

在白色杜洛克×二花脸 F₂ 资源群体中定位猪四肢骨 骨骼长度和直径 QTL

陈从英, 郭源梅, 杨斌, 任军, 黄路生

(江西农业大学动物生物技术国家重点实验室培育基地, 南昌 330045)

摘要: 【目的】通过全基因组扫描, 鉴别影响猪四肢骨骨骼长度, 股骨和肱骨的骨髓腔长度、骨髓腔直径以及股骨骨壁厚度的数量性状位点 (QTL)。【方法】在白色杜洛克×二花脸资源群体中测定 132 头 240 日龄阉割公猪 29 类四肢骨骨骼的长度、6 类四肢骨骨骼直径以及股骨和肱骨骨壁厚度、骨髓腔长度和骨髓腔直径等表型性状。选择多态信息含量丰富并覆盖猪全基因组 19 条染色体的 183 个微卫星标记, 采用最小二乘区间定位法进行猪全基因组扫描, 定位猪四肢骨骼各性状 QTL。【结果】在 39 个表型性状中定位到 14 个基因组 1% 显著水平 QTL, 14 个基因组 5% 显著水平 QTL 和 47 个染色体 5% 显著水平 QTL。除 SSC11 没有检测到 QTL 外, 其它各染色体都存在影响四肢骨骼 QTL。【结论】定位 75 个影响猪四肢骨骼性状 QTL, 在 SSC7 上 57~59 cM 发现影响多种骨骼生长的 QTL。

关键词: 四肢骨骼; 全基因组扫描; QTL 定位; 猪

Identification of QTL for Length and Diameter of Porcine Limb Bones in a White Duroc× Erhualian F₂ Resource Population

CHEN Cong-ying, GUO Yuan-mei, YANG Bin, REN Jun, HUANG Lu-sheng

(Base Area of National Key Laboratory of Animal Biotechnology, Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045)

Abstract: 【Objective】 The aim of this study was to detect quantitative trait loci (QTL) for the lengths and the diameters of porcine limb bones, the lengths and the diameters of femoral and humerus medulla antra and the thicknesses of the femoral and the humerus walls. 【Method】 Lengths of 29 limb bones, diameters of 6 limb bones, diameters and lengths of femoral and humerus medulla antra and the thicknesses of femoral and humerus walls were measured in a white Duroc × Erhualian intercross. A whole-genome scan was performed by an interval mapping based least-squares linear regression with 183 informative microsatellite markers. 【Result】 Fourteen 1% genome-wide significant QTL, Fourteen 5% genome-wide significant QTL and 47 suggestive QTL were detected for the 39 traits. Except for SSC11, QTL were identified for limb bones on all pig chromosomes. 【Conclusion】 Totally, 75 QTL for 39 traits of limb bones were mapped in this study. Many QTLs affecting limb bones growth were found at the 57-59 cM chromosome region of SSC7.

Key words: limb bones; whole genome scan; QTL; pig

0 引言

【研究意义】四肢骨骼的健康发育对猪的生长和行走及其重要。肢蹄过于纤细的个体, 因支撑骨单位面积负重过大, 易引起肢蹄损伤, 甚至骨折^[1]。另外, 具有较长四肢的个体通常体高和肩高也较高。有研究

表明, 猪的体高和肩高与背膘厚成负相关, 肩高可作为衡量猪胴体(臀部、腰部和肩部肌肉)产量指标^[2-3]。选择适中长度的四肢和躯体可保证猪完美的外形结构, 减少由于体型结构不当造成的经济损失。因此, 定位影响猪四肢骨骼长度和直径的数量性状位点(QTL), 对分离和克隆影响这些性状的主效基因以

收稿日期: 2008-07-14; 接受日期: 2008-10-05

基金项目: 国家杰出青年基金(30425045)、国家“973”前期项目(2006CB708213)

作者简介: 陈从英(1975—), 男, 江西石城人, 副研究员, 博士, 研究方向为动物分子遗传学和繁殖学。E-mail: chcy75@hotmail.com。共同第一作者郭源梅(1974—), 男, 江西遂川人, 讲师, 博士, 研究方向为分子数量遗传学。E-mail: gyuanmei@hotmail.com。通信作者黄路生(1965—), 男, 江西上犹人, 教授, 博士, 研究方向为动物分子遗传学。Tel/Fax: 0791-3805967; E-mail: Lushenghuang@hotmail.com

