

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA  
DIP. di BIOMEDICINA COMPARATA ED ALIMENTAZIONE

Corso di laurea magistrale in Biotecnologie per l'alimentazione

**STUDIO DI ASSOCIAZIONE TRA POLIMORFISMI A  
SINGOLO NUCLEOTIDE (SNPs) E CARATTERI DI  
QUALITA' DELLA CARCASSA E DELLA COSCIA IN SUINI  
PESANTI ITALIANI.**

Relatore  
Ch.mo Prof. Paolo Carnier

Correlatore  
Dott.ssa Roberta Rostellato  
Dott.ssa Valentina Bonfatti

Laureando  
Bergo Tiziano  
Matricola n. 1080179-BAL

ANNO ACCADEMICO 2014-2015



“E’ vero...  
Fra mille compagni e ancor più nemici...  
Solo tu... Soltanto tu...  
Mi hai fatto dimenticare il mio sogno.”

*Berserk - Kentaro Miura*



Indice

<b>Riassunto</b>	<b>-VIII-</b>
<b>Abstract</b>	<b>-X-</b>

## **1. Introduzione**

La filiera suinicola italiana e andamento dei mercati nazionali ed internazionali.	-1-
Sistema di produzione del suino pesante Italiano.	-2-
Classificazione e qualità della carcassa suina.	-3-
Prodotti a base di carne suina: le Denominazioni di Origine.	-5-
Qualità suino pesante italiano e delle cosce fresche per le produzioni certificate.	-5-
Tecnica di produzione. Il prosciutto di Parma DOP.	-7-
Dalla valutazione genetica tradizionale alla selezione assistita da marcatori.	-9-
Le teoria di Theo Meuwissen: la selezione genomica (GS).	-10-
Studi di associazione sull'intero genoma.	-11-
Genotipizzazione mediante la tecnologia del DNA-chip.	-12-
Controllo qualità dei genotipi.	-13-
Stato dell'arte studi GWAS su caratteri legati alla qualità della coscia e della carne suina.	-15-
Il suino Goland: una realtà nell'industria suinicola Italiana.	-16-

## **2. Obiettivo**

## **3. Materiali e metodi**

Animali.	-19-
Caratteri esaminati.	-19-
Genotipizzazione.	-20-
Suddivisione degli animali con EBV favorevole e sfavorevole per il carattere di interesse.	-21-
Analisi degli EBVs e differenze tra i due gruppi.	-22-
STUDIO DI ASSOCIAZIONE.	-22-
Controllo di qualità dei genotipi	-23-
Calcolo delle frequenze alleliche e determinazione degli SNPs associati ai caratteri quantitativi.	-23-
Elaborazione dei grafici.	-25-
Analisi bioinformatica.	-25-

<b>4. Risultati e discussione</b>	<b>-27-</b>
Statistiche descrittive.	-27-
Analisi di associazione.	-27-
Controllo di qualità dell'informazione genotipica.	-27-
Risultati caratteri.	-29-
<b>5. Conclusioni ed implicazioni future</b>	<b>-40-</b>
<b>6. Appendice</b>	<b>-41-</b>
<b>Bibliografia</b>	<b>-62-</b>



## Riassunto

La valutazione genetica tradizionale si basa sulla misurazione dei fenotipi degli animali i quali, combinati ai dati di pedigree, vengono utilizzati per la stima del valore riproduttivo dei candidati riproduttori. Questo metodo presenta però notevoli limiti in termini di progresso genetico, soprattutto per:

- i caratteri difficili da misurare a livello di fenotipo (caratteri legati al sesso, fenotipi ottenibili solamente in tarda età, caratteri post-mortem, etc.),
- la lunghezza dell'intervallo di generazione per il ricambio dei riproduttori,
- bassa accuratezza della stima dei breeding values (EBVs).

Nel 2001, il ricercatore norvegese Theo Meuwissen introdusse l'approccio della selezione genomica (Meuwissen et al., 2001). Essa consiste nella possibilità di stimare in modo accurato il valore riproduttivo degli animali (in questo caso definito *genomic breeding value*, GEBV) valutando simultaneamente l'effetto di un elevato numero di marcatori molecolari distribuiti in tutto il genoma.

Dopo l'elaborazione di un'equazione di predizione dei GEBVs ottenuta studiando fenotipo e genotipo degli animali, i candidati riproduttori possono essere valutati conoscendo il solo genotipo. Visto che il DNA è disponibile fin dalla nascita, la valutazione genetica può avvenire in tempi più rapidi riducendo l'intervallo di generazione. In particolare per la filiera suinicola italiana, l'approccio della selezione genomica facilita la valutazione per tutti i caratteri post-mortem legati alla qualità della carcassa e delle cosce destinate alla produzione del prosciutto DOP.

I marcatori sfruttati nella selezione genomica sono polimorfismi a singolo nucleotide (SNPs). Essi sono definiti come differenze di una singola base in punti specifici del genoma e disponibili in numero sufficientemente alto per una stima accurata dei GEBVs.

La disponibilità dei rilievi fenotipici e del genotipo per un elevato numero di marcatori consente inoltre di eseguire studi di associazione sull'intero genoma (*genome-wide association studies*, GWAS). Essi si basano sulla differenza tra le frequenze di varianti genetiche rilevate in gruppi di animali che divergono nel fenotipo per un certo carattere.

L'obiettivo del progetto di tesi è determinare l'associazione tra SNPs e caratteri quantitativi legati alla qualità della carcassa e della coscia in suini pesanti italiani. Tali marcatori molecolari potranno essere sfruttati per l'implementazione di un approccio di selezione genomica per migliorare la qualità della carne e dei prosciutti.

