



Université catholique de Louvain
Faculté d'ingénierie biologique, agronomique et environnementale

Methodological aspects of the mapping of disease resistance loci in livestock

Pierre Tilquin

September 2003

Thèse présentée en vue de l'obtention
du grade de docteur en sciences agronomiques
et ingénierie biologique

Promoteurs : P. Baret et E. Le Boulengé

Remerciements

Au terme de ce travail, je tiens à remercier toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la concrétisation de cette thèse, entamée il y a de cela six ans.

Tout d'abord, mes plus vifs remerciements vont au Professeur Philippe Baret, mon promoteur. Tout au long de ce doctorat, il m'a, par un encadrement de qualité, aidé entre autres à garder le cap, à canaliser mes ambitions ou à relever la tête dans les moments de doute. Merci Philippe pour ton entrain, ton exigence et ton souci d'efficacité.

Je suis également reconnaissant envers les Professeurs Eric Le Boulengé, Pierre Defourny et Patrick Bogaert pour l'accueil qu'ils m'ont réservé à l'unité de Biométrie et Analyse des Données (devenue par la suite unité d'Environnementétrie et Géomatique) et pour les fructueux échanges que nous avons eu à l'occasion des travaux pratiques de proba-stat et biométrie et des consultances en statistiques. Je tiens aussi à remercier mes collègues des unités ENGE et GENA pour leur contribution à la bonne ambiance qui a toujours régné au sein de ces unités. Merci pour les belles images SPOT ou composites, les réflectances et autres concepts télédétectionistico-radaristes. Grâce à tout cela, j'ai pu monter sur orbite de temps en temps, et goûter à un monde qui m'était tout à fait inconnu. Un merci tout particulier à Dimitri D'Or qui fut mon collègue de bureau et donc mon compagnon de route pendant 5 de ces 6 années. Cette proximité l'a amené à devoir subir les désagréments des premières loges. Dimitri, merci pour ta discrétion et ta disponibilité et bonne chance pour tes projets.

Remerciements

Ensuite, je voudrais rendre hommage aux membres de mon comité d'encadrement et de jury définitif, Messieurs Eric Le Boulengé, Xavier Draye, Franz Dessy, Michel Georges, Frédéric Lantier et Steve Bishop. Leurs lectures détaillées et remarques constructives ont été très appréciées.

Je voudrais également remercier toutes les personnes avec qui j'ai collaboré, ou que j'ai ennuyées par de nombreuses questions, elles ont certainement toutes contribué à la qualité de ce travail: Carole Moreno, Catherine Beaumont, Ingrid Van Keilegom, Wouter Coppieters, Nat Bumstead, Alain Vignal, Jean-Michel Elsen, Lucas Gruner, George Seaton, Karl Broman, Dirk-Jan de Koning ... et j'en oublie sûrement. Un grand merci à Bénédicte Renaville pour la qualité de son travail lors de la réalisation de son mémoire. Celui-ci constitue le chapitre 7 de cette thèse.

Je tiens à remercier tout particulièrement mes parents qui, par leurs encouragements constants et leur écoute, m'ont soutenu tout au long de ces 6 années d'études, euh ... d'activité professionnelle je voulais dire. Merci également à mon frère et à mes sœurs ainsi qu'à mes amis. Sans comprendre grand chose à mes élucubrations, ils ont tous une fois ou l'autre, et même plutôt deux fois qu'une, été sur ma route quand j'avais besoin d'écoute. Un merci tout particulier à Xavier pour les heures de co-voiturage passée ensemble ainsi que pour le rôle de chauffeur attitré qu'il a bien voulu prendre à la fin de cette thèse.

Et enfin, je voudrais remercier Stéphanie sans qui cette thèse n'aurait pas existé. Par son oreille attentive, sa patience et ses encouragements, elle a su me soutenir tout au long de ces six années de questions et de doutes. Merci donc à Stéphanie et à Aurore d'être à toutes deux la joie de ma vie, la lumière dans mon tunnel, mon passé, mon présent et mon futur.

