Rendiconti
Accademia Nazionale delle Scienze detta dei XL
Memorie di Scienze Fisiche e Naturali
119° (2001), Vol. XXV, pp. 477-493

VINCENZO RUSSO *

La genetica molecolare e le produzioni animali **

Le produzioni animali sono il risultato di un insieme di biotecnologie, con cui si ottengono alimenti freschi (latte, carne, uova, miele) e trasformati (formaggi, salumi, burro ecc.) e altri prodotti utili non alimentari (lana, seta, pelle, ecc.). Le biotecnologie zootecniche sono sorte circa 10.000 anni fa nel periodo neolitico con la domesticazione degli animali. Questa infatti può essere considerata la prima biotecnologia messa in opera dall'uomo. Da allora ha avuto inizio prima empiricamente e poi, via via che aumentavano le conoscenze fornite dall'osservazione e dalla ricerca, in modo scientifico lo sviluppo di altre biotecnologie che hanno consentito di creare razze specializzate per determinate produzioni, di aumentare le risorse alimentari per l'alimentazione degli animali, di migliorare lo stato igienico-sanitario degli allevamenti, di aumentare l'efficienza dei processi biologici coinvolti nelle produzioni, di migliorare l'efficienza economica delle produzioni, di conservare, trasformare e, quindi, trasportare lontano dai luoghi di produzione i prodotti animali primari e derivati.

Questi straordinari risultati hanno contribuito a sconfiggere nei Paesi industrializzati la fame e la malnutrizione da squilibri e carenze di proteine, di aminoacidi essenziali, di minerali e vitamine, e di migliorare le condizioni alimentari delle popolazioni dei Paesi in via di sviluppo e del terzo mondo.

Questi progressi sono stati ottenuti con le biotecnologie oggi definite tradizionali, ma che mantengono tuttora la loro utilità.

L'imponente crescita del patrimonio di conoscenze nei campi della biologia e della genetica molecolare ha aperto la strada, anche nel settore delle produzioni animali, allo sviluppo di nuove biotecnologie impensabili fino a pochi anni fa. Queste biotecnologie vengono qualificate con l'aggettivo «avanzate» per distinguerle da quelle tradizionali empiriche o basate sulla genetica classica e quantitativa.

* Dipartimento di Protezione e Valorizzazione Agroalimentare, Sezione di Allevamenti Zootecnici, Università di Bologna.

** Relazione presentata al Primo Convegno Nazionale della U.N.A.S.A. su «Biotecnologie agroalimentari, industriali, ambientali: problemi e prospettive», Roma, 1-2 ottobre 2001.

Le biotecnologie avanzate hanno come fulcro l'intervento sul DNA e sulle cellule nelle prime fasi dello sviluppo embrionale degli animali, per modificare le proprietà degli organismi, rendendoli più idonei a soddisfare le esigenze dell'uomo.

Queste biotecnologie rappresentano un potente strumento per vincere le due grandi sfide che il sistema delle produzioni animali dovrà affrontare nel futuro: l'aumento della produzione e il miglioramento della qualità dei prodotti. Nei prossimi 50 anni si stima che la disponibilità mondiale di proteine animali dovrà essere il doppio di quella attuale per soddisfare l'incremento della domanda conseguente alla previsione di raddoppio della popolazione umana e al maggior consumo di prodotti di origine animale nei Paesi in via di sviluppo. Inoltre, i prodotti dovranno rispondere alle maggiori esigenze di qualità provenienti dai consumatori, soprattutto nei Paesi industrializzati.

Studio del genoma degli animali di interesse zootecnico

Gli straordinari progressi della genetica molecolare hanno messo a disposizione dei ricercatori potenti strumenti per studiare il genoma e per attuare cambiamenti più efficaci e più rapidi nelle popolazioni animali di interesse zootecnico.

Il genoma degli animali di interesse zootecnico è costituito da un diverso numero, tipico di ogni specie, di paia di autosomi e da un paio di cromosomi sessuali con un contenuto di DNA che si aggira intorno ai 3 miliardi di nucleotidi nel caso dei mammiferi e a circa 1,2 miliardi per le specie avicole (tabella 1). Sulla base delle ultime stime disponibili per il genoma umano (Wright *e coll.*, 2001), questo DNA anche nelle specie animali dovrebbe codificare per circa 65.000-75.000 geni.

Tabella 1 – *Numero di cromosomi e contenuto in DNA stimato per alcune specie di interesse zootecnico.*

Specie	Numero di cromosomi (2N)	Dimensione stimata del genoma in nucleotidi (paia di basi)[1]
Bos taurus (Bovino)	60	3.651.500.000
Sus scrofa domestica (Suino)	38	3.108.700.000
Ovis aries (Pecora)	54	3.251.800.000
Capra hircus (Capra)	60	3.197.600.000
Equus caballus (Cavallo)	64	3.311.000.000
Oryctolagus cuniculus (Coniglio)	44	3.469.000.000
Gallus gallus (Pollo)	78	1.200.000.000
Meleagris gallopavo (Tacchino)	80	1.200.000.000[2]

Fonte: [1] Banca dati sulla dimensione dei genomi : http://www.cbs.dtu.dk/databases/DOGS/; DBA Banca dati sulla dimensione dei genomi nei mammiferi: http://www.unipv.it/webbio/dbagsdb.htm. [2] John Doodly, comunicazione personale.

L'impiego dei marcatori del DNA e lo sviluppo delle tecnologie per la loro analisi hanno permesso di costruire mappe genetiche per tutte le principali specie di interesse zootecnico. Le prime mappe genetiche sono state prodotte tra il 1992 e il 1998 nei bovini (Barendse *e coll.*, 1994; Bishop *e coll.*, 1994), nei suini (Ellegren *e coll.*, 1994; Rohrer *e coll.*, 1994; Archibald *e coll.*, 1995), negli ovini (Crawford *e coll.*, 1995), nei caprini (Vaiman *e coll.*, 1996), negli equini (Lindgren *e coll.*, 1998) e nei polli (Bumstead e Palyga, 1992). Mappe genetiche di seconda generazione, contenenti una maggiore densità di marcatori, sono state prodotte successivamente sulla base delle prime (Rohrer *e coll.*, 1996; Marklund *e coll.*, 1996; Barendse *e coll.*, 1997; Kappes *e coll.*, 1997; de Gortari *e coll.*, 1998; Groenen *e coll.*, 2000; Swinburne *e coll.*, 2000; Maddox *e coll.*, 2001).

Attualmente il numero di marcatori disponibili nelle diverse specie zootecniche è abbastanza elevato, come si può vedere dai dati della tabella 2, e aumenta di giorno in giorno grazie all'intensa attività di ricerca in corso in tutto il mondo.