及改善猪四肢骨骼长度和结实度具有重要意义, 有助于认识和了解软骨生长和分化的分子机理^[4], 也可以以猪作为模式生物, 研究人类骨骼的生长和发育。【前人研究进展】研究啮齿类动物影响四肢骨骼长度 QTL 定位较多, 如 Christians 等将影响小鼠肱骨、股骨、肩胛骨、下颞骨和胫骨等骨骼长度的 QTL 定位于 1 号染色体^[5]; Leamy 等利用回交群体定位了 12 个影响小鼠四肢骨骼长度的 QTL^[6]; Kenney 等定位了 52 个影响小鼠长骨长度的 QTL^[7]; Norgard 等在 F₂、F₃ 小鼠资源群体中定位了 70 个影响长骨长度的 QTL^[8]; Drake 等在小鼠 3 号染色体和 7 号染色体分别定位了影响股骨长度和宽度的 QTL^[9]。在对人骨骼研究中, Chinappen 等将影响人股骨长度 QTL 定位于 5 号染色体^[10]。此外, 影响荷兰斯坦奶牛腿的构造和腿骨质量的 QTL 也已定位^[11], 狗^[12]和鸡^[13-15]中也已定位了影响腿骨长度的 QTL。从猪 QTL 数据库可以看出, 目前只有影响股骨直径的 QTL 定位于 2、4、16 和 17 号染色体^[16], Mao 等^[17]在白色杜洛克×二花脸 F₂ 资源群体中定位了 35 个影响猪肱骨、股骨、肩胛骨、尺骨和胫骨长度 QTL。【本研究切入点】除肱骨、股骨、肩胛骨、尺骨和胫骨外, 未见其它四肢骨骼长度或直径 QTL 定位的研究报道。本试验在构建的白色杜洛克×二花脸 F₂ 资源群体中, 测定了腓骨等四肢骨骼的长度和肱骨等骨骼直径。【拟解决的关键问题】通过全基因组扫描, 搜寻影响猪四肢骨骼的 QTL, 为分离和鉴定影响猪四肢骨骼主效基因奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验动物来自白色杜洛克×二花脸 F₂ 资源群体。该群体以 2 头白色杜洛克公猪和 17 头二花脸母猪为亲本, 杂交产生 F₁ 代, 随机选取 9 头 F₁ 公猪和 59 头 F₁ 母猪自群繁育产生 1 912 头 F₂ 个体。F₂ 群体饲养管理参考文献^[18], 选取 132 头 240 d 的 F₂ 阉割公猪进行研究。所有 F₀、F₁ 和 F₂ 个体 DNA 取自猪耳组织或尾尖组织, 常规酚/氯仿提取。在测定 DNA 浓度后, 稀释成 20 ng·μl⁻¹ 工作液, 4℃ 保存备用。

1.2 试验方法

1.2.1 猪四肢骨骼相关表型测定 F₂ 阉割公猪于 240 d 屠宰, 分离右侧前肢和后肢骨骼, 剔除肌肉和结缔组织, 用钢尺或游标卡尺测定各类型骨骼的长度和直径。之后用钢锯从中间锯断肱骨和股骨, 用游标卡尺测定其骨髓腔长度、骨髓腔直径和骨壁厚度。

1.2.2 基因型判定 根据 USDA-MARC 网站的猪连锁图谱 (<http://www.animalgenome.org/>), 选择猪 18 条常染色体和 X 染色上 183 个微卫星标记, 标记间的平均间距约为 14 cM。对所有 F₀、F₁ 个体及 132 个 F₂ 个体进行微卫星标记的基因型判定, 引物用 HEX、NED 或 FAM (Applied Biosystems, USA) 荧光标记。微卫星扩增 PCR 反应体系为: 1×PCR buffer, 0.2 mmol·L⁻¹dNTP, 0.2 μmol·L⁻¹引物, 1.5 U Taq DNA 聚合酶 (上海博彩生物技术公司)。PCR 循环参数为: 94℃ 预变性 5min; 94℃ 30 s, 引物最佳退火温度 30 s, 72℃ 延伸 40 s, 共 38 循环; 最后 72℃ 延伸 5 min。PCR 反应在 PTC-200 热循环仪 (BIO-RAD, Hercules, CA) 上进行。PCR 产物在 ABI 3130 XL 遗传分析仪 (ABI&HITACHI, Japan) 上进行毛细管电泳, 各基因型数据由 GeneMapper 3.7 软件收集和分析 (ABI, Foster City, USA)。

1.2.3 统计分析 采用 CriMAP 2.0 软件构建遗传连锁图谱^[19]。猪四肢骨骼各性状 QTL 定位采用最小二乘线性回归区间定位法^[20]。回归分析的统计模型为:

$$y_{ij} = \mu + batch_i + BW_j + c_{aj} a + c_{dj} d + e_j$$

其中, y_{ij} 为第 i 批第 j 个个体的骨骼的长度、骨壁厚度、骨髓腔长度或骨髓腔直径; μ 为群体平均值; $batch_i$ 为第 i 批次, 为固定效应; BW_j 表示为第 j 个个体的 240 d 体重, 为协变量; c_{aj} 和 c_{dj} 分别表示第 j 个个体加性效应和显性效应的系数; a 为加性效应; d 为显性效应; e_j 为第 j 个个体的残差。

所有 QTL 分析通过 QTL Express 在线软件完成 (<http://qtl.cap.ed.ac.uk/>)。每条染色体上每隔 1 cM 进行一次 QTL 分析, 从而获得一个 F 值。如果 F 值在某一条染色体上超过了临界值, 那么 F 值最大的位置被认为是 QTL 所在位置。检测到的 QTL 作为遗传背景, 用于检测其它 QTL。QTL 基因组 1% 和 5% 以及染色体显著水平的临界值通过的 1 000 次的全基因组重排法 (Permutation)^[21] 来确定。QTL 95% 的置信区间通过 2 000 次有放回的随机抽样 (Bootstrapping)^[22] 来确定。