L'analisi di associazione è stata condotta analizzando circa 9 000 SNPs sparsi lungo tutto il genoma suino attraverso la tecnologia del DNA-chip. L'associazione tra fenotipo e marcatori è stata determinata confrontando le frequenze alleliche di ciascun SNP in due gruppi di animali individuati in base al loro EBV stimato per ciascun carattere preso in esame. Per l'analisi di associazione e lo screening qualitativo del dataset è stato utilizzato il programma PLINK Versione 1.07.

In totale sono risultati associati 439 SNPs localizzati in tutti i cromosomi del genoma visualizzabili tramite grafici di tipologia Manhattan plot, elaborati con il software Haploview. Il lavoro condotto per questa tesi è parte di un lavoro più ampio svolto dal gruppo di ricerca con cui ho collaborato, che ha come obiettivo quello di sviluppare un programma di selezione genomica per il miglioramento di caratteri legati alla qualità della carcassa e, della coscia nelle linee suine dell'azienda suinicola Gorzagri e le informazioni qui ottenute possono supportare questo lavoro.





## Abstract

The traditional genetic evaluation of breeding candidates is based on the measurement of the phenotypes of animals. They are combined to pedigree data to estimate the breeding value of candidates. This method, however, has significant limitations in terms of genetic progress, especially for:

- traits difficult to measure (traits related to sex, phenotypes obtained only in old age, post-mortem characters, etc.),
- the length of the generation interval,
- low accuracy of the estimated breeding values (EBVs).

In 2001, the norwegian researcher Theo Meuwissen proposed the approach of genomic selection (Meuwissen et al., 2001). It consists in the possibility to estimate accurately the breeding value of animals (in this case defined *genomic breeding value*, GEBV) evaluating simultaneously the effect of a high number of molecular markers covering the whole genome. Phenotypic and genomic information are combined to develop an equation to predict GEBVs of breeding candidates for which only genotypic information are needed. Given that the DNA is available from birth, genetic evaluation can be done more quickly reducing the generation interval. In particular for the Italian pig industry, this approach facilitates the assessment of genomic selection for all traits related to carcass and ham quality which can be measure only after slaughter.

The markers exploited in genomic selection are single nucleotide polymorphisms (SNPs). They are defined as differences of a single base in specific points of the genome and available in number high enough for an accurate estimate of GEBVs.

The availability of phenotypic and genotypic information for a large number of markers also allows you to perform genome-wide association studies (GWAS). They are based on the difference between the frequencies of genetic variants detected in groups of animals that differ in phenotype for a trait.

The objective of this thesis is to determine the association between SNPs and quantitative traits related to carcass and ham quality in Italian heavy pigs. These molecular markers can be exploited for the implementation of an approach of genomic selection to improve the quality of raw thighs for production of dry-cured hams.

The association analysis was conducted analyzing approximately 9 000 SNPs covering the whole pig genome by means of DNA-chip technology. The association between phenotypes and markers was determined by comparing the allele frequencies of each SNP in two groups of animals, identified according to their EBV estimated for each trait. To perform the analysis the software PLINK has been used, while the program Haploview has been used for graphical analysis of results.

A total of 439 SNPs were associated to investigate traits. They were localized in all chromosomes of the pig genome. The work conducted for this thesis is part of a larger project done by the research group which aims to develop genomic selection procedures to improve carcass and ham quality traits in pigs reared in Gorzagri's farms. The results obtained here might support this work.





# 1. Introduzione

## **La filiera suinicola italiana e andamento dei mercati nazionali ed internazionali.**

Sono 8 561 000 i suini censiti in Italia a Dicembre 2013, secondo i dati forniti dall'ufficio di analisi statistica dell'Unione Europea (EUROSTAT), che corrispondono al 5.89% del totale a livello di comparto suinicolo europeo, collocando il nostro Paese al settimo posto per consistenza di capi allevati. Le nazioni di maggior spessore nel comparto suinicolo in UE secondo EUROSTAT (2013), sono Germania (con 28 460 000 capi), Spagna (con 25 654 000 capi), Francia (con 13 428 000 capi), Danimarca (con 12 402 000 capi), Olanda (con 12 013 000 capi) e la Polonia (con 10 994 000 capi), nei quali vengono selezionati e macellati i suini con pesi inferiori ai 100 kg, per ottenere principalmente carne fresca.

Differentemente dal resto d'Europa, la peculiarità dell'allevamento suinicolo italiano è di orientare la propria produzione da ingrasso verso un animale di peso elevato, che perciò viene caratteristicamente denominato "pesante" (Carnier, 2007). Difatti come dimostrano i dati Istat relativi all'anno 2013, il 26% dei suini censiti in Italia (che corrisponde a 2 221 976 capi), vengono destinati a questa tipologia di allevamento (ISTAT, 2013). Mentre per quanto riguarda le macellazioni, il 62% della produzione nazionale (che corrisponde ad 8 070 000 capi su 13 milioni di suini macellati nel 2013), è destinata principalmente al circuito delle Denominazioni d'Origine Protetta (DOP) (Noemata, 2014); a tale scopo la carne deve essere matura, priva di odori e sapori anomali, deve presentare un contenuto di grasso idoneo che consenta una corretta maturazione del prodotto durante i processi di stagionatura.

Il 75% del patrimonio suinicolo nazionale è raccolto principalmente nell'Italia settentrionale, nello specifico in: Lombardia (che rimane la regione leader), Emilia Romagna, Piemonte e Veneto, le quali conseguono un grado di autoapprovvigionamento complessivo del 65% che soddisfa più della metà del fabbisogno nazionale. Secondo l'analisi diffusa dall'Anas (Associazione nazionale allevatori suini), sulla base dati Istat (Istituto Nazionale di Statistica), nel 2013 la quantità di cosce suine presenti in Italia è pari a 72 milioni di pezzi in totale di cui:

- 23.8 milioni di cosce di suino italiano, che corrisponde al 33% del totale ed è disponibile per l'autoapprovvigionamento (pur avendo una flessione negativa del 3.1% rispetto all'anno precedente).
- 57 milioni di cosce che arrivano in Italia dall'estero (che corrisponde al rimanente 67% sul totale) di cui: 2 495 tonnellate (t) congelate; 10 200 t di prosciutti disossati; 2 400 t di prosciutti con osso.