Tabella 2 – *Numero di marcatori mappati nelle principali specie di interesse zootecnico.*

Specie	Numero di marcatori	di cui geni
Bovino	2575	647
Suino	2276	769
Pecora	1492	369
Capra [1]	223	–
Cavallo	863	180
Coniglio [2]	280	–
Pollo	2368	621
Tacchino	100	8

Fonte: ARK DataBase, Roslin Institute, Roslin, Midlothian, UK;
[1] Vaiman *e coll.* (1996); [2] Korstanje *e coll.* (2000).

Le informazioni riguardanti le mappe genetiche e citogenetiche delle principali specie di interesse zootecnico sono disponibili in diverse banche dati accessibili via internet.

Grazie al mappaggio di geni a funzione nota è emerso che durante l'evoluzione alcuni gruppi di geni, anche se presenti in cromosomi diversi, hanno conservato la sintenia tra specie diverse (O'Brien *e coll.*, 1999). Vi sono infatti regioni cromosomiche in cui l'ordine dei geni ortologhi è lo stesso nelle diverse specie di mammiferi; perfino tra mammiferi ed uccelli si possono identificare regioni conservate. Ciò ha permesso di sviluppare il mappaggio comparativo tra le diverse specie, che può essere utile per individuare geni in una specie sulla base dei dati di un'altra.

La mappa genetica completa di ciascuna specie si può ottenere soltanto con il sequenziamento di tutto il genoma e l'identificazione di tutti i geni. Nell'uomo la sequenza del genoma è stata completata al 93% circa (Venter *e coll.*, 2001) ed in breve tempo sarà completato anche il sequenziamento di quello di topo. Per le specie di interesse zootecnico si prevede che la sequenza completa del genoma sarà disponibile nel medio-lungo periodo e attualmente diversi gruppi hanno iniziato il sequenziamento sistematico di alcune parti del genoma bovino e suino.

Come primo passaggio nel sequenziamento del genoma delle principali specie di interesse zootecnico, sull'esempio di quanto è stato fatto per l'uomo, si stanno identificando le regioni trascritte grazie alla caratterizzazione di *expressed sequence tags* (EST). Le EST sono brevi sequenze di cDNA che rappresentano l'attività trascrizionale dei geni nei diversi tessuti.

Il confronto tra il numero di sequenze disponibili in banca dati per l'uomo e il topo con il numero di sequenze disponibili per le principali specie di interesse zootecnico dà un'idea dello stato di avanzamento nel sequenziamento del genoma delle varie specie (tabella 3).

Tabella 3 – *Numero di sequenze presenti in GenBank (al 21 Settembre 2001) per l'uomo, il topo e le principali specie di interesse zootecnico.*

Specie	Numero di sequenze
Uomo	5.026.606
Topo	3.144.990
Bovino	188.950
Suino	104.530
Pecora	2.019
Capra	1.372
Cavallo	2.226
Coniglio	5.598
Pollo	41.597
Tacchino	2.024

Tutte queste conoscenze rappresentano il punto di partenza per una serie di importanti applicazioni della genetica molecolare al settore delle produzioni animali.

Selezione assistita da marcatori

La selezione per il miglioramento delle produzioni animali finora è stata realizzata con i metodi della genetica quantitativa. Secondo questa teoria la variazione

continua dei caratteri quantitativi, quali ad esempio la produzione di latte e di carne, è dovuta all'azione degli alleli di molti *loci* e agli effetti dei fattori ambientali. I singoli *loci* e alleli esercitano effetti molto piccoli prevalentemente di tipo additivo sulla variabilità totale del carattere. Per questi caratteri complessi non è possibile individuare il genotipo degli animali direttamente dal loro fenotipo. Di conseguenza ai fini della selezione si è abbandonata questa strada e si è intrapresa quella dell'approccio biometrico-statistico, sviluppando metodi di stima del valore genetico degli animali o indici di selezione, basati sulla misurazione di questi caratteri nei soggetti candidati alla riproduzione e/o nei loro parenti, tenuti nelle stesse condizioni ambientali (stazioni o centri di controllo genetico) ai fini di evidenziare la quota ereditabile delle differenze osservate fra i singoli riproduttori.

Tale approccio è particolarmente efficace per caratteri produttivi che si manifestano precocemente, che sono facilmente misurabili, che si esprimono in entrambi i sessi e che non sono troppo influenzati da fattori ambientali. Tuttavia, sono pochi i caratteri produttivi che riuniscono tutti questi aspetti favorevoli. Infatti, alcuni caratteri sono espressi in un solo sesso (uova, latte), altri si evidenziano tardi nella vita produttiva dell'animale (problemi articolari) o solo dopo la macellazione (tagli magri, qualità della carne) o ancora sono difficili da misurare (resistenza alle malattie, indice di conversione degli alimenti). Alcuni caratteri, inoltre, hanno coefficienti di ereditabilità molto bassi perché sono particolarmente influenzati da fattori ambientali (efficienza riproduttiva, resistenza alle malattie).

La genetica molecolare permette di superare questi problemi perché fornisce gli strumenti per analizzare la variabilità genetica quantitativa direttamente a livello del DNA e di ricercare associazioni tra marcatori del DNA e i *loci* che contribuiscono ai caratteri quantitativi di importanza economica, QTL (*quantitative trait loci*) o ETL (*economical trait loci*). L'individuazione di associazione di questo tipo permette di frazionare un carattere quantitativo a variazione continua in un certo numero di *loci* mendeliani, chiaramente identificabili, e di attuare una selezione assistita da marcatori. Integrando gli attuali metodi matematico-statistici di valutazione genetica dei riproduttori con le informazioni fornite dalla genetica molecolare su geni maggiori o su marcatori associati a QTL, è possibile aumentare l'efficacia della selezione, soprattutto per caratteristiche che si esprimono tardivamente o in un solo sesso o che sono difficili da misurare. Infatti la tecnologia del DNA ricombinante, mettendo a disposizione informazione sui QTL, direttamente o attraverso i marcatori, può influire favorevolmente su tutti i fattori che determinano il progresso genetico: accuratezza della selezione, intensità della selezione e intervallo di generazione. Inoltre la selezione effettuata a livello di DNA, potendo essere indirizzata verso specifici geni, consente di superare più facilmente i problemi posti dalle correlazioni sfavorevoli tra i caratteri obiettivi della selezione.

QTL IDENTIFICATI NELLE VARIE SPECIE DI INTERESSE ZOOTECNICO

Sono già stati identificati per mezzo di marcatori diversi QTL nelle specie animali di interesse zootecnico. Nella tabella 4 ne sono riportati alcuni di più immediato interesse applicativo.

