细菌或病毒侵犯机体遇到的最初抵抗就来自于白细胞,因此机体反映的最初变化就是白细胞升高或降低.中性粒细胞和单核细胞均具有吞噬作用,前者较强后者较弱,但当单核细胞转变为巨噬细胞后,其吞噬能力大大加强.淋巴细胞是一种具有特异性免疫功能的细胞,可进一步分为T淋巴细胞和B淋巴细胞,分别执行细胞免疫功能和体液免疫功能.红细胞是血液循环中最重要的固有免疫细胞,具有识别、黏附、浓缩、杀伤抗原、清除循环免疫复合物的能力,参与机体免疫调控,并有完整的自我调控系统.20世纪60年代以来已确证血小板有吞噬病毒、细菌和其他颗粒物的功能,尤其因为其能吞噬病毒而引人注目.在血小板内没有核遗传物质,被其吞噬的病毒将失去增殖的可能.在人类临床上常见到患病毒性疾病时总伴随血小板减少症,因此血小板有可能与皮肤、粘膜和白细胞一样是构成机体对抗病毒的一道防线.

Edfors-Lilja等^[5]在欧洲野猪与瑞典约克夏猪的杂交F₂代群体中(200头)检测了影响猪部分免疫性状的QTL,在所研究的免疫性状中有4个QTL达到染色体水平显著,分别是白细胞总数(WBC)、促分裂原诱导增值(PWM)、对*E.Coli*抗原K88和对*E.Coli*抗原O₁₄₉的体液应答,它们分别位于1号、4号、5号和6号染色体上.Edfors-Lilja等^[6]还针对猪在应激状态下免疫应答相关的QTL进行了研究,在野猪与约克夏猪的杂交F₂代群体中(154头)定位了猪应激状态下影响白细胞总数和其功能变化的QTL,共发现了4个在染色体水平呈显著效应的QTL,分别是应激后中性粒细胞数量的改变、应激后自发性增值、应激后促分裂原诱导的IL-2的活性和应激后有丝分裂诱导的IL-2的活性,它们分别在8号、2号、6号和12号染色体上.2005年Wattrang等^[7]进一步确认了影响猪白细胞总数、血液参数和白细胞功能的QTL在1号和8号染色体上.Reiner等^[8]2007年在梅山猪与皮特兰猪杂交的F₂群体(139头)中检测到了43个影响红细胞性状(HCT、HB、RBC和MCHC)的QTL,它们分布在16条染色体上,其中12个QTL在基因组水平上呈显著效应,31个QTL在染色体水平上呈显

著效应.

本研究利用由3个品种（长白猪、大白猪、松辽黑猪）16个公猪家系组成的资源群体（共计445头试验猪），在猪的2号、7号和8号染色体上共选取35个微卫星标记，检测了影响白细胞总数、红细胞总数和血小板总数等18项血常规指标的QTL，目的为将来进一步精细定位、标记辅助选择和位置克隆等工作提供分子理论依据.

1 材料方法

1.1 试验猪群

试验猪来自中国农科院实验动物场，包括长白猪、大白猪和松辽黑猪3个品种，其中长白猪有5个公猪家系87头仔猪，大白猪有7个公猪家系191头仔猪，松辽黑猪有4个公猪家系90头仔猪. 所有试验猪身体健康，在常规饲养环境下饲养.

1.2 免疫指标的测定

试验仔猪20日龄进行第一次采血，21日龄接种猪瘟疫苗，35日龄进行第二次采血. 对两次采集的血样进行了以下3类血常规指标的测定（在北京西苑医院用TEK-II迷你自动血液分析仪测定）：

白细胞：包括白细胞总数（WBC），中性粒细胞数目（GRAN），淋巴细胞数目（LYMF），单核细胞数目（MONO），中性粒细胞百分比（GR%），淋巴细胞百分比（LY%）和单核细胞百分比（MO%）.

红细胞：包括红细胞总数（RBC），血红蛋白含量（HGB），红细胞压积（HCT），平均红细胞体积（MCV），平均红细胞血红蛋白含量（MCH），平均红细胞血红蛋白浓度（MCHC）和红细胞分布宽度变异（RDW）.