Pertanto, per quanto riguarda le cosce suine, l'Italia è dipendente dalle importazioni, per la carne suina fresca il nostro Paese è quasi autosufficiente. Il nostro principale partner commerciale si conferma la Germania; seguono nell'ordine, la Francia, l'Olanda, la Danimarca, il Belgio, la Spagna e l'Austria. I prodotti maggiormente esportati, sono rappresentati prevalentemente da carni lavorate, dalle quali proviene il 90% del valore totale realizzato sui mercati esteri (ISTAT, 2013).

La suinicoltura italiana si caratterizza per un sistema di produzione di tipo intensivo, consistente in un basso numero di aziende con un elevato carico di capi. I dati relativi all'ultimo

censimento generale dell'agricoltura (Tabella 1.1) mostrano che solamente il 10% delle aziende detiene il 94,3% per cento degli animali (Greco e Bellini, 2010).

Classi di consistenza	Nr. Aziende	% sul totale	Nr. capi	% sul totale
<b>0-499</b>	23 599	90	527 291	5.7
<b>500-999</b>	640	2.4	451 440	4.8
<b>≥ 1000</b>	1998	7.6	8 352 223	89.5
<b>Totale</b>	<b>26 237</b>	<b>100</b>	<b>9 330 954</b>	<b>100</b>

Tabella 1.1 Consistenza delle aziende suinicole Italiane

L'analisi di ANAS sulla base di dati CRPA (Centro ricerche produzioni animali), mostra l'incremento dei costi di produzione dei suini a partire dal 2009, situazione che perdura fino a dicembre 2013 secondo le ultime indagini di mercato. Incremento dettato soprattutto dal prezzo dei mangimi e per la scarsa disponibilità di mais sul mercato europeo e mondiale (Montanari e Corradini, 2014). Per quanto riguarda il suino pesante, in allevamento a ciclo chiuso, il costo complessivo per capo si attesta a 244.8 euro (1.53 euro al kg), in crescita dell'1.95% rispetto al 2012. L'aumento è da attribuire all'incremento dei suini svezzati per scrofa, raggiunto attraverso un'attenta selezione dei riproduttori, ad una maggiore attenzione ai calori e, alla conseguente riduzione dei giorni di interparto, anche se comunque alla fine l'alimentazione incide per il 62.7% sul costo finale (Montanari e Corradini, 2014).

Diversa è la situazione per il suino pesante in allevamenti da ingrasso: calo modesto (-0.5%) per i costi di produzione totali, nonostante un incremento del 27% delle spese per l'alimentazione. Il costo totale per capo si attesta intorno ai 256.5 euro (1.54 euro al kg). Il maggiore incremento del costo di alimentazione nel ciclo aperto rispetto al ciclo chiuso è da attribuire alla mancanza del miglioramento genetico degli animali da ingrasso. I costi di produzione del lattone, in allevamenti a ciclo aperto, è aumentato dello 0.7%, pari a 86.56 per capo e 2.47 euro per kg (Montanari e Corradini, 2014).

### **Sistema di produzione del suino pesante Italiano.**

Diventa importante quindi, comprendere come avviene la produzione del suino pesante italiano destinato alla trasformazione in prosciutto DOP.

L'allevamento da ingrasso, detto del suino grasso da macello, sia a ciclo aperto che chiuso è suddiviso in tre fasi e prevede l'utilizzo del lattone cioè, un suino con peso vivo iniziale di 25-30 kg ed un'età pari a 65 giorni:

1. La prima fase o primo accrescimento ha una durata di 55 giorni e impone il raggiungimento del peso vivo di 60 kg, dopo cui il suino è definito magroncello. La loro alimentazione deve essere razionata per contenere un eccessivo ingrassamento che, nelle fasi successive, può provocare un ritardo nell'accrescimento e portare ad un allungamento del ciclo produttivo.
2. La seconda fase, che si protrae per 75 giorni e porta il suino a raggiungere i 110 kg di peso vivo, a questo punto detto magrone. Il suino quindi viene preparato alla

successiva fase di ingrasso dove riceverà grossi quantitativi di alimento; in questo caso il razionamento alimentare è di tipo quali-quantitativo, per stimolare lo sviluppo dell'apparato gastrointestinale e scheletrico;

3. L'ultima fase detta di ingrasso vero e proprio o fissaggio, realizza un suino di circa 160 kg e con almeno 280 giorni d'età. Il piano alimentare, generalmente, prevede la somministrazione dell'alimento in due pasti giornalieri (ANAS, 2011).

### Classificazione e qualità della carcassa suina.

Con il Decreto Ministeriale (DM) 12 Ottobre 2012 articolo 15, comma 1 inerente la classificazione delle carcasse suine, classificazione che si basa sulla stima della percentuale di carne magra della carcassa, ottenuta utilizzando apposite equazioni che richiedono principalmente:

- i dati di peso morto a freddo, che suddividono le carcasse per la tipologia di peso:
  - **L** dal termine anglofono *Light* cioè leggero per le carcasse di peso compreso tra i 70 ed i 110 kilogrammi;
  - **H** dal termine anglofono *Heavy* cioè pesante per le carcasse di peso compreso tra i 110.1 ed i 155 kilogrammi.
- le misure dello spessore del lardo dorsale e del muscolo Longissimus dorsi in millimetri, misurati entrambi tra la terz'ultima e la quart'ultima costola della carcassa usando sonde apposite (FAT-O-MEATER, HENNESSY GRADING PROBE).