Tabella 4 – *QTL e* loci *ad effetto maggiore relativi alla produzione della carne in alcune specie di interesse zootecnico.*

Specie	*Cromosoma*	*Locus*	*Carattere*	*Bibliografia*
Bovino	5,7 e 19	–	Ovulazione	Kirkpatrick *e coll.*, 2000.
Bovino	2	*Miostatina*	Ipertrofia muscolare	Charlier *e coll.*, 1995. Grobet *e coll.*, 1997.
Bovino	15	–	Tenerezza carne	Keele *e coll.*, 1999.
Bovino	19	*GH1*	Percentuale di grasso	Taylor e *coll.*, 1998.
Suino	1	*ESR*	Numero di suinetti nati vivi	Rothschild *e coll.*, 1996.
Suino	4, 8, 13 e 15	–	Ovulazione	Rathje *e coll.*, 1997.
Suino	8	*OPN*	Dimensione della covata	Mileham *e coll.*, 1996.
Suino	1	–	Accrescimento	Paszek *e coll.*, 1999.
Suino	4, 13	–	Accrescimento, lunghezza intestino, spessore del lardo dorsale	Andersson *e coll.*, 1994. Knott *e coll.*, 1998.
Suino	4	*A-FABP*	Grasso intramuscolare	Gerbens *e coll.*, 1998.
Suino	6	*CRC*	Qualità della carne (PSE), carne magra, massa muscolare	Fujii *e coll.*, 1991.
Suino	6	*H-FABP*	Grasso intramuscolare	Gerbens *e coll.*, 1999.
Suino	15	*PRKAG3 (RN)*	Resa in prosciutto cotto, potenziale glicolitico, pH	Mariani *e coll.*, 1996. Milan *e coll.*, 1996. Milan *e coll.*, 2000.
Ovini	6	*Booroola (FecB, BMPR1B)*	Ovulazione, numero agnelli nati	Montgomery *e coll.*, 1993.
Ovini	–	*Mel_{1a} Receptor*	Stagionalità riproduttiva	Pelletier *e coll.*, 2000.
Ovini	21	*Callipyge*	Ipertrofia muscolare	Cockett *e coll.*, 1996.
Polli	2	–	Colore carne	Van Kaam *e coll.*, 1999.

Di particolare interesse appaiono i *loci ESR* (*Estrogen Receptor*) e *Booroola* che influiscono rispettivamente sulla prolificità della scrofa e della pecora. Il gene *ESR* risulta associato con la prolificità delle scrofe nella razza cinese Meishan (Rothschild *e coll.*, 1996). L'effetto dell'allele favorevole è risultato pari ad 1,4 suinetti in più al primo parto e 0,5 in più nei parti successivi. Questi risultati non hanno trovato piena conferma nelle razze europee o americane; infatti, non tutti gli esperimenti effettuati su queste razze hanno confermato il suddetto effetto favorevole, che, in ogni caso è risultato sempre inferiore a quello osservato nella razza cinese. Questi risultati contraddittori suggeriscono che probabilmente il *locus ESR* è soltanto un marcatore di un QTL, che influisce sulla prolificità. In questo caso l'allele favorevole di *ESR* potrebbe essere usato come un marcatore per identificare quello realmente responsabile dell'aumento della prolificità nella razza Meishan, che in seguito potrebbe essere trasferito alle razze europee ed americane con l'introgressione assistita da marcatori o con la transgenesi.

Il *locus Booroola*, così chiamato dalla località in cui è stato trovato, ha un effetto importante sul tasso di ovulazione e quindi sul numero di nati nelle pecore. Il gene è stato trovato soltanto nella razza Merino australiana. La genetica molecolare ha consentito di mappare questo gene sul cromosoma 6 (Montgomery *e coll.*, 1993) e di trovare alcuni marcatori associati che potrebbero essere utili per la sua introgressione nelle altre razze ovine da carne.

Altri QTL riguardano la velocità di crescita, la composizione della carcassa e la qualità della carne, e del latte.

Nei bovini, di particolare importanza è il *locus mh*, ad effetto parzialmente recessivo, responsabile dell'ipertrofia muscolare. Questo *locus*, localizzato sul cromosoma 2 per mezzo del *genome scanning* (Charlier *e coll.*, 1995), è stato successivamente caratterizzato dal punto di vista molecolare grazie all'approccio del gene candidato. Diverse mutazioni nel gene miostatina sono state associate al fenotipo ipertrofia muscolare in diverse razze bovine.

Nel suino, in particolare, sono stati caratterizzati due geni di notevole importanza economica, che influiscono sulla qualità della carne: il gene *CRC*, responsabile della carne *PSE* (*Pale, Soft, Exudative*), della sindrome da stress nel suino e della ipertermia maligna, di cui si dirà oltre, e il gene *RN*, che influisce sulla resa in prosciutto cotto. Quest'ultimo, identificato in linee sintetiche con la razza Hampshire (Le Roy *e coll.*, 1990), è stato mappato sul cromosoma 15 utilizzando l'approccio del *genome scanning* (Mariani *e coll.*, 1996; Milan *e coll.*, 1996). Una mutazione nel gene *PRKAG3* (Milan *e coll.*, 2000), coinvolto nella regolazione del metabolismo del glicogeno, è stata recentemente indicata come la responsabile di questo difetto della carne.

Nelle pecore, il *locus* denominato *callipyge*, responsabile dell'ipertrofia muscolare, è stato mappato sul cromosoma 18 (Cockett *e coll.*, 1994). Per questo *locus* è stato messo in evidenza un meccanismo di trasmissione ereditario non mendeliano denominato «superdominanza polare», secondo il quale soltanto gli individui ete-

rozigoti che ereditano dal padre l'allele favorevole del gene manifestano l'ipertrofia muscolare (Cockett *e coll.*, 1996). Per questo gene esisterebbe un fenomeno di *imprinting* materno, che porta non solo alla non espressione del fenotipo nei soggetti eterozigoti che ricevono l'allele favorevole dalla madre, ma anche all'inattivazione dell'allele paterno negli omozigoti.

Numerose sono anche le ricerche per l'identificazione di QTL legati alle caratteristiche qualitative e quantitative della produzione di latte, in particolar modo nei bovini. Georges *e coll.* (1995), utilizzando il *grand-daughther design,* hanno identificato la presenza di 5 QTL, rispettivamente localizzati sui cromosomi 1, 6, 9, 10 e 20. Numerosi altri lavori hanno evidenziato la presenza dei QTL sui cromosomi 2, 3, 4, 6, 9, 12, 14, 17, 18, 19 e 20 in questa specie.

Altri QTL o geni maggiori sono stati identificati per la resistenza alle malattie in diverse specie. Ad esempio, nel pollo, la suscettibilità alla malattia di Marek è stata associata a geni del complesso maggiore di istocompatibilità (Bacon, 1987). La resistenza alla salmonellosi è risultata associata ai geni *NRAMP1* e *TNC* (Hu *e coll.*, 1997) e influenzata da un QTL mappato sul cromosoma 5 di pollo (Mariani *e coll.*, 1998). Nel suino Meijerink *e coll.* (1997) hanno identificato una mutazione nel gene *FUT1* in *linkage disequilibrium* con il locus *ECF18R*, che determina la sensibilità alla malattia degli edemi causata dal ceppo F18 di *Escherichia coli*. Diversi studi hanno evidenziato associazioni tra specifici aplotipi del complesso maggiore di istocompatibilità suino (SLA) e alcuni parametri immunitari (Schook *e coll.*, 1996). Anche nelle altre specie di interesse zootecnico, numerosi studi effettuati per individuare relazioni tra variazioni a livello di DNA e resistenza a malattie hanno interessato principalmente i geni del complesso maggiore di istocompatibilità.