血小板：包括血小板总数（PLT），平均血小板体积（MPV），血小板分布宽度（PDW）和血小板压积（PCT）.

1.3 微卫星标记的选择

根据等位基因数在3个以上、标记间距离平均在10cM 左右的原则，从已遗传定位于家猪2号、7号和8号染色体上的微卫星标记（<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/mapview>）中通过预备PCR 实验选取35个标记，进行正式的微卫星分析. 最后用于QTL分析的标记及其在染色体上的相对位置见表1.

Table 1 Marker name and relative position the 35 microsatellite in this research

2号染色体		7号染色体		8号染色体	
标记名	相对位置 (cM)	标记名	相对位置 (cM)	标记名	相对位置 (cM)
SWC9	0.6	SW2564	0.0	KS174	8.5
SW2623	9.8	SW1354	22.3	SW1702	29.6
SW256	19.2	SW2155	32.9	SW933	46.3
S0141	31.2	SW1369	48.2	SW1070	56.1
SW2513	42.0	SWR74	58.9	SE47610	63.0

SW1564	55.0	S0102	70.1	KS139	74.0
SW14	74.8	SWR1806	80.8	S0225	82.8
SW1408	88.5	SW147	90.1	SW763	92.4
SW1879	102.1	SW252	99.4	SW1671	99.0
		SW1083	109.5	SW61	112.3
		SW581	123.8	KS188	121.0
		S0101	134.9	SW1980	126.1
		S0212	141.2		
		SW1380	156.6		

1.4 标记的 PCR 扩增及基因型的分型

采集新鲜猪耳组织, 利用酚仿抽提法进行基因组DNA的提取. PCR 反应体积为20 μ l, 其中包括: 50ng genomic DNA 1 μ l, 10 $\times$ Buffer (含15mmol/L MgCl₂) 2 μ l, 10mmol/L dNTPs 1.6 μ l, 10 μ mol/L的上下游 primer 各0.4 μ l, 5U/ μ l TaqDNA聚合酶0.1 μ l. 反应结束后分别取1 μ l 3~4个标记的 PCR 产物混合, 再加入6~8 μ l 去离子甲酰胺与ROXTM-350内标混合液(100:1), 混匀后置于95 $^{\circ}$ C变性5min, 然后用ABI 377 DNA sequencer 测定微卫星标记的扩增片段大小. 最后用GeneScan3.7软件进行基因型的分型.

1.5 QTL 分析

利用基于约束最大似然法的方差组分分析方法^[9-11], 通过MQREML软件^[11]进行猪血常规指标QTL的定位和分析, 所用的模型为:

$$y = Xa + cb + Zu + Tv + e$$

$$u \sim N(0, A\sigma_u^2), v \sim N(0, Q\sigma_v^2), e \sim N(0, I\sigma_e^2), Cov(u, v') = 0$$

其中, y是35日龄某一血常规指标测定值向量, a是固定效应向量, 包括品种效应(3个)、性别效应(2个)和采样批次效应(3个), c是20日龄该血常规指标测定值向量, b是35日龄血常规指标对20日龄血常规指标的回归系数, u是多基因效应向量, v是QTL等位基因效应向量, e是随机残差效应向量, X、Z和T分别是a、u和v的关联矩阵, A是个体间的加性遗传相关矩阵, σ_u^2 是多基因加性遗传方差, Q是QTL等位基因间的IBD (identical by decent) 概率矩阵, σ_v^2 是QTL等位基因效应方差, I是单位矩阵, σ_e^2 是随机残差方差.