Utilizzando un' equazione specifica per ciascuna tipologia di carcassa (H o L), si ottiene una stima della percentuale di carne magra ed, alla carcassa, viene attribuita una delle seguenti classi S, E, U, R, O e P riportate in dettaglio nella Tabella 1.2, le quali rappresentano uno specifico range di muscolosità.

Carne magra stimata in %	Classe EUROP
≥ 60	S
55-59,9	E
50-54,9	U
45-49,9	R
40-44,9	O
≤39,9	P

Tabella 1.2 Classi per la percentuale di carne magra.

Sulla base di tale distribuzione i soggetti appartenenti alla classe S ed E sono quelli a più alto valore economico e, presentano una carcassa particolarmente muscolosa con coperture adipose limitate. Al contrario, i soggetti raggruppati nelle classi successive hanno coperture adipose via via crescenti e, di conseguenza una minore incidenza della massa muscolare sul peso totale della carcassa, abbassandone il valore economico.

In merito alla classe S, c'è da sottolineare che essa viene attribuita unicamente alle carcasse di tipologia L, mentre per quanto riguarda le rimanenti classi comprese dalla E alla P, si applicano normalmente ad entrambe le tipologie di carcassa.

L'utilizzo delle categorie EUROP come strumento di stima del valore della carcassa suina in Italia è tuttavia discutibile, se confrontato agli standard produttivi europei, che sono orientati verso la produzione di carne fresca per il consumo immediato (carcasse più sfruttate a livello europeo sono quelle marchiate L come classificazione del peso e, S ed E per la percentuale di carne magra). Infatti la muscolosità non è un parametro esaustivo per descrivere la qualità di un tipo suino come quello pesante italiano, di conseguenza sono stati introdotti altri indici di controllo qualitativi (come colore, riscontro morfologico, consistenza e caratteristiche del grasso ecc.), che si sono invece dimostrati efficaci tecniche di misurazione, in grado di valorizzare al meglio il suino (Rossi, 2008).

Riassumendo, la classificazione ha come obiettivo quello di assicurare l'equo compenso dei produttori sulla base del peso e della composizione dei suini e, soprattutto di contribuire alla trasparenza di mercato. Tuttavia la qualità della carcassa apprezzata secondo la griglia europea si contrappone alla qualità "tecnologica" della carcassa definita nell'ottica del mercato italiano, rendendo quindi inapplicabili i criteri di qualità come definiti dalla Tabella 1.2 per il pagamento delle carcasse nella situazione italiana.

Il perché di questa condizione sembrerebbe essere attribuito ad una serie di motivazioni:

- Antagonismo od assenza di relazione tra criteri di selezione adottati per linee genetiche estere ed obiettivi di produzione italiani. Ad esempio: linee estere improntate nell'allevamento e nella selezione di suini leggeri e immaturi, con l'obiettivo principale di ridurre lo spessore del grasso dorsale e soprattutto di ridurre i costi di allevamento, che possono portare a degli effetti sfavorevoli sul grado di copertura adiposa delle cosce e sul tenore di grasso della carne destinata a trasformazione in prodotti tipici (Secchiari et al., 2009);
- Breeding companies estere poco interessate a mettere in atto piani di selezione per la produzione di linee suine "ad hoc" per la situazione italiana: problema del ritorno economico dell'investimento e della realizzazione operativa del programma (Secchiari et al., 2009);
- Le molteplici figure che partecipano alla filiera produttiva, rendono quanto mai complessa l'analisi dei caratteri di qualità e la messa in opera di sistemi per il miglioramento della filiera suinicola.
  - Qualità del suino per l'allevatore: migliorare l'efficienza riproduttiva di scrofe e verri, incrementare l'efficienza produttiva d'accrescimento/ingrasso, aumentare il potenziale di crescita e di resistenza a patologie e stress;
  - Qualità carcassa macello: caratteristiche di qualità delle carcasse secondo norma vigente, pretendere carcasse con qualità microbiologica, chimica e fisica irreprensibile;
  - Qualità della carne suina per l'industria di trasformazione: caratteristiche tecnologiche e "trasformabilità" carni ottimali in funzione ai parametri previsti dai disciplinari di produzione se ci riferiamo ai prodotti certificati, cercando di creare uniformità nella filiera e standardizzazione delle produzioni in funzione alle richieste del mercato, per quanto riguarda le produzioni non certificate (ISMEA, 2013).



### **Prodotti a base di carne suina: le Denominazioni di Origine.**

Attualmente con 264 prodotti DOP (Denominazione Origine Protetta), IGP (Indicazione Geografica Protetta) e STG (Specialità Tradizionale Garantita), l'Italia è il Paese europeo con il maggior numero di prodotti agroalimentari a denominazione di origine e a indicazione geografica riconosciuti dall'Unione europea (MIPAAF, 2014). Il sistema delle Indicazioni Geografiche dell'UE, infatti, favorisce il sistema produttivo e l'economia del territorio; tutela l'ambiente, perché il legame indissolubile con il territorio di origine esige la salvaguardia degli ecosistemi e della biodiversità.