Diagnosi ed eradicazione delle malattie e dei difetti ereditari

Negli animali di interesse zootecnico si conoscono numerose malattie e difetti ereditari (tabella 5), di cui molte dovute a mutazioni di un solo gene. Se il gene è dominante, è possibile diagnosticare la malattia o il difetto sia negli omozigoti sia negli eterozigoti portatori, mentre se il gene è recessivo i sintomi si manifestano solamente nei soggetti omozigoti recessivi. L'eliminazione del gene dalla popolazione per mezzo della selezione fenotipica è possibile solo nel primo caso, mentre diventa pressoché impossibile nel secondo caso, perché i soggetti eterozigoti portatori si presentano normali ma trasmettono il gene responsabile ai figli. L'unica possibilità di ridurre efficacemente la frequenza di un gene recessivo o di eliminarlo risiede nell'identificazione dei soggetti portatori in modo da poterli scartare dalla riproduzione insieme con quelli omozigoti, che manifestano clinicamente la malattia o il difetto. Sotto questo profilo la genetica molecolare si è rivelata uno strumento risolutivo.

Tabella 5 – *Malattie e disordini ereditari nelle specie animali di interesse zootecnico.*

Specie	No
Bovini	324
Suini	212
Ovini	167
Caprini	62
Equini	160
Polli	163

Fonte: OMIA - University of Sydney, Australia.

In questo campo il primo successo importante per la zootecnia è stato ottenuto con l'identificazione del gene e della mutazione del difetto PSE della carne, caratterizzato dalla presenza di masse muscolari di colore bianchiccio, flaccide, che lasciano trasudare dalla superficie di taglio notevoli quantità di liquido sieroso. Le conseguenze economiche sono molto rilevanti perché il difetto altera le più importanti caratteristiche qualitative della carne, quali il colore, la consistenza e il potere di ritenzione idrica. Inoltre le alterazioni generalmente interessano le masse muscolari che costituiscono i tagli più pregiati, come la lombata ed il prosciutto. Le caratteristiche anormali conferite dalla PSE rendono la carne meno attraente per il consumatore e meno idonea alla trasformazione in salumi tipici di alto pregio, quali i prosciutti crudi di Parma e di S. Daniele. Infatti, lo scarso potere di ritenzione idrica di queste carni provoca un aumento dei cali di stagionatura e della frequenza dei difetti di fabbricazione (Russo e Nanni Costa, 1995).

Le tecniche del DNA ricombinante hanno permesso di individuare, come responsabile della predisposizione alla PSE, il gene *CRC (Calcium Release Channel)*, che codifica per la proteina che costituisce i canali di rilascio del calcio dal reticolo sarcoplasmatico. Una mutazione di questo gene caratterizzata dalla sostituzione di un solo aminoacido (arginina con cisteina) della catena polipeptidica, dovuta alla sostituzione di una citosina con una timina al nucleotide 1843, è risultata responsabile del difetto (Fujii *e coll.*, 1991). L'individuazione dell'alterazione a livello del DNA ha permesso di mettere a punto un test rapido e sicuro per l'individuazione dei suini portatori basato sulla suddetta mutazione, che determina un polimorfismo della lunghezza dei frammenti di restrizione che si ottengono con gli enzimi *Hba* I e *Asp* H. La mutazione, infatti, determina la scomparsa del sito di taglio del primo enzima e la formazione di un sito di taglio per il secondo. Partendo dai risultati di queste ricerche, anche in Italia è stato messo a punto un protocollo d'analisi che utilizza la tecnica PCR per identificare il genotipo per la sensibilità all'alotano dei suini direttamente a livello di DNA (Russo *e coll.*, 1993). L'analisi può essere effettuata a partire dal sangue, da piccolissime quantità di muscolo

e di grasso fresco, cotto o stagionato e anche da una singola setola (Russo *e coll.*, 1994). Il metodo viene utilizzato dall'Associazione Nazionale Allevatori Suini nel programma nazionale di selezione allo scopo di eliminare il gene della predisposizione alla PSE dalle razze suine italiane e, inoltre, trova applicazione nel controllo di qualità dei prosciutti italiani a denominazione di origine protetta.

Altre malattie ereditarie identificate con le tecniche del DNA ricombinante sono la BLAD, *Bovine Leukocyte Adhesion Deficiency* (Shuster e *coll.*, 1992), la DUMPS, *Deficiency of Uridine Monophosphate Synthase* (Schwenger *e coll.*, 1993), la MSUD, *Maple Syrup Urine Disease* (Zhang *e coll.* 1990), la citrullinemia (Dennis *e coll.*, 1989) nei bovini e la HYPP, *Hyperkalaemic Periodic Paralysis*, nei cavalli (Rudolph *e coll.*, 1992). Per le malattie BLAD e DUMPS il Laboratorio Gruppi Sanguigni dell'Associazione Italiana Allevatori procede routinariamente all'individuazione dei soggetti portatori al fine di eliminarli dalla riproduzione. Oggi si conosce la base molecolare di circa 63 malattie ereditarie degli animali di interesse zootecnico.

Le ricerche di genetica molecolare che hanno portato all'individuazione della lesione genetica e/o alla messa a punto del test diagnostico a livello del DNA per queste malattie, sono paradigmatiche per giungere all'identificazione della causa profonda di tutte le altre malattie ereditarie a base genetica monofattoriale presenti negli animali di interesse zootecnico. Nel fare ciò ci si potrà avvantaggiare delle ricerche sul genoma umano che sono molto più numerose e avanzate. Infatti, dagli studi di genetica molecolare nell'uomo è possibile avere indicazioni sui geni candidati, perché le malattie ereditarie sono spesso comuni all'uomo e agli animali e hanno la stessa base genetica. Perciò, poiché le sequenze dei geni funzionali e le associazioni tra geni mostrano un elevato grado di conservazione tra le diverse specie di mammiferi, utilizzando i geni umani già clonati è possibile studiare ed isolare i corrispondenti geni animali.