2 结果与分析

本研究共测定了 132 头 240 d F₂ 阉割公猪腓骨等 29 类四肢骨骼的长度, 6 类四肢骨骼的直径、股骨和肱骨的骨髓腔直径、骨髓长度和骨壁厚度等表型性状。各表型的基本情况如表 1 所示。

QTL 定位结果见表 2。39 个表型性状中, 共定位

表 1 猪四肢骨骼长度和直径的简单统计

Table 1 Descriptive statistics of length and diameter of porcine limb bones

性状 Trait	个体数 Number	平均值 Mean (cm)	标准差 Std Dev	最小值 Minimum (cm)	最大值 Maximum (cm)
骨骼长度 Length of limb bones					
腓骨 Fibula	92	14.27	0.95	11.20	17.10
跟骨 Calcaneus	90	7.26	1.03	1.58	9.65
距骨 Talus	90	2.24	0.30	1.24	2.93
中央跗骨 Tarsi centrale	88	1.29	0.28	0.92	3.12
三跖骨 Metatarsale III	90	7.82	0.50	6.34	8.96
三系骨 Compedale III	90	3.35	0.32	2.63	4.24
三冠骨 Coronale III	90	2.19	0.22	1.52	3.02
三蹄骨 Ungulare III	87	2.37	0.22	1.20	2.91
四跗骨 Tarsale IV	88	1.91	0.36	1.20	3.80
四跖骨 Metatarsale IV	90	8.06	0.58	6.30	9.20
四系骨 Compedale IV	90	3.32	0.29	2.50	4.05
四冠骨 Coronale IV	90	2.14	0.25	1.50	3.16
四蹄骨 Ungulare IV	90	2.38	0.20	1.37	2.71
桡骨 Radius	94	13.07	0.97	10.30	15.40
中间腕骨 Carpi intermedium	94	1.33	0.26	0.75	2.16
桡腕骨 Carpi radiale	95	1.23	0.24	0.69	1.94
尺腕骨 Carpi ulnare	96	1.17	0.18	0.86	1.80
前肢三腕骨 Forelimb Carpale III	94	1.30	0.22	0.77	1.90
前肢三掌骨 Forelimb Metacarpale III	96	6.99	0.71	1.90	7.94
前肢三系骨 Forelimb compedale III	95	3.12	0.33	2.27	3.86
前肢三冠骨 Forelimb coronale III	95	2.00	0.23	1.55	2.76
前肢三蹄骨 Forelimb unguare III	95	2.32	0.27	1.14	3.62
前肢四腕骨 Forelimb Carpale IV	95	1.34	0.23	0.84	2.32
前肢四掌骨 Forelimb Metacarpale IV	96	6.93	0.46	5.85	8.04
前肢四系骨 Forelimb compedale IV	96	3.16	0.29	2.26	3.83
前肢四冠骨 Forelimb coronale IV	96	2.02	0.22	1.46	2.65
前肢四蹄骨 Forelimb unguare IV	95	2.38	0.23	1.43	2.98
骨骼直径 Diameter of limb bones					
股骨 Femoral	99	2.23	0.22	1.74	3.25
胫骨 Tibia	91	1.79	0.27	1.14	2.72
腓骨 Fibula	92	0.70	0.21	0.30	1.67
肱骨 Humerus	94	2.08	0.38	1.34	3.25
桡骨 Radius	94	1.51	0.36	0.98	2.70
尺骨 Ulna	94	1.85	0.71	0.75	3.61
其它 Others					
肱骨骨壁厚度 Thickness of humerus wall	86	0.70	0.13	0.44	1.30
肱骨骨髓长度 Length of humerus medulla	86	4.23	0.57	2.60	5.40
股骨骨壁厚度 Thickness of femoral wall	91	0.57	0.11	0.38	1.09
股骨骨髓长度 Length of femoral medulla	91	5.66	0.66	3.33	7.02
肱骨骨髓腔直径 Diameter of humerus medulla	63	1.15	0.24	0.60	1.77
股骨骨髓腔直径 Diameter of femoral medulla	59	1.33	0.22	0.81	1.89