Allo stesso tempo, grazie alla certificazione comunitaria, si danno maggiori garanzie ai consumatori, con un livello di tracciabilità e di sicurezza alimentare più elevato rispetto ad altri prodotti. Proprio grazie alla peculiarità della produzione suinicola, l'Italia si distingue nel resto del mondo per la qualità dei propri prodotti di salumeria. In Italia, la maggiore priorità dell'industria moderna suinicola è proprio la produzione di prosciutto crudo. In totale sono 37 i disciplinari di produzione riconosciuti dal Ministero delle politiche agricole alimentari e forestali (MIPAAF, 2014). I prodotti si dividono in:

- 16 IGP: di cui 3 Denominazioni di Origine che riguardano il prodotto prosciutto
  - ✓ Prosciutto Amatriciano IGP
  - ✓ Prosciutto di Norcia IGP
  - ✓ Prosciutto di Sauris IGP
- 21 DOP: di cui 8 Denominazioni di Origine che riguardano il prodotto prosciutto
  - ✓ Crudo di Cuneo DOP
  - ✓ Prosciutto di Carpegna DOP
  - ✓ Prosciutto di Modena DOP
  - ✓ Prosciutto di Parma DOP
  - ✓ Prosciutto di San Daniele DOP
  - ✓ Prosciutto Toscano DOP
  - ✓ Prosciutto Veneto Berico-Euganeo DOP
  - ✓ Valle d'Aosta Jambon de Bosses DOP

### **Qualità suino pesante italiano e delle cosce fresche per le produzioni certificate.**

Non basta solamente "portare a peso" il suino per poterlo già inserire nella filiera di produzione per le cosce certificate; particolare importanza assumono, per questo tipo di prodotti, le caratteristiche tecnologiche e qualitative della carne suina in quanto la tecnologia di trasformazione, basata sull'addizione di sale e stagionatura in ambiente controllato, non è in grado di correggere eventuali difetti e carenze della materia prima impiegata (Secchiari et al., 2009).

Perciò i disciplinari del prosciutto di Parma e San Daniele DOP per il suino pesante italiano prevedono determinate caratteristiche:

- L'allevamento del suino pesante può provenire da un'area geograficamente più ampia della zona di trasformazione, che comprende il territorio amministrativo delle seguenti Regioni: in comune per entrambi i disciplinari ci sono Emilia-Romagna, Veneto, Lombardia, Piemonte,

Umbria, Toscana, Marche, Abruzzo e Lazio. La regione Molise è prevista solo nel disciplinare del prosciutto di Parma mentre il Friuli-Venezia Giulia fa parte dell'area di produzione ed allevamento del suino pesante nel disciplinare del prosciutto San Daniele.

- In tali zone hanno sede tutti gli allevamenti dei suini le cui cosce sono destinate alla produzione del prosciutto di Parma e San Daniele, gli stabilimenti di macellazione abilitati alla relativa preparazione nonché i laboratori di sezionamento eventualmente ricompresi nel circuito della produzione protetta.
- Sono ammessi gli animali, in purezza o derivati, delle razze tradizionali di base Large White e Landrace, così come migliorate dal Libro genealogico italiano, mentre per la razza Duroc sono ammessi solo gli animali derivati. Anche meticci ed ibridi delle razze sopraelencate sono ammessi, purché provengano da schemi di selezione o incrocio attuati con finalità compatibili con quelle del Libro genealogico italiano per la produzione del suino pesante.
- Sono esclusi gli animali in purezza delle razze Landrace Belga, Hampshire, Pietrain, Duroc e Spotted Poland.
- L'età minima di macellazione è di nove mesi ed è accertata sulla base della timbro apposto ai fini del comma 3 dell'articolo 4 del Decreto Ministeriale 253/93.
- I tipi genetici utilizzati devono assicurare il raggiungimento di pesi elevati con buone efficienze e, comunque, un peso medio per partita (peso vivo) di chilogrammi  $160 \pm 10\%$ .
- In osservanza alla tradizione, restano comunque esclusi i portatori di caratteri antitetici, con particolare riferimento alla sensibilità agli stress (PSS), oggi rilevabili obiettivamente anche sugli animali "post mortem" e sui prodotti stagionati.

Anche le cosce fresche devono rispettare determinate specifiche tecniche tra cui:

- la consistenza del grasso: è stimata attraverso la determinazione del numero di iodio e/o del contenuto di acido linoleico, da effettuarsi sul grasso interno ed esterno del pannicolo adiposo sottocutaneo della coscia. Per ogni singolo campione il numero di iodio non deve superare 70 ed il contenuto di acido linoleico non deve essere superiore al 15%;
- la copertura di grasso: lo spessore del grasso della parte esterna della coscia fresca rifilata, misurato verticalmente in corrispondenza della testa del femore ("sottonoce"), dovrebbe aggirarsi intorno ai 20 millimetri per le cosce fresche utilizzate nella produzione di prosciutto di Parma di peso ricompreso fra i 7 e 9 chilogrammi, ed ai 30 millimetri nelle cosce fresche utilizzate nella produzione di prosciutto di Parma di peso superiore ai 9 chilogrammi. Mentre per il disciplinare del San Daniele lo spessore del grasso non deve essere inferiore ai 15 millimetri cotenna compresa per quanto riguarda le cosce fresche destinate alla produzione, il cui peso non deve essere inferiore agli 11 chilogrammi;
- qualità della carne: sono escluse dalla produzione protetta le cosce fresche provenienti da suini con miopatie conclamate (PSE, DFD, postumi evidenti di processi flogistici o traumatici, ecc.) certificate da un medico veterinario al macello;
- non possono essere utilizzate cosce che risultino ricavate da suini macellati da meno di 24 ore o da oltre 120 ore;

- le cosce fresche non devono subire, tranne la refrigerazione, alcun trattamento di conservazione, ivi compresa la congelazione; per refrigerazione si intende che le cosce devono essere conservate, nelle fasi di deposito e trasporto, ad una temperatura interna tra - 1 °C e + 4 °C;
- Per quanto riguarda le esigenze dell'industria salumiera di trasformazione, acquistano importanza determinante le proprietà tecnologiche, che riguardano il colore, la consistenza, la capacità di interagire con l'acqua, la marezzatura e il grado di assorbimento del sale.