Sessaggio degli embrioni e predeterminazione del sesso

Il sessaggio degli embrioni è una tecnica già utilizzata nei programmi di trasferimento embrionale per il miglioramento genetico dei bovini da latte. Dopo i primi tentativi poco efficaci basati sull'analisi del cariotipo, sono stati sviluppati con successo diversi metodi miranti ad individuare sequenze di DNA Y-specifiche nelle cellule embrionali. Tra questi i più idonei sono risultati quelli che utilizzano la tecnica PCR, perché richiedono soltanto qualche cellula embrionale e forniscono rapidamente risultati con accuratezza che va dal 95 al 100%.Tuttavia anche questo metodo provoca una diminuzione della vitalità degli embrioni dell'ordine del 10% rispetto agli embrioni non sessati. Per superare quest'inconveniente si stanno sviluppando metodi non invasivi, che non richiedono la biopsia dell'embrione, quali la determinazione della concentrazione e dell'attività di enzimi legati al cromosoma X o la determinazione di antigeni di istocompatibilità, presenti sulla superficie delle

cellule maschili, ma non su quelle femminili, mediante l'utilizzazione di anticorpi monoclonali.

La predeterminazione del sesso può essere utile, oltre che a livello commerciale perché alcune produzioni zootecniche (latte e uova) si esprimono in un solo sesso, anche a livello di miglioramento genetico, perché ad esempio potrebbe permettere di ridurre della metà il numero di vacche necessarie per la fase di progenie dei tori da latte.

La via più efficace per raggiungere questo obiettivo è quello di separare *in vitro* gli spermatozoi contenenti i cromosomi X e Y che, come è noto, danno origine, rispettivamente, al sesso femminile e maschile. Tra i diversi tentativi effettuati basandosi su differenze tra i due tipi di spermatozoi (massa, motilità, contenuto di DNA, cariche ed antigeni di superficie, ecc.), la separazione mediante citofluorimetria a flusso in base al maggior contenuto di DNA degli spermatozoi contenenti il cromosoma X ha fornito i risultati più promettenti. Infatti, essa consente di ottenere seme contenente, nei casi più favorevoli, fino al 90% di spermatozoi utili per ottenere il sesso desiderato. I primi risultati di fecondazione con seme così ottenuto hanno messo in evidenza nelle diverse specie di interesse zootecnico, in particolare nei suini, che è possibile ottenere al parto fino a 85% dei nati del sesso desiderato. Tuttavia la tecnica non è attualmente generalizzabile a livello operativo per il limitato numero di spermatozoi separabili in tempo utile, ma lo potrebbe essere nel prossimo futuro come lasciano prevedere le ricerche in corso per migliorare la velocità di separazione degli spermatozoi (Johnson, 1999).

Accertamento paternità e identificazione dei singoli animali

L'attribuzione certa della paternità o della maternità biologica e l'identificazione sicura dei singoli animali sono presupposti fondamentali per effettuare efficacemente la selezione nelle popolazioni zootecniche. Si è visto che, nonostante la scrupolosità delle registrazioni di questi dati nell'ambito dei libri genealogici, una certa percentuale di errori è inevitabile, soprattutto per i maschi quando si usa la fecondazione artificiale. L'attribuzione del padre, ma in qualche caso anche quella della madre, è pressoché impossibile nell'allevamento brado e semibrado se le femmine sono imbrancate con diversi maschi. È questo il caso dell'allevamento bufalino e molto spesso di quello ovino e caprino.

Per questi motivi, fin dall'inizio della selezione, è apparso necessario determinare con certezza la corretta paternità biologica di un individuo. A tale scopo comunemente sono utilizzati i gruppi sanguigni e i polimorfismi delle proteine del sangue. Questi polimorfismi per la loro limitata variabilità possono permettere soltanto di escludere la paternità ma non ne consentono l'attribuzione.

Le tecniche del DNA ricombinante hanno messo a disposizione numerosi polimorfismi evidenziabili a livello del DNA, che ben si prestano allo scopo. In

particolare sono stati individuati certi *loci* minisatelliti distribuiti in tutto il genoma e costituiti da corte sequenze ripetute in tandem che danno origine ad una elevata variabilità individuale. Più recentemente sono stati individuati *loci* microsatelliti costituiti da 1-4 nucleotidi, anch'essi ad elevato grado di polimorfismo. A causa della elevata variabilità tutti questi *loci* vengono definiti ipervariabili. Tale variabilità può essere individuata con le tecniche del *Southern blotting,* usando come sonde i mini e i microsatelliti contenenti la sequenza ripetuta, o con metodiche PCR. Il complesso tracciato autoradiografico risultante dall'analisi di questi *loci* ipervariabili è specifico per ogni individuo e costituisce «l'impronta digitale del DNA» (DNA *fingerprint*), così chiamata perché analogamente all'impronta digitale poliziesca, ma in modo più preciso, si presta per l'identificazione di un soggetto.

Gli alleli dei mini e dei microsatelliti sono ereditati secondo gli schemi mendeliani e di conseguenza l'elevatissimo grado di variabilità consente anche di determinare con certezza la paternità degli individui. Oggi i metodi d'analisi si basano sull'uso dei microsatelliti, perché questi hanno un elevato grado di polimorfismo e perché è possibile la loro amplificazione simultanea con una o due PCR e, quindi, perché sono più rapidi e più economici. Questi metodi rispetto a quelli tradizionali, basati sui polimorfismi immunologici degli antigeni eritrocitari ed elettroforetici delle proteine del sangue, presentano il vantaggio di raggiungere elevatissimi livelli di precisione ed in secondo luogo quello di ridurre notevolmente il numero di analisi necessarie per l'identificazione della paternità. In Italia la determinazione della paternità per tutte le specie viene effettuata presso il Laboratorio Gruppi Sanguigni istituito a Cremona dall'Associazione Allevatori Italiani (Tabella 6).

Tabella 6 – *Numero di microsatelliti e di amplificazioni utilizzati per la diagnosi di parentela presso il Laboratorio Gruppi Sanguigni dell'AIA.*

Specie	Numero microsatelliti	Numero amplificazioni
Bovina	13	2
Bufalina	6	1
Canina	6	2
Caprina	8	2
Equina	10	1
Ovina	8	2
Suina	9	2

ANIMALI TRANSGENICI

Lo sviluppo più interessante dell'ingegneria genetica si è avuto con la dimostrazione della possibilità di modificare il patrimonio genetico degli animali attraverso l'inclusione nel loro genoma di geni provenienti da altre specie, o da altri individui della stessa specie, ma usando tecniche diverse da quelle della riproduzione tradizionale.

I soggetti che si ottengono sono chiamati animali transgenici. Il trasferimento del gene in genere viene effettuato per microiniezione di una soluzione del DNA nei pronuclei dell'uovo fecondato e tramite il reimpianto dell'embrione in una femmina ricevente. In questo modo il gene aggiunto verrà trasmesso a tutte le cellule, comprese quelle della linea germinale e quindi potrà essere trasmesso da una generazione all'altra.

Ricerche di questo tipo sono state effettuate su tutte le specie di interesse zootecnico. L'efficienza del trasferimento genico risulta ancora molto bassa poiché meno dell'1-2% degli zigoti iniettati dà origine ad animali transgenici (Brem, 1992). Ma questa percentuale potrebbe essere rapidamente aumentata utilizzando nuove tecniche di trasferimento in fase di sperimentazione. Una volta integrato nel genoma, il transgene verrà trasmesso alla progenie secondo gli schemi mendeliani.