表 2 猪四肢骨骼性状 QTL 定位

Table 2 QTL mapping of porcine limb bones

染色体	位置	性状	F 值	加性效应	显性效应	置信区间	解释表型
Chromosome	Location (cM)	Traits	F value	ADD ±S.E. ^a	ADD ±S.E. ^b	CI ^c (cM)	Variation(%)
1	62	三跖骨长度 Length of metatarsale III	6.58	0.114±0.064	-0.317±0.097	25.5-159.0	7.43
1	66	前肢四腕骨长 Length of forelimb carpale IV	6.63	0.119±0.037	-0.115±0.052	28.0-150.0	9.92
1	159	尺骨直径 Diameter of ulna	6.55	-0.295±0.100	-0.265±0.141	27.0-159.0	10.76
2	48	肱骨骨髓长度 Length of humerus medulla	10.25 ^d	0.240±0.065	0.271±0.104	10.0-125.0	15.39
2	120	腓骨长度 Length of fibula	5.81	-0.013±0.111	-0.500±0.151	34.5-125.0	7.92
2	39	腓骨直径 Diameter of fibula	11.59 ^d	0.063±0.021	-0.135±0.036	1.0-91.5	11.17
2	10	股骨骨壁厚度 Thickness of femoral wall	5.56	-0.006±0.014	0.068±0.021	0.0-136.0	9.28
3	0	四跖骨长度 Length of metatarsale IV	5.92	-0.210±0.068	-0.091±0.094	0.0-132.0	7.28
3	0	四系骨长度 Length of compedale IV	5.82	-0.115±0.036	-0.034±0.050	0.0-137.0	6.91
5	29	四冠骨长度 Length of coronale IV	7.95	0.056±0.046	-0.311±0.086	23.0-114.0	11.18
4	77	距骨长度 Length of talus	5.68	0.133±0.045	-0.122±0.070	0.0-120.5	9.66
4	67	三跖骨长度 Length of metatarsale III	7.31	0.182±0.054	0.145±0.074	14.5-139.0	8.38
4	70	三冠骨长度 Length of coronale III	9.06	0.078±0.028	0.126±0.039	3.5-84.0	10.36
4	68	四跖骨长度 Length of metatarsale IV	9.96 ^d	0.263±0.070	0.241±0.093	11.5-139.0	13.28
4	135	前肢三蹄骨长 Length of forelimb ungulare III	8.15	-0.089±0.041	-0.157±0.061	32.5-139.0	12.02
5	75	腓骨直径 Diameter of fibula	13.27 ^d	-0.081±0.025	-0.172±0.039	58.0-83.5	13.11
5	30	桡骨长度 Length of radius	7.60	0.449±0.175	-0.883±0.318	17.5-106.0	10.16
6	155	股骨直径 Diameter of femoral	6.37	0.049±0.026	-0.114±0.042	21.0-169.0	6.11
6	84	四跗骨长度 Length of tarsale IV	8.71	-0.197±0.053	-0.121±0.071	75.5-189.0	14.25
6	186	前肢三蹄骨长 Length of forelimb ungulare III	5.77	0.111±0.034	-0.073±0.056	26.0-189.0	8.06
7	56	股骨直径 Diameter of femoral	19.70 ^e	-0.148±0.024	-0.019±0.032	44.5-59.0	21.83
7	40	胫骨直径 Diameter of tibia	5.92	-0.145±0.048	0.110±0.073	24.0-145.0	10.00
7	112	腓骨直径 Diameter of fibula	10.80 ^d	-0.049±0.025	-0.174±0.041	60.0-118.5	10.44
7	63	中央跗骨长度 Length of tarsi centrale	9.45	-0.175±0.040	-0.007±0.056	33.0-89.0	16.32
7	58	三跖骨长度 Length of metatarsale III	14.69 ^e	-0.249±0.052	0.178±0.073	44.0-122.5	18.20
7	58	三系骨长度 Length of compedale III	12.55 ^e	-0.185±0.040	0.107±0.056	37.0-117.5	17.40
7	58	三冠骨长度 Length of coronale III	20.39 ^e	-0.162±0.026	0.049±0.038	52.0-67.0	25.10
7	74	三蹄骨长度 Length of ungulare III	6.81	-0.076±0.031	0.110±0.044	0.0-92.0	11.43
7	79	四跗骨长度 Length of tarsale IV	6.59	-0.180±0.049	0.004±0.071	18.0-131.0	10.36
7	58	四跖骨长度 Length of metatarsale IV	11.55 ^e	-0.295±0.067	0.176±0.096	41.0-124.0	15.64
7	58	四系骨长度 Length of compedale IV	21.64 ^e	-0.227±0.036	0.095±0.050	44.0-67.0	29.39
7	68	四冠骨长度 Length of coronale IV	13.63 ^e	-0.138±0.034	0.130±0.047	57.0-76.0	20.56
7	56	四蹄骨长度 Length of ungulare IV	10.30 ^d	-0.098±0.026	0.094±0.037	35.0-86.0	16.41
7	58	桡骨长度 Length of radius	16.81 ^e	-0.620±0.120	0.465±0.168	42.0-80.0	24.34
7	57	前肢三腕骨长 Length of forelimb carpale III	6.45	-0.108±0.030	0.025±0.043	0.0-97.0	10.77
7	67	前肢三系骨长 Length of forelimb compedale III	10.01 ^d	-0.191±0.045	0.043±0.060	29.0-83.0	16.42
7	59	前肢三冠骨长 Length of forelimb coronale III	20.90 ^e	-0.154±0.027	0.080±0.036	41.0-62.0	23.28
7	53	前肢四腕骨长 Length of forelimb carpale IV	9.06 ^d	-0.126±0.031	-0.069±0.041	0.0-137.0	14.05
7	58	前肢四掌骨长 Length of forelimb metacarpale IV	8.84	-0.204±0.050	0.042±0.072	18.0-109.5	10.39