### **Tecnica di produzione. Il prosciutto di Parma DOP.**

La peculiarità delle produzioni Made in Italy passano attraverso il Prosciutto di Parma, che con 10.4 milioni di pezzi marchiat, rappresenta il 76% dei prosciutti DOP fatturando nel solo 2013 ben 1.5 miliardi di euro (C.C.I.A.A. DI PARMA, 2014), ma anche il Prosciutto di San Daniele con 2.6 milioni di cosce stagionate (19.5% dei prosciutti DOP prodotti) incassa 345 milioni di euro (CONSORZIO DEL PROSCIUTTO DI SAN DANIELE, 2014), riconfermandosi anche nel 2013 come le due colonne portanti dei prodotti salumieri italiani, mentre il rimanente 4.5% è ripartito tra le altre cosce marchiate IGP e DOP di minor rilevanza economica.

Il metodo di ottenimento del prosciutto di Parma è suddiviso in nove fasi principali previste dalla Legge della Repubblica Italiana 13 febbraio 1990 n° 26 e dal Decreto Ministeriale 15 febbraio 1993 n.° 253 e da ultimo sono stati riconosciuti dal Regolamento CEE n. 1107 del 12.06.96 secondo disciplinare:

1. *Isolamento*: Il maiale deve essere: sano, riposato ed a digiuno da 15 ore. In presenza di queste condizioni si procede alla macellazione, in seguito la coscia viene isolata dalla mezzena.
2. *Raffreddamento*: La coscia separata dalla carcassa viene stoccata in apposite celle di raffreddamento per 24 ore, operazione unitaria utilizzata per portare la temperatura della coscia da 40 °C a 0 °C, perché il freddo rassoda la carne che può essere rifulata più facilmente, subendo un calo peso pari ad almeno 1%.
3. *Rifulatura*: Attraverso la rifulatura, asportando grasso e cotenna, si conferisce al prosciutto la caratteristica forma tondeggianti a "coscia di pollo". La rifulatura si esegue per due motivi, uno prettamente estetico, l'altro tecnico, favorisce infatti la salagione. Con la rifulatura la coscia perde grasso e muscolo per un 24% del suo peso.
4. *Salagione*: La coscia raffreddata e rifulata viene avviata dai macelli agli stabilimenti di salagione; è molto importante che questa operazione sia effettuata su cosce con temperatura giusta e uniforme; infatti, una coscia troppo fredda assorbe poco sale, mentre una coscia non sufficientemente fredda può subire fenomeni di deterioramento. La salagione avviene usando sale umido sulla cotenna e, sale secco nelle parti dove il muscolo è ben visibile. I prosciutti vengono posti in una cella frigorifera ad una temperatura variante fra 1 e 4 °C, con un'umidità dell'80% circa. Dopo 6/7 giorni di permanenza in questa cella, detta di primo sale, i prosciutti vengono ripresi, puliti dal sale

residuo e infine sottoposti ad una leggera passata di sale, per poi tornare in una nuova cella frigorifera, detta di secondo sale, e restarvi per 15/18 giorni a seconda del loro peso. Durante questo periodo il prosciutto assorbe lentamente il sale e cede parte della sua umidità. Al termine di questo periodo di salagione la perdita di peso è del 3.5/4% circa.

5. *Riposo*: Dopo aver eliminato il sale residuo, i prosciutti vengono posti in cella di riposo per periodi variabili da 60 a 90 giorni con una umidità del 75% circa a temperatura da 1 a 5 °C. Durante questa fase il prosciutto deve "respirare" senza inumidirsi o seccarsi troppo. E' molto frequente il ricambio dell'aria nelle celle. Il sale assorbito penetra in profondità distribuendosi uniformemente all'interno della massa muscolare. Il calo di peso nel riposo è pari a 8/10% circa.
6. *Lavatura-Asciugatura*: I prosciutti vengono lavati con acqua tiepida, raschiati nella cotenna per togliere eventuale sale e impurità. L'asciugatura avviene sfruttando le condizioni ambientali naturali, nelle giornate di sole secche e ventilate, oppure in appositi asciugatoi.
7. *Pre-stagionatura*: Avviene in stanzoni con le finestre contrapposte, dove i prosciutti sono appesi alle tradizionali "scalere". Le finestre vengono aperte in relazione ai rapporti umidità interna/esterna e umidità interna/umidità del prodotto. Tali rapporti devono permettere un asciugamento del prodotto graduale e quanto più possibile costante. Dopo la fase di pre-stagionatura viene battuto per meglio conferirgli la forma tondeggiante e, talvolta, la fossetta attorno alla noce viene cosparsa di pepe per mantenere asciutta la zona di contatto. Il calo di peso in questa fase è pari a 8/10%.
8. *Sugnatura*: La fossetta attorno alla noce, la parte muscolare scoperta ed eventuali screpolature vengono ricoperte di sugna, un impasto di grasso di maiale macinato cui viene aggiunto un po' di sale e di pepe macinato ed, eventualmente, farina di riso. La sugnatura svolge la funzione di ammorbidire gli strati muscolari superficiali evitando un asciugamento degli stessi troppo rapido rispetto a quelli interni e consentendo una ulteriore perdita di umidità. La sugna non è considerata ingrediente dalla legislazione italiana.
9. *Sondaggio e Stagionatura*: Dopo la sugnatura, al 7° mese, il prosciutto viene trasferito nelle "cantine", locali più freschi e meno ventilati delle stanze di pre-stagionatura. All'atto del trasferimento si effettuano le operazioni di sondaggio, momento essenziale nella "vita del prosciutto". In questa fase, un ago di osso di cavallo, che ha la particolarità di assorbire rapidamente per poi riperdere gli aromi del prodotto, viene fatto penetrare in vari punti della massa muscolare ed è poi annusato da operatori esperti dotati di particolari caratteristiche olfattive che stabiliscono il buon andamento del processo produttivo. Nel corso della stagionatura avvengono importanti processi biochimici ed enzimatici che determinano il caratteristico profumo e il sapore del prosciutto. In corso di stagionatura il calo di peso è di 5% circa.