Attualmente sono stati trasferiti con successo numerosi geni e ciò ha aperto la strada a nuove possibilità di miglioramento delle produzioni e a possibilità alternative di utilizzazione degli animali di interesse zootecnico.

La produzione di animali transgenici apre nuove e interessanti prospettive biotecnologiche, non tanto nel settore zootecnico quanto in quello sanitario e farmaceutico. Infatti, è possibile usare gli animali transgenici per la produzione di proteine eterologhe di interesse farmacologico. In altri termini è possibile con la transgenesi trasformare le bovine, le pecore e le capre da latte in fabbriche di proteine di grande utilità, quali ad esempio anticorpi ed altre sostanze biologiche umane utili per la prevenzione e la cura di malattie dell'uomo. Si è visto, infatti, che animali transgenici, ottenuti introducendo nel loro genoma un gene per la sintesi di una proteina estranea, unito alle sequenze del DNA che regolano l'espressione di una proteina del latte, sintetizzano nel loro latte la nuova proteina. La produzione di proteine eterologhe potrà essere ottenuta anche nel sangue e nei tessuti corporei degli animali transgenici, ma il sistema latte presenta caratteristiche più favorevoli perché consente di recuperare il prodotto più facilmente con i procedimenti di estrazione tradizionali. Se il livello di espressione del gene trasferito è di appena 1-2g per Kg di latte, da una bovina che produce 90q di latte per lattazione si potranno ricavare 9-18 Kg l'anno di proteina ricombinante.

Diverse società farmaceutiche, in collaborazione con istituti di ricerca, sono già in fase di sperimentazione avanzata per la produzione di sostanze farmacologicamente attive con animali transgenici. Finora si è ottenuto sperimentalmente l'espressione di numerosi geni umani di questo tipo nel latte dei mammiferi, prevalente-

mente nei topi, ma anche nelle pecore, capre, scrofe e coniglie. Diverse sono le sostanze che nel prossimo futuro potrebbero avere uno sbocco commerciale, tra cui la α1-antitripsina, alcuni fattori di coagulazione del sangue, la proteina C, l'antitrombina III, l'albumina serica umana e il fibrinogeno. Tutte queste sostanze sono attualmente ricavate dal sangue umano con costi altissimi. La produzione con gli animali transgenici consentirebbe di ottenere le quantità richieste a costi molto bassi.

Le applicazioni in atto o possibili illustrate lasciano appena intravedere l'enorme potenziale innovativo della genetica molecolare per il miglioramento delle produzioni zootecniche. Lo sfruttamento di tutte le potenzialità esige un notevole potenziamento della ricerca nazionale in questo settore. In particolare la ricerca dovrebbe considerare le peculiarità della zootecnia italiana, orientata alla produzione di materie prime eccellenti per l'industria di trasformazione, indirizzata a sua volta alla produzione di prodotti di alto pregio.

BIBLIOGRAFIA

Andersson L., Haley C.S., Ellegren H., Knott S.A., Johansson M., Andersson K., Andersson-Eklund L., Edfors-Lilja I., Fredholm M., Hansson I., *e coll.* (1994). Genetic mapping of quantitative trait loci for growth and fatness in pigs. *Science*, *263*, 1771-1774.

Archibald A.L., Haley C.S., Brown J.F., Couperwhite S., McQueen H.A., Nicholson D., Coppieters W., Van de Weghe A., Stratil A., Wintero A.K., *e coll.* (1995). The PiGMaP consortium linkage map of the pig (*Sus scrofa*). *Mamm. Genome*, *6*, 157-175.

Bacon L.D. (1987). Influence of the major histocompatibility complex on disease resistance and productivity. *Poultry Sci.*, *66*, 802-811.

Barendse W., Armitage S.M., Kossarek L.M., Shalom A., Kirkpatrick B.W., Ryan A.M., Clayton D., Li L., Neibergs H.L., Zhang N., *e coll.* (1994). A genetic linkage map of the bovine genome. *Nature Genet.*, *6*, 227-235.

Barendse W., Vaiman D., Kemp S.J., Sugimoto Y., Armitage S.M., Williams J.L., Sun H.S., Eggen A., Agaba M., Aleyasin S.A., Band M., Bishop M.D., Buitkamp J., Byrne K., Collins F., Cooper L., Coppettiers W., *e coll.* (1997). A medium-density genetic linkage map of the bovine genome. *Mamm. Genome*, *8*, 21-28.

Bishop M.D., Kappes S.M., Keele J.W., Stone R.T., Sunden S.L., Hawkins G.A., Toldo S.S., Fries R., Grosz M.D., Yoo J., *e coll.* (1994). A genetic linkage map for cattle. *Genetics*, *136*, 619-639.

Brem G. (1992). Gene transfer in farm animals. In: *Embryonic development and manipulation in animal production*, Portland press, London.

Bumstead N. & Palyga J. (1992). A preliminary linkage map of the chicken genome. *Genomics*, *13*, 690-697.

Charlier C., Coppieters W., Farnir F., Grobet L., Leroy P.L., Michaux C., *e coll.* (1995). The *mh* gene causing double-muscling in cattle maps to bovine chromosome 2. *Mamm. Genome*, *6*, 788-792.

Cockett N.E., Jackson S.P., Shay T.D., Farnir F., Berghmans S., Snowder G., Nielsen D. & Georges M. (1996). Polar overdominance at the ovine *callipyge* locus. *Science*, *273*, 236-238.

Cockett N.E., Jackson S.P., Shay T.L., Nielsen D., Moore S.S., Steele M.R., Barendse W., Green R.D. & Georges M. (1994). Chromosomal localization of the callipyge gene in sheep (*Ovis aries*) using bovine DNA markers. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, *91*, 3019-3023.

Crawford A.M., Dodds K.G., Ede A.J., Pierson C.A., Montgomery G.W., Garmonsway H.G., Beattie A.E., Davies K., Maddox J.F., Kappes S.W., *e coll.* (1995). An autosomal genetic linkage map of the sheep genome. *Genetics*, *140*, 703-724.

de Gortari M.J., Freking B.A., Cuthbertson R.P., Kappes S.M., Keele J.W., Stone R.T., Leymaster K.A., Dodds K.G., Crawford A.M. & Beattie C.W. (1998). A second-generation linkage map of the sheep genome. *Mamm. Genome*, *9*, 204-209.

Dennis J.A., Healy P.J., Beaudet A.L. & O'Brien W.E. (1989). Molecular definition of bovine argininosuccinate synthetase deficiency. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, *86*, 7947-7951.

Ellegren H., Chowdhary B., Johansson M. & Andersson L. (1994). A primary linkage map of the porcine genome reveals a low rate of recombination. *Genetics*, *137*, 1089-1100.