续表 Continued

染色体	位置	性状	F 值	加性效应	显性效应	置信区间	解释表型
Chromosome	Location (cM)	Traits	F value	ADD±S.E. ^a	ADD±S.E. ^b	CI ^c (cM)	Variation (%)
7	59	前肢四系骨长 Length of forelimb compedale IV	20.55 ^e	-0.222±0.036	0.055±0.047	42.0-61.5	27.47
7	59	前肢四冠骨长 Length of forelimb coronale IV	10.33 ^d	-0.127±0.030	0.046±0.041	0.0-79.0	16.67
7	75	前肢四蹄骨长 Length of forelimb ungulare IV	9.48	-0.136±0.031	0.005±0.045	29.0-144.5	15.52
7	18	肱骨骨髓长度 Length of humerus medulla	7.86	-0.214±0.075	-0.258±0.105	12.0-112.0	11.39
7	53	股骨骨髓腔直径 Diameter of femoral medulla	29.93 ^e	-0.212±0.028	-0.038±0.040	52.5-73.0	45.82
8	100	桡腕骨长度 Length of radius	7.20	-0.001±0.035	-0.183±0.048	0.0-133.0	11.93
8	101	尺腕骨长度 Length of carpi ulnare	6.34	0.076±0.027	-0.075±0.038	30.0-144.5	10.18
9	100	四冠骨长度 Length of coronale IV	5.67	0.095±0.033	-0.081±0.049	7.5-133.0	7.57
9	48	四蹄骨长度 Length of ungulare IV	6.22	0.029±0.030	0.169±0.049	41.5-144.0	9.11
9	119	桡骨长度 Length of radius	6.46	0.460±0.133	0.155±0.194	22.5-132.0	8.41
9	86	前肢三冠骨长 Length of forelimb coronale III	11.28 ^d	0.126±0.027	-0.004±0.040	63.0-113.0	12.02
9	104	三系骨长度 Length of compedale III	6.58	0.143±0.043	-0.103±0.066	4.5-130.5	8.35
9	52	股骨骨髓腔直径 Diameter of femoral medulla	15.57 ^e	-0.087±0.036	0.260±0.051	39.5-67.0	23.01
9	112	股骨骨髓腔直径 Diameter of femoral medulla	8.17	0.115±0.041	-0.156±0.056	49.5-143.0	11.41
10	73	三冠骨长度 Length of coronale III	12.25 ^e	0.002±0.025	-0.187±0.038	57.0-112.0	14.54
10	34	桡骨直径 Diameter of radius	5.66	-0.131±0.058	-0.209±0.087	1.0-112.0	9.18
12	76	股骨直径 Diameter of femoral	7.79	0.077±0.028	-0.107±0.044	7.0-86.0	7.86
12	11	前肢四系骨长 Length of forelimb compedale IV	5.59	-0.040±0.037	-0.141±0.047	9.0-62.0	6.51
13	144	股骨直径 Diameter of femoral	10.77	0.118±0.025	-0.029±0.035	11.0-145.0	11.35
13	57	前肢四掌骨长 Length of forelimb metacarpale IV	7.28	0.206±0.055	-0.004±0.082	25.5-123.0	8.30
14	64	腓骨直径 Diameter of fibula	20.32 ^e	-0.116±0.022	-0.100±0.034	51.0-69.0	20.63
14	0	肱骨直径 Diameter of humerus	6.08	0.151±0.054	0.138±0.074	0.0-102.0	8.54
14	64	前肢三蹄骨长 Length of forelimb ungulare III	7.52	-0.075±0.036	-0.172±0.055	0.0-102.0	11.03
15	0	前肢四掌骨长 Length of forelimb metacarpale IV	7.1	0.181±0.050	0.082±0.103	0.0-84.0	8.07
16	95	腓骨长度 Length of fibula	11.45 ^d	0.444±0.111	-0.454±0.153	52.0-95.0	17.23
17	69	腓骨长度 Length of fibula	8.80	0.460±0.118	0.196±0.185	29.0-82.0	12.87
17	78	腓骨直径 Diameter of fibula	10.87 ^d	0.081±0.022	-0.085±0.030	30.5-83.0	10.44
17	34	三跖骨长度 Length of metatarsale III	6.96	0.232±0.065	-0.219±0.099	3.0-88.0	7.90
17	31	三系骨长度 Length of compedale III	6.60	0.156±0.045	-0.131±0.068	5.5-75.0	8.45
17	30	前肢四掌骨长 Length of forelimb metacarpale IV	9.32 ^d	0.223±0.056	-0.173±0.079	22.0-88.0	11.03
17	32	中间腕骨长度 Length of carpi intermedium	6.58	0.135±0.042	0.069±0.065	23.0-58.0	10.96
17	31	前肢三冠骨长 Length of forelimb coronale III	8.04	0.111±0.028	-0.003±0.043	26.5-87.0	8.21
18	5	三蹄骨长度 Length of ungulare III	5.99	0.104±0.030	-0.011±0.047	0.0-69.0	9.77
18	44	肱骨直径 Diameter of humerus	10.48 ^d	0.233±0.061	0.288±0.091	2.5-58.0	15.86
X	22	腓骨直径 Diameter of fibula	8.79	-0.289±0.097	-0.439±0.116	8.5-83.0	8.25
X	55	肱骨骨髓长度 Length of humerus medulla	6.94	-26.374±12.908	-26.74±12.929	0.0-79.0	9.87