Trascorsi 12 mesi di stagionatura e dopo appositi accertamenti effettuati dagli ispettori dell'Organismo Abilitato viene apposto il marchio a fuoco "corona ducale".

Per quanto riguarda il prosciutto San Daniele il metodo di ottenimento è suddiviso in nove fasi principali previste dalla Legge della Repubblica Italiana 14 febbraio 1990 n° 30 e dal Decreto Ministeriale 16 febbraio 1993 n.° 298 e da ultimo sono stati riconosciuti dal Regolamento CEE n. 1107 del 12.06.96 secondo disciplinare. Le fasi di produzione sono molto simili a quelle previste da altri disciplinari differenziandosi soprattutto per la fase di pressatura della coscia e mantenimento dello zampetto del suino.

### **Dalla valutazione genetica tradizionale alla selezione assistita da marcatori.**

Inizialmente, l'applicazione di tecniche di riproduzione del suino, nonché della sua selezione, si sono basate per anni su metodi intuitivi, senza alcun criterio scientifico; la cosiddetta scienza genetica non emerse fino all'inizio del XX secolo.

Difatti la rivoluzione genetica nell'industria suinicola si è protratta dal 1940, anno in cui tutto iniziò, fino ad arrivare agli anni '60; lasso di tempo nella quale sono stati sviluppati ed introdotti, metodi di applicazione della genetica quantitativa attraverso gli indici di selezione (Hazel, 1943) e gli schemi di incrocio (Dickerson, 1952).

La selezione genetica tradizionale, si basa principalmente sulla combinazione del pedigree<sup>1</sup> con le informazioni fenotipiche e, nella conoscenza dell'ereditabilità dei caratteri di interesse. Attraverso la metodica BLUP, (Best Linear Unbiased Prediction) (Henderson, 1984) si ottengono le stime dei valori genetici (EBV = Estimated Breeding Values) dei candidati riproduttori e in base ad essi viene stilata una classifica dei candidati riproduttori e sulla base di questo ranking vengono selezionati gli animali migliori per l'accoppiamento. Il metodo tradizionale presenta notevoli limiti, in termini di guadagno genetico che può essere solo moderato, in quanto (Van Eenennaam, 2014):

- l'intervallo generazionale nel turnover dei riproduttori può essere lungo;
- ci sono caratteri difficili da misurare come quelli legati al sesso, od ottenuti tardivamente nell'arco dell'esistenza dell'animale, oppure più semplicemente sono caratteri ottenibili solamente dopo la macellazione del suino (come i caratteri legati alla qualità della carcassa e della coscia oggetto di questa tesi);
- tali caratteri post mortem non sono misurabili direttamente nei candidati riproduttori, quindi è necessario allevare appositamente dei loro parenti per la stima degli EBVs. Lo devo fare direttamente sugli animali candidati riproduttori per poter ottenere le caratteristiche dei meticci;
- gli animali da ingrasso sono spesso meticci derivanti dall'incrocio di due linee pure. Per questo possiedono un diverso background genetico rispetto agli animali usati come riproduttori e le differenze ambientali tra allevamenti commerciali e nucleo contribuiscono alla ridotta relazione tra i fenotipi misurati nei due gruppi di animali.

Alla fine degli anni '80 e '90, grazie all'evoluzione delle tecniche di biologia molecolare, è aumentata la disponibilità di marcatori molecolari, come i microsatelliti, che hanno favorito lo

---

<sup>1</sup> rapporti di parentela tra gli animali.

sviluppo di studi sperimentali per l'individuazione di regioni genomiche e loci associati a caratteri quantitativi di particolare interesse economico per la zootecnia (Bidanel e Rothschild,2002).

La disponibilità di informazioni ricavate dall'analisi del DNA animale possono essere integrate con le metodologie di valutazione genetica tradizionali permettendo di ovviare ad alcune criticità. Il vantaggio forse più evidente è la riduzione delle tempistiche per la valutazione dei riproduttori in quanto il DNA è disponibile fin da subito (Meuwissen and Goddard, 1996).

La selezione assistita da marcatori molecolari (Marker Assisted Selection, MAS) è un metodo di selezione che prevede lo sfruttamento di informazioni, fornite dalle tecniche di genetica molecolare, relative ai polimorfismi del DNA (la maggior parte delle volte microsatelliti) in specifici siti del genoma, per l'individuazione di associazioni con caratteristiche di interesse (produttive, riproduttive, di qualità della carne ecc.) e il successivo utilizzo di tali conoscenze nella stima del valore genetico di verri e scrofe. (Carnier, 2007; Goddard e Hayes,2009). La MAS ha beneficiato di un'ampio consenso da parte della comunità scientifica soprattutto per l'individuazione di regioni cromosomiche che influenzano loci legati a caratteri quantitativi (Quantitative Trait loci, QTLs), ma l'applicazione è comunque rimasta abbastanza contenuta e gli aumenti in termini di guadagno genetico sono stati minimi (Dekkers, 2004), poiché i marcatori erano troppo pochi spiegando solamente una parte limitata della varianza genetica.

### **Le teoria di Theo Meuwissen: la selezione genomica (GS).**

La Selezione Genomica (GS) è stata proposta per la prima volta da Theo Meuwissen et al. (2001) e si basa sulla supposizione che, l'informazione ottenuta da un elevato numero di marcatori molecolari che ricoprono il genoma nella sua interezza, può essere impiegata per stimare i valori genetici dei candidati riproduttori senza essere a conoscenza del loro fenotipo. In questo caso il valore riproduttivo è rappresentato dal cosiddetto Genomic Estimated Breeding Value (GEBV). Questa teoria assume che tutti i marcatori siano in linkage disequilibrium con il carattere in esame e, che soprattutto riescano a spiegare tutta la varianza genetica (Calus, 2010). Visto che sono necessari moltissimi marcatori, quelli sfruttati per un processo di selezione genomica sono i polimorfismi a singolo nucleotide (SNP).