Fujii J., Otsu K., Zorzato F., de Leon S., Khanna V.K., Weiler J.E., O'Brien P.J. & MacLennan D.H. (1991). Identification of a mutation in porcine ryanodine receptor associated with malignant hyperthermia. *Science*, *253*, 448-451.

Georges M., Nielsen D., Mackinnon M., Mishra A., Okimoto R., Pasquino A.T., Sargeant L.S., Sorensen A., Steele M.R., Zhao X., *e coll.* (1995). Mapping quantitative trait loci controlling milk production in dairy cattle by exploiting progeny testing. *Genetics*, *139*, 907-920.

Gerbens F., Jansen A., van Erp A.J., Harders F., Meuwissen T.H., Rettenberger G., Veerkamp J.H. & te Pas M.F. (1998). The adipocyte fatty acid-binding protein locus: characterization and association with intramuscular fat content in pigs. *Mamm. Genome*, *9*, 1022-1026.

Gerbens F., van Erp A.J., Harders F.L., Verburg F.J., Meuwissen T.H., Veerkamp J.H. & te Pas M.F. (1999). Effect of genetic variants of the heart fatty acid-binding protein gene on intramuscular fat and performance traits in pigs. *J. Anim. Sci.*, *77*, 846-852.

Grobet L., Martin L.J., Poncelet D., Pirottin D., Brouwers B., Riquet J., Schoeberlein A., Dunner S., Menissier F., Massabanda J., Fries R., Hanset R. & Georges M. (1997). A deletion in the bovine myostatin gene causes the double-muscled phenotype in cattle. *Nature Genetics*, *17*, 71-74.

Groenen M.A., Cheng H.H., Bumstead N., Benkel B.F., Briles W.E., Burke T., Burt D.W., Crittenden L.B., Dodgson J., Hillel J., Lamont S., de Leon A.P., Soller M., Takahashi H. & Vignal A. (2000). A consensus linkage map of the chicken genome. *Genome Res.*, *10*, 137-147.

Hu J., Bumstead N., Barrow P., Sebastiani G., Olien L., Morgan K. & Malo D. (1997). Resistance to salmonellosis in the chicken is linked to *NRAMP1* and *TNC*. *Genome Res.*, *7*, 693-704.

Johnson L.A. (1999). Preselezione del sesso mediante separazione degli spermatozoi maschili e femminili, pp. 111-125. In: V. Russo, S. Dall'Olio, L. Fontanesi (Ed.), *Atti del Simposio Internazionale, Dalla prima fecondazione artificiale alle moderne biotecnologie della riproduzione: vie tradizionali e nuove frontiere per la zootecnia*. DIPROVAL, Bologna.

Kappes S.M., Keele J.W., Stone R.T., McGraw R.A., Sonstegard T.S., Smith T.P., Lopez-Corrales N.L. & Beattie C.W. (1997). A second-generation linkage map of the bovine genome. *Genome Res.*, *7*, 235-249.

Keele J.W., Shackelford S.D., Kappes S.M., Koohmaraie M. & Stone R.T. (1999). A region on bovine chromosome 15 influences beef longissimus tenderness in steers. *J. Anim. Sci.*, *77*, 1364-1371.

Kirkpatrick B.W., Byla B.M. & Gregory K.E. (2000). Mapping quantitative trait loci for bovine ovulation rate. *Mamm. Genome*, *11*, 136-139.

Knott S.A., Marklund L., Haley C.S., Andersson K., Davies W., Ellegren H., Fredholm M., Hansson I., Hoyheim B., Lundstrom K., Moller M. & Andersson L. (1998). Multiple marker mapping of quantitative trait loci in a cross between outbred wild boar and large white pigs. *Genetics*, *149*, 1069-1080.

Korstanje R., Gillissen G.F., Versteeg S.A., Van Oost B.A., Van Zutphen L.F.M. & Van Lith H.A. (2000). Linkage mapping of rabbit microsatellite markers generated from chromosome-specific libraries. *Proc. of the 27th International Society of Animal Genetics Conference*, Minneapolis, 22-26 July.

Le Roy P., Naveau J., Elsen J.M. & Sellier P. (1990). Evidence for a new major gene influencing meat quality in pigs. *Genet. Res.*, *55*, 33-40.

Lindgren G., Sandberg K., Persson H., Marklund S., Breen M., Sandgren B., Carlsten J. & Ellegren H. (1998). A primary male autosomal linkage map of the horse genome. *Genome Res.*, *8*, 951-966.

Maddox J,F., Davies K.P., Crawford A.M., Hulme D.J., Vaiman D., Cribiu E.P., Freking B.A., Beh K.J., Cockett N.E., Kang N., Riffkin C.D., Drinkwater R., Moore S.S., Dodds K.G., Lumsden J.M., van Stijn T.C., Phua S.H., Adelson D.L., Burkin H.R., Broom J.E., Buitkamp J., Cambridge L., Cushwa W.T., Gerard E., Galloway S.M., Harrison B., Hawken R.J., Hiendleder S., Henry H.M., Medrano J.F., Paterson K.A., Schibler L., Stone R.T. & van Hest B. (2001). An enhanced linkage map of the sheep genome comprising more than 1000 loci. *Genome Res.*, *11*, 1275-1289.

Mariani P., Barrow P.A., Cheng H.H., Groenen M.A.M., Negrini R. & Bumstead N. (1998). A major quantitative trait locus determining resistance to Salmonellosis is located on chicken chromosome 5. *Anim. Genet.*, *29*, (Suppl. 1), 73.

Mariani P., Lundström K., Gustafsson U., Enfält A.-C., Juneja R.K. & Andersson L. (1996). A major locus (*RN*) affecting muscle glycogen content is located on pig Chromosome 15. *Mamm. Genome*, *7*, 52-54.

Marklund L., Johansson Moller M., Høyheim B., Davies W., Fredholm M., Juneja R.K., Mariani P., Coppieters W., Ellegren H. & Andersson L. (1996). A comprehensive linkage map of the pig based on a wild pig – Large White intercross. *Anim. Genet.*, *27*, 255-269.

Meijerink E., Fries R., Vögeli P., Masabanda J., Wigger G., Stricker C., Neuenschwander S., Bertschinger H.U. & Stranziger G. (1997). Two α(1,2) fucosyltransferase genes on porcine chromosome 6q11 are closely linked to the blood group inhibitor (*S*) and *Escherichia coli* F18 receptor (*ECF18R*) loci. *Mamm. Genome*, *8*, 736-741.

Milan D., Jeon J.T., Looft C., Amarger V., Robic A., Thelander M., Rogel-Gaillard C., Paul S., Iannuccelli N., Rask L., Ronne H., Lundstrom K., Reinsch N., Gellin J., Kalm E., Roy P.L., Chardon P. & Andersson L. (2000). A mutation in *PRKAG3* associated with excess glycogen content in pig skeletal muscle. *Science*, *288*, 1248-1251.