对每一条染色体, 以1cM为步长, 从左向右进行QTL扫描, 对于每一个特定的染色体位置, 采用约束最大似然法估计3个方差组分, 并用以下似然比作为检验统计量来检验QTL的存在与否

$$LR = -2 \ln \frac{L_{MAX} | H_0}{L_{MAX} | H_A}$$

其中 $L_{MAX} | H_0$ 和 $L_{MAX} | H_A$ 分别是在原假设(不存在QTL)和备择假设(存在QTL)下性状观察值的约束最大似然函数值, 该统计量的严格分布是未知的, 理论上我们可以通过数据重排 (data permutation) 的方法来确定LR的经验分布^[12], 但由于计算量太大, 数据重排检验不具有实际可操作性. Grignola等^[10]通过模拟研究证明LR统计量近似服从自由度为1~2之间的 χ^2 分布. 在本研究中, 我们以自由度为2的 χ^2 分布作为LR的分

布. 同时, 为了尽可能地避免由于多次检验所造成的假阳性率的升高, 我们采用了控制假检出率 (false discovery rate, FDR) 的方法^[13, 14]来确定实际的显著性阈值. 对于某一给定的阈值, FDR可用下式计算

$$FDR = \frac{mP_{MAX}}{n}$$

其中m是需要检验的次数, 对于本研究来说, 共有18项性状, 有3条染色体, 所以需要检验的次数是18×3=54, n是超过所给定的阈值的QTL的数目, P_{MAX} 是在这些QTL所对应的P值中取值最大的P值. 由此, 我们可以选择一个合适的阈值, 从而将假检出率控制在可接收的范围 (如5%或1%) 内.

2 结果与讨论

表2列出了对于自由度为2的 χ^2 分布, LR值超过5%水平临界值 (5.9915) 的QTL, 其中在2号染色体上有9个, 7号染色体上有7个, 8号染色体上有6个, 最大的P值为0.038112994, 最小的P值为2.36797E-05. 如果控制FDR<0.05 (最大P值为0.012464134), 则有14个QTL达到显著, 如果控制FDR<0.01 (最大P值为0.001285805), 则有9个QTL达到显著. 图1显示了在FDR<0.05水平下达到显著的14个QTL的LR值在染色体上的分布曲线.

Table 2 Results of QTL mapping for haematological traits on SSC2, SSC7 and SSC8

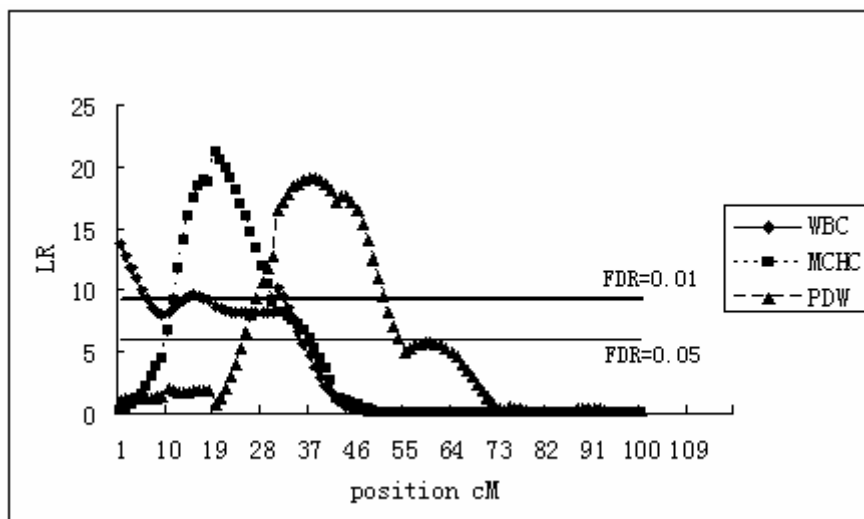
染色体	性状 ^a	位置 (cM)	LR 值	P 值	邻近标记		QTL 方差贡献 $\sigma_v^2 / (\sigma_v^2 + \sigma_u^2)$
					左	右	
2 号 染 色 体	WBC	1	13.7965	0.001009551**	SWC9	SW2623	0.395
	GRAN	1	6.2683	0.038112994	SWC9	SW2623	0.27675
	MCHC	19	21.3018	2.36797E-05**	SW2623	SW256	0.49998
	MPV	21	10.4794	0.005301847*	SW256	S0141	0.4999
	HGB	30	9.3291	0.009423346*	SW256	S0141	0.3675
	PLT	37	8.0562	0.0178084	S0141	SW2513	0.31
	PDW	37	19.1156	7.06481E-05**	S0141	SW2513	0.495
	PCT	37	17.8878	0.000130534**	S0141	SW2513	0.4814
	MCV	50	13.3127	0.001285805**	SW2513	SW1564	0.499998
7 号 染 色 体	RDW	52	14.2573	0.000801801**	SW1369	SWR74	0.35625
	PLT	71	7.4387	0.024249361	S0102	SWR1806	0.34
	MCHC	95	17.4322	0.000163925**	SW147	SW252	0.49998
	WBC	124	8.7698	0.012464134*	SW581	S0101	0.444375
	GRAN	124	9.4972	0.008663816*	SW581	S0101	0.1875
	HGB	138	7.3613	0.025206333	S0101	S0212	0.394875
	MCV	142	7.0222	0.029864046	S0212	SW1380	0.30375
8 号 染 色 体	MCV	30	13.4516	0.001199561**	SW1702	SW933	0.49998
	LY%	32	6.6178	0.036556364	SW1702	SW933	0.41475
	PLT	39	9.8861	0.007132739*	SW1702	SW933	0.305
	MCHC	83	7.0140	0.02998674	S0225	SW763	0.3925