^a加性效应±标准误; ^b显性效应±标准误; ^c置信区间; ^d为基因组 5% 显著水平; ^e为基因组 1% 显著水平

^aAdditive±standard error; ^bDominant±standard error; ^cConfidence interval; ^dF value indicated 5% genome-wide level significant level; ^eF value indicated 1% genome-wide level significant level

到 75 个 QTL, 其中基因组 1% 显著水平 QTL 14 个, 基因组 5% 显著水平 QTL 14 个, 染色体 5% 显著水平 QTL 47 个。定位的 QTL 数量最多的性状为腓骨直径, 共有 6 个 QTL, 其中 1 个达 1% 基因组显著水平, 4 个达 5% 基因组显著水平。在 SSC7 上 58 cM 处同时存在三跖骨、三系骨、三冠骨、四跖骨、四系骨、桡骨和前肢四掌骨等骨骼长度 QTL, 除前肢四掌骨长度 QTL 为 5% 染色体显著水平外, 其它都达 1% 基因组显著水平 (图)。在 SSC7 的 58 cM 附近区域还定位到影响其它骨骼长度或直径 QTL。达 1% 基因组显著水平的影响股骨直径、股骨骨髓腔直径、四冠骨、前肢三冠骨和前肢四系骨长度的 QTL, 它们的位置分别为 56、53、68、59 和 59 cM; 达 5% 基因组显著水平的影响腓骨直径 (112 cM)、四蹄骨 (56 cM)、前肢三系骨 (67 cM)、前肢四腕骨 (53 cM) 和前肢四冠

骨 (59 cM) 长度 QTL 以及达 5% 染色体显著水平影响胫骨直径 (40 cM), 中央跗骨 (63 cM)、三跖骨 (74 cM)、四跗骨 (79 cM)、前肢三腕骨 (57 cM)、前肢四蹄骨 (75 cM) 等骨骼长度 QTL 和影响肱骨骨髓腔长度 (18 cM) QTL。从整个 QTL 定位结果看, 除 SSC11 没有检测到 QTL 外, 其它各染色体上都检测到影响四肢骨骼长度或直径的 QTL。

各 QTL 解释的表型方差差异比较大, 最小为 SSC6 影响股骨直径的 QTL, 解释的表型方差为 6.11%, 最大为 SSC7 影响股骨骨髓腔直径 QTL, 解释的表型方差为 45.82%。F 值最大为 SSC7 影响股骨骨髓腔直径 QTL, 达 29.93。置信区间最小的 QTL 为 SSC7 上影响股骨直径 QTL, 其 95% 的置信区间为 14.5 cM (图)。