Milan D., Woloszyn N., Yerle M., Le Roy P., Bonnet M., Riquet J., Lahbib-Mansais Y., Caritez J.-C., Robic A., Sellier P., Elsen J.-M. & Gellin J. (1996). Accurate mapping of the "acid meat" *RN* gene on genetic and physical maps of pig chromosome 15. *Mamm. Genome*, *7*, 47-51.

Mileham A.J., Plastow G.S. & Southwood O.I. (1996). DNA markers for pig litter size. *Patent N. PCT/GB96/01408.*

Montgomery G.W., Crawford A.M., Penty J.M., Dodds K.G., Ede A.J., Henry H.M., Pierson C.A., Lord E.A., Galloway S.M., Schmack A.E., Sise J.A., Swarbrick P.A., Hanrahan V., Buchanan F.C. & Hill D.F. (1993). The ovine Booroola fecundity gene (*FecB*) is linked to markers from a region of human chromosome 4q. *Nature Genet.*, *4*, 410-414.

O'Brien S.J., Eisenberg J.F., Miyamoto M., Hedges S.B., Kumar S., Wilson D.E., Menotti-Raymond M., Murphy W.J., Nash W.G., Lyons L.A., *e coll.* (1999). Genome maps 10. Comparative genomics. Mammalian radiations. Wall chart. *Science*, *286*, 463-478.

Paszek A.A., Wilkie P.J., Flickinger G.H., Rohrer G.A., Alexander L.J., Beattie C.W. & Schook L.B. (1999). Interval mapping of growth in divergent swine cross. *Mamm. Genome*, *10*, 117-122.

Pelletier J., Bodin L., Hanocq E., Malpaux B., Teyssier J., Thimonier J. & Chemineau P. (2000). Association between expression of reproductive seasonality and alleles of the gene for Mel_{1a} receptor in the ewe. *Biol. Reprod.*, *62*, 1096-1101.

Rathje T.A., Rohrer G.A. & Johnson R.K. (1997). Evidence for quantitative trait loci affecting ovulation rate in pigs. *J. Anim. Sci.*, *75*, 1486-1494.

Rohrer G.A., Alexander L.J., Hu Z., Smith T.P.L., Keele J.W. & Beattie C.W. (1996). A comprehensive map of the porcine genome. *Genome Res.*, *6*, 371-391.

Rohrer G.A., Alexander L.J., Keele J.W., Smith T.P.L. & Beattie C.W. (1994). A microsatellite linkage map of the porcine genome. *Genetics*, *136*, 231-245.

Rothschild M., Jacobson C., Vaske D., Tuggle C., Wang L., Short T., Van der Steen H., Mileham A. & Plastow G. (1996). The estrogen receptor locus is associated with a major gene influencing litter size in pigs. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, *93*, 201-205.

Rudolph J.A., Spier S.J., Byrns G., Rojas C.V., Bernoco D. & Hoffman E.P. (1992). Periodic paralysis in Quarter Horses: a sodium channel mutation disseminated by selective breeding. *Nature Genet.*, *2*, 144-147.

Russo V., Davoli R., Dall'Olio S. & Zambonelli P. (1994). Individuazione del genotipo Alotano nei suini mediante PCR di diversi tipi di tessuto. *Atti SISVet*, *48*, 1715-1719.

Russo V., Davoli R., Tagliavini J., Dall'Olio S., Bigi D., Costosi E., Coscelli M.B. & Fontanesi L. (1993). Identificazione del genotipo dei suini per la sensibilità all'alotano a livello di DNA mediante PCR. *Zoot. Nutr. Anim.*, *19*, 89-93.

Russo V., Bertoni G., Franchini A., Lanazi D. & Nanni Costa L. (2000). Prodotti di origine animale: esigenze dei consumatori, dell'industria e della distribuzione. In: Atti del Convegno *Ricerca, formazione e innovazione tecnologica per la zootecnia del terzo milliennio*, Verona, 21-22 giugno - Quaderno ASSALZ00 n. 65/2000.

Russo V. & Nanni Costa L. (1995). Suitability of pig meat for salting and the production of quality processed products. *Pig News Inform.*, *16*, 17N-28N.

Schook L.B., Rutherford M.S., Murtaugh M.P. & Dial G.D. (1996). Mapping the pig genome: applications for health and production, 19-24. *Proc. of the 14th IPVS Congress*, Bologna, 7-10 July.

Schwenger B., Schöber S. & Simon D. (1993). DUMPS cattle carry a point mutation in the Uridine Monophosphate Synthase gene. *Genomics*, *16*, 241-244.

Shuster D.E., Kehrli M.E., Ackermann M.R. & Gilbert R.O. (1992). Identification and prevalence of a genetic defect that causes leukocyte adhesion deficiency in Holstein cattle. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, *89*, 9225-9229.

Swinburne J., Gerstenberg C., Breen M., Aldridge V., Lockhart L., Marti E., Antczak D., Eggleston-Scott M., Bailey E., Mickelson J., Roed K., Lindgren G., von Haeringen W., Guerin G., Bjarnason J., Allen T. & Binns M. (2000). First comprehensive low-density horse linkage maps based on two 3-generation, full sibling, cross-bred horse reference families. *Genomics*, *66*, 123-134.

Taylor J.F., Coutinho L.L., Herring K.L., Gallagher D.S. Jr., Brenneman R.A., Burney N., Sanders J.O., Turner J.W., Smith S.B., Miller R.K., Savell J.W. & Davis S.K. (1998). Candidate gene analysis of *GH1* for effects on growth and carcass composition of cattle. *Anim. Genet.*, *29*, 194-201.

Vaiman D., Schibler L., Bourgeois F., Oustry A., Amigues Y. & Cribiu E.P. (1996). A genetic linkage map of the male goat genome. *Genetics*, *144*, 279-305.

Van Kaam J.B., Groenen M.A., Bovenhuis H., Veenendaal A., Vereijken A.L. & Van Arendonk J.A. (1999). Whole genome scan in chicken for quantitative trait loci affecting carcass traits. *Poultry Sci.*, *78*, 1091-1099.

Venter J.C., Adams M.D., Myers E.W., Li P.W., Mural R.J., Sutton G.G., Smith H.O., Yandell M., Evans C.A., Holt R.A., Gocayne J.D., Ananatides P., *e coll.* (2001). The sequence of the human genome. *Science*, *291*, 1304-1351.

Wright F.A., Lemon W.J., Zhao W.D., Sears R., Zhuo D., Wang J.P., Yang H.Y., Baer T., Stredney D., Spitzner J., Stutz A., Krahe R. & Yuan B. (2001). A draft annotation and overview of the human genome. *Genome Biol.*, *2*, 1-18.

Zhang B., Healy P.J., Zhao Y., Crabb D.W. & Harris R.A. (1990). Premature translation of the Pre-E1α subunit of the branched chain α-ketoacid dehydrogenase as a cause of Maple Syrup Urine Disease in polled Hereford calves. *J. Biol. Chem.*, *265*, 2425-2427.