体	GR%	84	6.8000	0.03337327	S0225	SW763	0.2333
	PCT	108	14.6083	0.000672741**	SW1671	SW61	0.49992

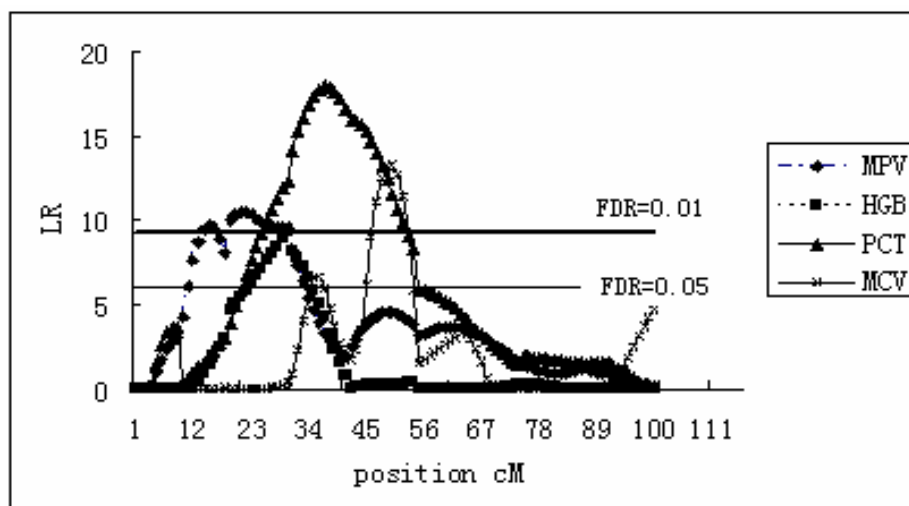
a: WBC: 白细胞总数, GRAN: 中性粒细胞数, LY%: 淋巴细胞百分比, GR%: 中性粒细胞百分比, HGB: 血红蛋白含量, MCV: 平均红细胞体积, MCHC: 平均红细胞血红蛋白浓度, RDW: 红细胞分布宽度变异, PLT: 血小板总数, PDW: 血小板分布宽度, PCT: 血小板压积, MPV: 平均血小板体积.