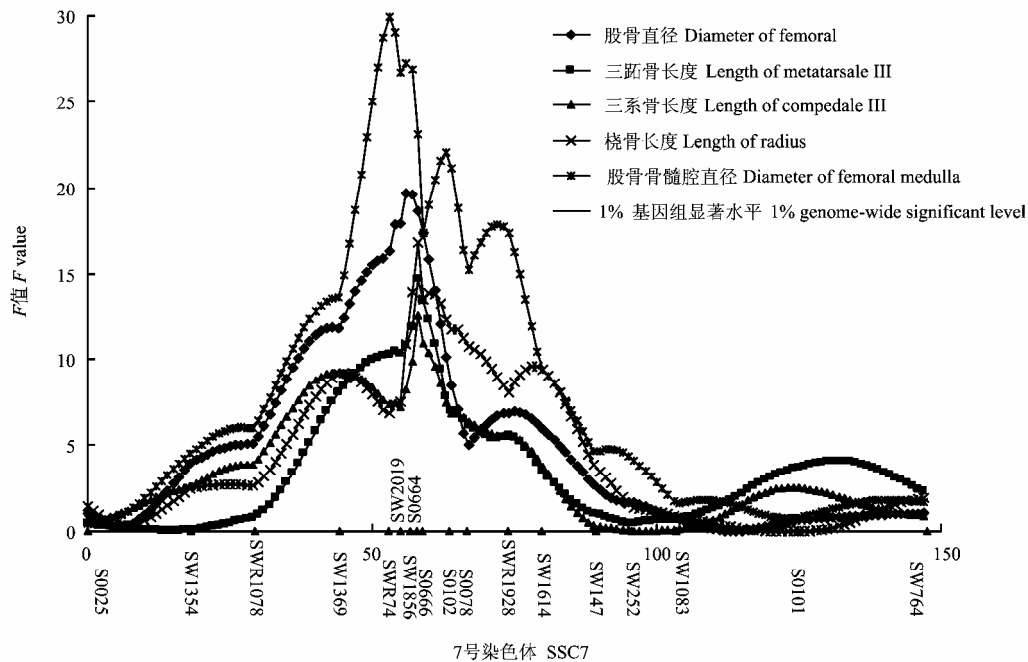


图 猪 SSC7 四肢骨骼基因组 1% 显著水平 QTL 的 F 曲线

Fig. The F curves of the 1% genome-wide significant QTL for porcine limb bones

3 讨论

本试验对 132 头 240 d 阉割公猪 39 类四肢骨骼长度和直径等性状进行 QTL 定位, 共定位 75 个 QTL。从结果可以看出, 13 个四肢骨骼性状 QTL 位于 SSC7 56—59 cM 处, 可见 SSC7 这个区域的 QTL 对多类四肢骨骼的长度有影响。Mao 等^[17]在 SSC7 上 57—58

cM 处定位到影响股骨、肱骨、尺骨、肩胛骨和胫骨长度的 QTL, 和本试验所述骨骼长度 QTL 位于相同的染色体区域。对小鼠的研究也存在这种情况, Leamy 等所定位的 12 个影响四肢骨骼长度的 QTL 中, 所有 QTL 都影响 2 种或 2 种以上骨骼长度^[6]。Kenney 等在小鼠 F₂ 群体中系统分析了骨骼性状 QTL 的多效模式, 发现平均每个 QTL 影响 7~8 个骨骼性状, 最多为 1

个 QTL 位点影响 30 个性状^[23]。荷斯坦奶牛影响腿构造和腿骨质量的 QTL 也发现 1 个 QTL 影响 2 个以上性状^[11]。本试验中除 SSC7 外, SSC3 0 cM、SSC4 67—68 cM、SSC14 64 cM 和 SSC17 30—32 cM 处 QTL 也影响 2 类以上骨骼长度或直径。

猪 7 号染色体上 57—59 cM 区域和人 6 号染色体 p21 区 (HSA6 p21) 同源。人类 HSA6 p21 和 HSA2 q21 相互作用, 对人的身高具有显著影响^[24]。该区域的 RUNX2/CBFA1 (矮小相关转录因子 2), COL11A2 (胶原类型 XI, alpha 2) 和 RXRB (类维生素 A X 受体, beta) 等基因是影响猪四肢骨骼发育的重要候选基因^[25]。通过比较基因组可知, 影响小鼠各类型长骨的 QTL 区域和本试验定位的影响猪四肢骨骼长度的 QTL 同源^[5-8]。

本研究将影响猪股骨直径的 QTL 定位于 SSC6、SSC7、SSC12 和 SSC13, 而 Andersson 等在野猪×大白猪 F₂ 资源群体中影响猪股骨直径的 QTL 定位于 SSC2、SSC4、SSC16 和 SSC17^[13]。QTL 定位结果不一致的原因可能是 2 个试验群体始祖动物不同遗传背景造成的; 另外, 受到表型测定难度的限制, 用于本试验的群体规模较小, 也可能影响了 QTL 检测效率, 部分效应更小的 QTL 很可能没有被检测出来。

4 结 论

本试验测定了白色杜洛克×二花脸资源群体中 132 头 F₂ 阉公猪 29 类四肢骨骼长度、6 类四肢骨骼直径、股骨和肱骨骨髓腔直径、骨髓腔长度和骨壁厚度。采用全基因组扫描, 利用 183 个微卫星, 共定位 75 个影响猪四肢骨骼相关性状的 QTL, 其中 1% 基因组显著水平 QTL 14 个, 5% 基因组显著水平 QTL 14 个, 5% 染色体显著水平 QTL 47 个。

致谢: 感谢舒青龙、赖芬菊等协助测定猪四肢骨骼表型, 国鸿公司屠宰场帮助分离猪四肢骨骼。

References

[1] Wood C M. Don't ignore feet and leg soundness in pigs. *Animal & Poultry Sciences*, VA Tech 2001.

[2] Hetzer H O, Hankins O G, King J X, Zeller J H. Relationship between certain body measurements and carcass characteristics in swine. *Journal of Animal Science*, 1950, 9: 37-47.

[3] Hetzer H O, Miller R H. Correlated responses of various body measurements in swine selected for high and low fatness. *Journal of*

Animal Science, 1972, 35: 743-751.

[4] Shiang R, Thompson L M, Zhu Y Z, Church D M, Fielder T J, Bocian M, Winokur S T, Wasmuth J J. Mutations in the transmembrane domain of FGFR3 cause the most common genetic form of dwarfism, achondroplasia. *Cell*, 1994, 78: 335-342.

[5] Christians J K, Bingham V K, Oliver F K, Heath T T, Keightley P D. Characterization of a QTL affecting skeletal size in mice. *Mammalian Genome*, 2003, 14(3): 175-183.

[6] Leamy L J, Pomp D, Eisen E J, Cheverud J M. Pleiotropy of quantitative trait loci for organ weights and limb bone lengths in mice. *Physiology Genomics*, 2002, 10(1): 21-29.

[7] Kenney H J P, Vaughn T T, Pletscher L S, Peripato A, Routman E, Cothran K, Durand D, Norgard E, Perel C, Cheverud J M. Quantitative trait loci for body size components in mice. *Mammalian Genome*, 2006, 17: 526-537.