Contents

Remerciements (Acknowledgements)

Table of Content

Acronyms

Introduction

PART I CONTEXT..... 19

Chapter 1 The genetics of resistance to infectious diseases in livestock 21

1.1. Introduction..... 23

1.2. Concepts..... 25

1.3. Infectious agents 26

1.3.1. Introduction..... 26

1.3.2. Bacteria 26

1.3.3. Parasites 29

1.3.4. Viruses 31

1.3.5. Prions 33

1.4. Mechanisms of disease resistance..... 33

1.4.1. Introduction..... 33

1.4.2. Epithelial barrier 34

1.4.3. Innate immunity 35

1.4.4. Acquired immunity 35

1.4.5. Genetic basis of immunity 35

Contents

1.5.	Sources of genetic variation.....	36
1.5.1.	Introduction.....	36
1.5.2.	Differences between breeds	36
1.5.3.	Differences within breeds	37
1.5.4.	Gene polymorphisms	39
1.6.	Conclusion	39
Chapter 2 QTL mapping methods.....		41
2.1.	Introduction.....	43
2.2.	Principle of QTL mapping	45
2.2.1.	Assumptions.....	45
2.2.2.	Conditional probabilities of QTL genotypes.....	46
2.2.3.	Single marker analysis	46
2.2.4.	Interval mapping	51
2.2.5.	Statistical aspects	57
2.3.	Extensions.....	64
2.3.1.	Designs.....	64
2.3.2.	Markers and linkage maps	66
2.3.3.	Multiple QTL	67
2.3.4.	Multiple-trait	68
2.3.5.	The candidate gene approach	71
2.3.6.	Non-normally distributed traits	72
2.4.	Conclusions.....	82
Chapter 3 Indicator traits for mapping disease resistance QTL		83
3.1.	Introduction.....	85
3.2.	Indicator traits of host response to infection.....	86
3.2.1.	Introduction.....	86
3.2.2.	Bacterial diseases	86
3.2.3.	Parasitic diseases.....	90
3.2.4.	Viral diseases	93
3.3.	Immunity capacity	94
3.4.	Typical distributions	95
3.4.1.	Data sets	95
3.4.2.	Distributions.....	97

Contents

3.5.	Statistical methods	104
3.6.	Conclusions.....	104
3.6.1.	Different types of traits	104
3.6.2.	Zero counts.....	105
3.6.3.	General conclusion.....	106
Chapter 4	Objectives.....	109
4.1.	Introduction.....	111
4.2.	Objectives of this thesis	112
PART II	METHODOLOGICAL ASPECTS.....	113
Chapter 5	Statistical power of QTL mapping methods applied to bacteria counts.....	115
5.1.	Introduction.....	117
5.2.	Materials and methods	119
5.2.1.	Simulation process	120
5.2.2.	Data set.....	122
5.2.3.	Methods of analysis	123
5.2.4.	Comparison of methods	128
5.3.	Results.....	130
5.3.1.	Simulated data.....	130
5.3.2.	Empirical thresholds.....	131
5.3.3.	Power estimates.....	133
5.3.4.	Mathematical transformation	135
5.3.5.	Mean values of test statistics along the chromosome	136
5.3.6.	Mean estimates of QTL location.....	137
5.4.	Discussion	139
5.5.	Acknowledgements.....	144

Contents

Chapter 6 Non-parametric interval mapping in half-sib designs: use of midranks to account for ties	145
6.1. Introduction	147
6.2. Materials and methods	149
6.2.1. Non-parametric interval mapping	149
6.2.2. Modification to use midranks	153
6.2.3. Interval mapping based on least-squares	154
6.2.4. Comparison of methods	154
6.3. Results	157
6.3.1. Simulated data	157
6.3.2. Power estimates	157
6.3.3. Position estimates	160
6.3.4. Mean value of test statistics along the chromosome	162
6.4. Discussion	165
6.5. Acknowledgements	167
 Chapter 7 Genetic resistance to nematodes parasites in sheep: use of repeated measurements in QTL mapping	169
7.1. Introduction	171
7.2. Materials and methods	173
7.2.1. Methodology	173
7.2.2. Real data set	174
7.2.3. Simulation design	175
7.2.4. Simulation of the first measurement	175
7.2.5. Simulation of a second correlated measurement	176
7.2.6. Transformation of normal phenotypes in FEC	177
7.2.7. Aggregates of two FEC	177
7.2.8. Methods of analysis	179
7.2.9. Comparison of the different aggregates	179
7.3. Results	181
7.4. Discussion	187
7.5. Conclusion	190
7.6. Acknowledgements	190