*FDR<0.05, **FDR<0.01

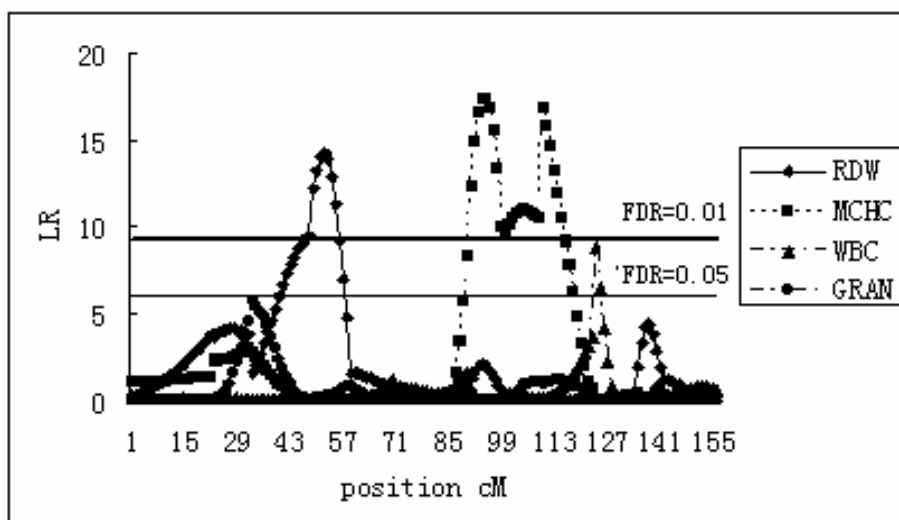
(a)



(b)



(c)



(d)

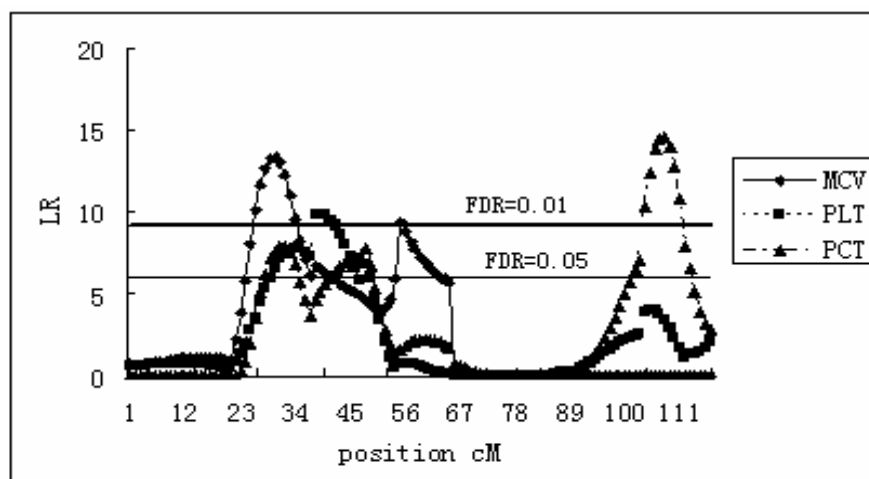


Fig.1 QTL mapping results of haematological traits on SSC2 (a, b), SSC7 (c) and SSC8 (d).

The X-axis indicates the relative position on the linkage map; the Y-axis represents the likelihood-ratio. The line indicates FDR significance level.

2.1 有关白细胞的 QTL

白细胞是动物免疫系统的重要组成部分, 白细胞主要包含三种成分, 即中性粒细胞、淋巴细胞和单核细胞. 本研究分别在2号染色体的1cM处和7号染色体的124cM处发现了可能影响白细胞总数(WBC)的QTL, 其显著性水平分别达到 $FDR < 0.01$ 和 $FDR < 0.05$. Edfors-Lilja等^[5]1998年在欧洲野猪和约克夏猪构建的F2代群体中(200头)和Wattrang等^[7]2005年在长白猪和约克夏猪的杂交公猪家系中(191头)均把显著影响白细胞总数的QTL定位在1号染色体上, 但并未在2号和7号染色体上发现有影响WBC的QTL存在. 对于中性粒细胞, 本研究在与WBC相关QTL的相同位置上, 即2号染色体的1cM处和7号染色体的124cM处, 同时发现了可能影响中性粒细胞数目(GRAN)的QTL, 分别达到卡方 $P \leq 0.05$ 显著水平和 $FDR < 5\%$ 显著水平, 此外还在8号染色体的84cM处(在S0225和SW763之间)检测到了一个影响中性粒细胞百分比的达到卡方 $P \leq 0.05$ 显著水平的QTL, 这一结果与Edfors-Lilja等^[6]的研究结果有相似之处, Edfors-Lilja等^[6]2000年在欧洲野猪和约克夏