[8] Chase K, Carrier D R, Adler F R, Jarvik T, Ostrander E A, Lorentzen T D, Lark K G. Genetic basis for systems of skeletal quantitative traits: principal component analysis of the canid skeleton. *Proceeding of National Academy Science USA*, 2002, 99: 9930-9935.

[9] Drake T A, Hannani K, Kabo J M, Villa V, Krass K, Lulis A J. Genetic loci influencing natural variations in femoral bone morphometry in mice. *Journal of Orthopaedic Research*, 2001, 19: 511-517.

[10] Chinappen H U, Blake G M, Fogelman I, Kato B, Ahmadi K R, Spector T D. Quantitative trait loci for bone lengths on chromosome 5 using dual energy X-Ray absorptiometry imaging in the Twins UK cohort. *PLoS ONE*, 2008, 3(3): 1752.

[11] Buitenhuis A J, Lund M S, Thomasen J R, Thomsen B, Nielsen V H, Bendixen C, Guldbrandtsen B. Detection of quantitative trait loci affecting lameness and leg conformation traits in Danish Holstein cattle. *Journal of Dairy Science*, 2007, 90: 472-481.

[12] Norgard E A, Roseman C C, Fawcett G L, Pavlicev M, Morgan C D, Pletscher L S, Wang B, Cheverud J M. Identification of quantitative trait loci affecting murine long bone length in a two-generation intercross of LG/J and SM/J mice. *Journal of Bone Mineral Research*, 2008, 23: 887-895.

[13] Sharman P W, Morrice D R, Law A S, Burt D W, Hocking P M. Quantitative trait loci for bone traits segregating independently of those for growth in an F₂ broiler × layer cross. *Cytogenetic and Genome Research*, 2007, 117(1/4): 296-304.

[14] Tsudzuki M, Onitsuka S, Akiyama R, Iwamizu M, Goto N, Nishibori M, Takahashi H, Ishikawa A. Identification of quantitative trait loci affecting shank length, body weight and carcass weight from the Japanese cockfighting chicken breed, Oh-Shamo (Japanese Large

- Game). *Cytogenetic and Genome Research*, 2007, 117(1/4): 288-295.
- [15] Zhou H, Deeb N, Evock C C M, Mitchell A D, Ashwell C M, Lamont S J. Genome-wide linkage analysis to identify chromosomal regions affecting phenotypic traits in the chicken. III. Skeletal Integrity. *Poultry Science*, 2007, 86: 255-266.
- [16] Andersson E L, Uhlhorn H, Lundeheim N, Dalin G, Andersson L. Mapping quantitative trait loci for principal components of bone measurements and osteochondrosis scores in a wild boar × large white intercross. *Genetical Research*, 2000, 75(2): 223-230.
- [17] Mao H, Guo Y, Yang G, Yang B, Ren J, Liu S, Ai H, Ma J, Brenig B, Huang L. A genome-wide scan for quantitative trait loci affecting limb bone lengths and areal bone mineral density of the distal femur in a large White Duroc × Erhualian F₂ population. *BMC Genetics*, 2008, 9: 63.
- [18] Ren J, Guo Y, Ma J, Huang L. Growth and meat quality QTL in pigs with special reference to a very large Erhualian×White Duroc resource population // *Proceeding of 8th World Congress on Genetics Applied in Livestock*, Belo Horizonte, MG, Brazil. 2006.
- [19] Rohrer G A, Alexander L J, Hu Z, Smith T P, Keele J W, Beattie C W. A comprehensive map of the porcine genome. *Genome Research*, 1996, 6: 371-391.
- [20] Haley C S, Knott S A, Elsen J M. Mapping quantitative trait loci in crosses between outbred lines using least squares. *Genetics*, 1994, 136: 1195-1207.
- [21] Churchill G A, Doerge R W. Empirical threshold values for quantitative trait mapping. *Genetics*, 1994, 138: 963-971.
- [22] Visscher P M, Thompson R, Haley C S. Confidence intervals in QTL mapping by bootstrapping. *Genetics*, 1996, 143: 1013-1020.
- [23] Kenney H J P, Wang B, Norgard E A, Fawcett G, Falk D, Pletscher L S, Jarvis J P, Roseman C, Wolf J, Cheverud J M. Pleiotropic patterns of quantitative trait loci for 70 murine skeletal traits. *Genetics*, 2008, 178: 2275-2288.
- [24] Liu Y Z, Guo Y F, Xiao P, Xiong D H, Zhao L J, Shen H, Liu Y J, Dvornyk V, Long J R, Deng H Y. Epistasis between loci on chromosomes 2 and 6 influences human height. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 2006, 91: 3821-3825.
- [25] Barbosa A, Demeure O, Urien C, Milan D, Chardon P, Renard C. A physical map of large segments of pig chromosome 7q11-q14: comparative analysis with human chromosome 6p21. *Mammalian Genome*, 2004, 15: 982-995.

(责任编辑 高 雨, 林鉴非)