PART III APPLICATIONS	191
Chapter 8 A genome scan for quantitative trait loci affecting <i>Salmonella</i> clearance in chicken	193
8.1. Introduction.....	195
8.2. Materials and methods	197
8.2.1. Animals	197
8.2.2. Bacterial challenge	197
8.2.3. Phenotypes	198
8.2.4. DNA extraction and genotyping	199
8.2.5. Statistical analyses	203
8.3. Results.....	207
8.3.1. Marker maps	207
8.3.2. Phenotypes	207
8.3.3. QTL mapping	210
8.4. Discussion	217
8.5. Acknowledgements.....	221
Chapter 9 Mapping QTL for resistance to salmonellosis in sheep	223
9.1. Introduction.....	225
9.2. Materials and methods	226
9.2.1. Resource flock.....	226
9.2.2. Phenotypic assessment	227
9.2.3. Preliminary modelling of phenotypic data	228
9.2.4. Markers	231
9.2.5. Interval mapping	232
9.3. Results.....	234
9.3.1. Markers	234
9.3.2. Phenotypes	235
9.3.3. QTL results	236
9.3.4. Non-parametric <i>versus</i> least-squares.....	241
9.3.5. Comparison with maximum likelihood results	242
9.4. Discussion	244
9.5. Acknowledgements.....	248

Contents

PART IV CONCLUSIONS AND PERSPECTIVES	249
Chapter 10 Conclusions and perspectives	251
10.1. Context.....	253
10.2. Conclusions.....	255
10.2.1. Statistical tools	255
10.2.2. Mathematical transformation	256
10.2.3. Guidelines	257
10.2.4. Reliability of the phenotypic measurement.....	257
10.2.5. Other parameters	258
10.2.6. Actual power	260
10.3. Perspectives.....	261
10.4. General conclusion.....	263

APPENDIXES

Appendix A	List of the papers used for the survey of indicator traits in Chapter 3
Appendix B	Normal score back transformation
Appendix C	Difference between best position estimates and mean test statistic curve
Appendix D	Variances of non-parametric test statistics
Appendix E	Midranks and permutations
Appendix F	Heritability of aggregates

Glossary

REFERENCES

Acronyms

Acronym	Definition
AFLP	Amplified fragment length polymorphism
AN	Analysis of variance
ANOVA	Analysis of variance
BC	Backcross
BLAD	Bovine Leukocyte Adhesion Deficiency
BoLA	Bovine Lymphocyte Antigen
BSE	Bovine Spongiform Encephalopathy
cdf	cumulative density function
ccdf	conditional cumulative density function
CFU	Colony-Forming Unit
CI	confidence interval
CIM	Composite Interval Mapping
cM	centiMorgan
DNA	Deoxyribonucleic acid
DRL	Disease Resistance Loci
DYD	Daughter Yield Deviation
EBV	Estimated Breeding Value
EWM	Environmentally Weighted Mean

Acronyms

FDR	False Discovery Rate
FEC	faecal egg count
GLM	Generalised Linear Model
HWM	Heritability Weighted Mean
IBDV	Infectious Bursal Disease Virus
IFN	Interferon
IgG1	Immunoglobulin G ₁
IgM	Immunoglobulin M
LOD	Logarithm of the odds ratio
LRT	Likelihood Ratio Test
LS	Least-Squares-based QTL mapping method
MAS	Marker Assisted Selection
MHC	Major Histocompatibility Complex
MIM	Multiple Interval Mapping
ML	Maximum Likelihood
MQM	Multiple QTL Mapping
MT	Mathematical Transformation
NP	Non-parametric QTL mapping method
NRAMP1	Natural Resistance Associated Macrophage Protein 1
OIE	Office International des Epizooties
p.i.	post inoculation or infection
PBL	Peripheral Blood Lymphocyte
PCV	Packed-Cell Volume
PFU	Plaque-Forming Unit
PrP	Prion protein
PTA	Predicted Transmitting Ability
RAPD	Random amplified polymorphic DNA

Acronyms

RFLP	Restriction fragment length polymorphism
RM	Reduced Mean
RNA	Ribonucleic acid
s.d.	standard deviation
s.e.	standard error
SCC	Somatic Cell Count
SCS	Somatic Cell Score
SE	<i>Salmonella enteritidis</i>
SLC11A1	Solute carrier family 11, member 1
SNP	Single nucleotide polymorphisms
SRBC	Sheep Red Blood Cells
SS medium	<i>Salmonella-Shigella</i> medium
SSR	Simple sequence repeats
Tlr4	Toll-like Receptor 4
TSB	Trypticase Soy Broth