猪构建的F2代资源群体中(200头), 试验猪在3月龄时经混群转运应激一天后测定免疫应答指标, 在标记PDGFRA和S0168之间发现一个影响中性粒细胞数目改变的QTL, 这个位置与我们所定位的位置大约相隔40cM, 但他们在这一染色体的另一位置, 即标记S0086和S0069之间也发现了一个显著程度与前一位置相近的QTL, 该位置与我们所定位的位置大约相隔20cM. 对于淋巴细胞, 本研究首次在8号染色体的32cM处(在SW1702和SW933之间)发现了一个可能影响淋巴细胞百分比(LY%)的达到卡方 $P \leq 0.05$ 显著水平的QTL. 对于单核细胞, 本研究在所分析的3条染色体上未发现与之相关的QTL.

2.2 有关红细胞的 QTL

与红细胞有关的血常规指标包括红细胞总数(RBC)、血红蛋白含量(HGB)、平均红细胞体积(MCV)、平均红细胞血红蛋白浓度(MCHC)和红细胞分布宽度变异(RDW). 由表2和图1可知, 本研究在所分析的3条染色体上都检测到了与这些指标有关的QTL, 其中与影响血红蛋白含量(HGB)的QTL存在于2号和7号染色体上, 分别达到FDR<5%显著水平和卡方 $P \leq 0.05$ 显著水平; 影响平均红细胞体积(MCV)的QTL存在于全部3条染色体上, 分别达到FDR<1%显著水平、卡方 $P \leq 0.05$ 显著水平和FDR<1%显著水平; 影响平均红细胞血红蛋白浓度(MCHC)的QTL也存在于所有3条染色体上, 分别达到FDR<1%显著水平、FDR<1%显著水平和卡方 $P \leq 0.05$ 显著水平; 影响红细胞分布宽度变异(RDW)的QTL被定位在7号染色体上, 达到FDR<1%显著水平. Watrang等^[7]在野猪和约克夏猪的回交群体中(47头)检测到影响HGB的QTL在8号染色体上的KIT和S0086区域内, 这一结果在本研究中未得到证实. Reiner等^[8]在梅山猪与皮特兰猪的F2群体中(139头), 在进行特殊囊包体病原微生物攻毒后的第0天、第14天、第28天和第42天分别测定HGB、RBC、HCT和MCHC等4个指标, 通过全基因组扫描, 共发现了43个达到染色体5%显著水平以上的影响这4个指标的可能QTL, 但对于攻毒后的不同时间, 影响同一指标的QTL被定位在不同染色体上, 这说明攻毒后的不同时间的免疫反应可能是由不同的QTL控制的. 与本研究结果相比较, 他们在7号染色体的66cM处(LTA和SW2428之间)检测到影响攻毒后第0天HGB的QTL, 这与我们在7号染色体上发现的影响HGB的QTL大约相隔50cM; 在2号染色体的33cM处(SW1650和SW240之间)检测到了影响攻毒后第42天HGB的QTL, 这与我们在2号染色体上发现的影响HGB的QTL大约相隔10cM; 在7号染色体的73cM处(LTA和SW2428之间)检测到了影响攻毒后14天MCHC的QTL, 这与我们在7号染色体上发现的影响MCHC的QTL大约相隔10cM. 此外, 他们还在2号、7号和8号染色体上检测到了将影响RBC和HCT的QTL, 但我们在这3条染色体上均未检测到影响这两个免疫指标的QTL.

2.3 有关血小板的 QTL

截止到目前为止, 在国内外相关期刊上还未见有关血小板QTL的定位报道, 本研究首次将影响血小板总数(PLT)的QTL定位在2号染色体的37cM处、7号染色体的71cM处和8号染色体的39cM处, 分别达卡方 $P \leq 0.05$ 显著水平、卡方 $P \leq 0.05$ 显著水平和FDR<5%显著水平; 将影响血小板压积(PCT)的QTL定位在2号染色体的37cM处和8号染色体的108cM处, 均达到FDR<1%显著水平; 将影响平均血小板体积(MPV)和血小板分布宽度(PDW)的QTL定位在2号染色体的21cM处, 达到FDR<5%显著水平. 值得注意的是在2号染色体上影响PLT、PCT和PDW的QTL都被定位在37cM, 因此有理由推断在这个位置上可能存在一个对这3个指标都有影响的QTL, 而且在此染色体上还有一个影响MPV的QTL, 它与这个QTL仅相距16cM, 可见这4个指标彼此之间的关系是非常密切的. 因为这些指标一方面反映骨髓中巨核细胞的增生、代谢及血小板生成情况, 另一方面也与循环中血小板的年龄密切相关. 体积大的血小板为年青血小板, 其胞质致密度低, 代谢活跃. 由于机体的免疫作用, 衰老的体积小的血小板破坏增多, 导致PLT减少, 而年青的大血小板相对增多, 致使MPV 值变大, PCT 减低和PDW增高.

动物的免疫系统具有高度的敏感性, 可对各种外来刺激(如微生物或异源物质的入侵、环境的突然改变等)产生免疫应答, 从而维护机体健康. 产生这种免疫应答的遗传机理也非常复杂, 目前还不清楚, 对不同外来刺激、在不同时间的免疫应答是否具有相同的遗传机制, 但可以想象的是, 即使它们具有不同的遗传机制, 彼此之间也应存在一定的联系. 在不同的对免疫应答的QTL分析的研究中, 由于所给与的外来刺激不同, 如Edfors-Lilja等^[6]以混群和转群所导致的异常环境作为刺激, Reiner等^[8]的以特殊囊包体病原微生物攻毒作为刺激, 而在本研究中, 我们采用注射猪瘟疫苗作为刺激, 因而, 对于同一免疫应答指标, 不同研究得到的QTL检测结果并不具有严格的可比性. 但通过对这些研究结果的比较, 我们可以初步了解它们之间的关系. 需要注意的是, 在所有的关于QTL研究结果的报道中, 都有存在假阳性的可能, 因而不能仅根据有限的几次研究结果就妄下结论, 只有经过大量反复的研究, 加以综合比较分析, 才能得出较为可靠的结论. 本研究只对猪部分染色体进行了影响血常规指标 QTL 的初步检测定位, 要全面揭示影响猪免疫能力的 QTL, 还需要进行全基因组的扫描, 并对更多的免疫性状进行分析, 在初步检测定位的基础上进行 QTL 的精细定位, 进而通过位置候选克隆来寻找相关功能基因, 在这个领域中我们还有大量艰苦的工作要做.

参 考 文 献

- 1 Rothschild M F, Hu Z L, Jiang Z H. Advances in QTL Mapping in Pigs. *Int J Biol Sci*, 2007, 3(3): 192~197
- 2 Dekkers J C, Hospital F. The use of molecular genetics in improvement of agricultural populations. *Nature Reviews Genetics*, 2002, 3(1): 22~32
- 3 Hu Z L, Dracheva S, Jang W, *et al.* A QTL resource and comparison tool for pigs: PigQTLDB. *Mamm Genome*, 2005, 16(10): 792~800
- 4 Hu Z L, Fritz E R, Reecy J M. AnimalQTLdb: a livestock QTL database tool set for positional QTL information mining and beyond. *Nucleic Acids Research*, 2007, 35(Database issue): D604~609
- 5 Edfors-Lilja I, Wattrang E, Marklund L, *et al.* Mapping quantitative trait loci for immune capacity in the pig. *The Journal of Immunology*, 1998, 161: 829~835
- 6 Edfors-Lilja I, Wattrang E, Anderesson L, *et al.* Mapping quantitative trait Loci for stress induced alterations in porcine leukocyte numbers and functions. *Animal Genetics*, 2000, 31: 186~193
- 7 Wattrang E, Almqvist M, Johansson A, *et al.* Confirmation of QTL on porcine chromosomes 1 and 8 influencing leukocyte numbers, haematological parameters and leukocyte function. *Animal Genetics*, 2005, 36: 337~345
- 8 Reiner G, Fischer R, Hepp S, *et al.* Quantitative trait loci for red blood cell traits in swine. *Animal Genetics*, 2007, 38(5): 447~452
- 9 Grignola F E, Hoeschele I, Tier B. Mapping quantitative trait loci in outcross populations via residual maximum likelihood. I. Methodology. *Genet Sel Evol*, 1996a 28: 479~490
- 10 Grignola F E, Hoeschele I, Zhang Q, *et al.* Mapping quantitative trait loci in outcross populations via residual maximum likelihood.II. A simulation study. *Genet Sel Evol*, 1996b, 28:491~504
- 11 Zhang Q, Boichard D, Hoeschele I, *et al.* Mapping quantitative trait Loci for milk production and health of dairy cattle in a large outbred pedigree. *Genetics*, 1998, 49: 1959~1973
- 12 Churchill G A, Doerge R W. Empirical Threshold Values for Quantitative Trait Mapping. *Genetics*, 1994, 138: 963~971
- 13 Benjamini Y, Hochberg Y. Controlling the false discovery rate: apractical and powerful approach to multiple testing. *J R Stat Soc*, 1995, 57: 289~300
- 14 Weller J I, Song J Z, Heyen D W, *et al.* A new approach to the problem of multiple comparisons in the genetic

dissection of complex traits. Genetics, 1998, 150(4):1699~1706

Detection of quantitative trait loci affecting haematological traits on swine chromosomes 2, 7 and 8*

GONG Yuan-Fang¹⁾²⁾, LU Xin¹⁾, WANG Zhi-Peng¹⁾, LI Shan¹⁾, QIU Xiao-Tian¹⁾, ZHANG Qin^{1)**}

(¹⁾ State Key Laboratory of AgroBiotechnology, Key Laboratory Animal Genetics and Breeding of the Ministry of Agricultural, College of Animal Science and Technology, China Agricultural University, Beijing 100193, China; ²⁾ Department of Animal Science, Hebei Normal University of Science and Technology, Chang Li, Hebei 066600, China)

Abstract Haematological traits, which consist of mainly three components: leukocyte traits, erythrocyte traits and platelet traits, play extremely important role in disease resistance. But knowledge of the genetic background controlling variability of these immune traits is very limited, especially in swine. In the present study, 18 haematological traits including white blood cell count (WBC), neutrophilic granulocyte count (GRAN) and percentage (GR%), lymphocyte count (LYMF) and percentage (LY%), monocytes count (MONO) and percentage (MO%), red blood cell (RBC), hemoglobin (HGB), hematocrit (HCT), mean corpuscular volume (MCV), mean corpuscular hemoglobin (MCH), mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC), red blood cell volume distribution width (RDW), blood platelet counts (PLT), mean platelet volume (MPV), platelet distribution width (PDW), and plateletcrit (PCT) were measured in a pig resource population consisting of 368 piglets of three breeds (Landrace, Large White and Songliao Black Pig) distributed in 16 boar families, after inoculation with the swine fever vaccine at 21 days of old. A partial genome scan for mapping quantitative trait loci (QTL) for these traits was performed using 35 microsatellite markers on chromosomes 2, 7, and 8. Using variance component analysis based on a linear mixed model and likelihood ratio test based on a chi-square distribution with 2 degrees of freedom, 22 significant QTL ($P \leq 0.05$) were identified: 9 on chromosome 2 affecting WBC, GRAN, MCV, HGB, MCHC, PLT, MPV, PDW and PCT, respectively; 7 on chromosome 7 affecting WBC, GRAN, MCHC, HGB, PLT, MCV and RDW, respectively; 6 on chromosome 8 affecting GR%, LY%, MCHC, PLT, PCT and MCV, respectively. In order to avoid the increase of false positive rate caused by multiple tests, the FDR (false discovery rate) control approach was adopted to further test these 22 QTL. The results indicated that 14 of them were significant at FDR<5% level, of which 9 were significant at FDR<1% level.

Key words pig, haematological traits, QTL, variance components analysis, FDR

* The work was supported by a grant from National Basic Research Program of China (2006CB102104)

**Corresponding author.

Tel: 010-62732634, E-mail: qzhang@cau.edu.cn

Received: March 18, 2008 Accepted: August 5, 2008