La selezione genomica avviene in quattro fasi principali:

*Fase 1.* Allestimento della popolazione di riferimento: il primo passo per implementare un processo di selezione genomica è quello di individuare un certo numero di animali (superiore a 1 000) sui quali verranno misurati i fenotipi per i caratteri oggetto di selezione e determinato il genotipo per decine di migliaia di SNPs mediante la tecnologia del DNA chip.

*Fase 2.* Le informazioni fenotipiche e genotipiche ottenute nella popolazione di riferimento sono utilizzate al fine di elaborare un'equazione statistica che permetta di stimare i GEBVs per i caratteri di interesse.

*Fase 3.* L'equazione di predizione viene quindi validata.

*Fase 4.* Il genotipo dei candidati riproduttori viene determinato mediante DNA-chip e sfruttando l'equazione di predizione si stimano i GEBVs. Sulla base di questi valori si elabora il ranking degli animali e si decidono chi sono i riproduttori. In questo caso non è necessario conoscere il fenotipo (Calus, 2010).

Al contrario di quanto è accaduto per i bovini, l'implementazione di programmi di selezione genomica è stata più lenta per i suini. Infatti l'intervallo di generazione non è molto lungo e i costi per la genotipizzazione erano troppo elevati. Grazie all'abbassamento dei costi legati all'analisi con il DNA chip, oggi la GS è stata applicata anche al nostro ambito (Van Eenennaam, 2014).

Lo sviluppo di programmi di GS:

- potrà facilitare la selezione dei candidati riproduttori, specialmente nel suino pesante visto che i caratteri oggetto di selezione sono difficili e costosi da misurare. Inoltre sfruttando l'informazione fenotipica registrata sui soggetti meticci sarà possibile determinare il GEBVs dei genitori (Dekkers, 2007).
- Permettono di evitare le problematiche riscontrate nella selezione classica che nella MAS.

La Selezione Genomica quindi permette di conseguire dei traguardi non indifferenti come ridurre lievemente il grado di Inbreeding, come pure l'intervallo generazionale, ottenendo buoni valori di guadagno genetico (Daetwyler et al., 2007), inoltre permette di aumentare l'accuratezza<sup>2</sup> della stima genomica dei valori dei riproduttori (GEBV), in relazione al metodo statistico scelto ed anche se facciamo riferimento alla dimensione ed al numero di generazioni della popolazione di riferimento (Meuwissen et al., 2001).

Da quanto riportato finora la GS in ambito suinicolo non è un processo banale e facilmente attuabile, come può sembrare, innanzitutto è necessario stimare l'effetto degli SNP in modo accurato su almeno qualche migliaio di animali per poter disporre di un accurato EBV e sebbene i prezzi dei suini siano in calo reperire tali cifre è tutt'altro che semplice.

Inoltre anche se si dispone di molti animali dotati di analisi fenotipica e genotipica, i modelli utilizzabili per ottenere queste stime sono numerosi e rappresentano interpretazioni genetiche e complessità di calcolo molto diversificate. Infine, per scegliere un metodo di stima ottimale è doveroso confrontarne diversi correlando il Genomic Estimated Breeding Value (GEBV) ottenuto con l'EBV del modello tradizionale. Oltretutto bisogna tener conto anche dei meticci, i quali sono un costo non indifferente per l'azienda poiché bisogna portarli a peso macellazione e stagionare le cosce, ed assumere personale che faccia i campionamenti per il piano di selezione. Questo nuovo strumento di selezione ha comunque provocato tutta una serie di dibattiti anche a livello della comunità scientifica per quanto riguarda la scelta delle specifiche tecniche dei chip a DNA da impiegare, come pure per il controllo qualità dei genotipi ottenuti (Raschetti, 2010).

### **Studi di associazione sull'intero genoma.**

Gli studi di associazione sull'intero genoma (genome-wide association studies, GWAS) sono stati recentemente proposti come un approccio molto efficace per l'individuazione di molte cause e fattori genetici che costituiscono la causa fondamentale di malattie comuni nell'uomo, o come nel nostro caso per individuare associazioni con i caratteri legati alla carcassa e alla coscia in suini.

---

<sup>2</sup> Per accuratezza del GEBV s'intende: la correlazione tra il GEBV ed il vero valore genetico dei riproduttori (TBVs). (Meuwissen et al., 2001)

Le associazioni sono studiate esaminando polimorfismi comuni in individui diversi, verificando successivamente se esiste una differenza nelle frequenze degli alleli di questi marcatori e quindi una qualche associazione dei polimorfismi rilevati con i caratteri di interesse. Gli studi di associazione possono avvenire mediante due approcci: diretto ed indiretto. Uno studio di associazione diretto consiste nel catalogare e testare una ad una tutte le possibili varianti causali. Tuttavia, risulta chiaro fin dall'inizio che l'approccio diretto presenta non pochi problemi pratici. Un'applicazione di questa strategia sull'intero genoma implica l'identificazione di tutti i geni così come di tutte le loro varianti. Per queste ragioni l'utilizzo del metodo diretto è limitato a pochi casi e quasi sempre sostituito con l'applicazione del metodo indiretto. La strategia indiretta evita la necessità di catalogare tutte le varianti, e si basa invece sull'associazione tra carattere d'interesse e polimorfismi (marker) localizzati vicino a locus strategici. La strategia indiretta quindi impiega una densa mappa di marker polimorfici per esplorare il genoma in maniera sistematica.

### **Genotipizzazione mediante la tecnologia del DNA-chip.**

La dimensione totale del genoma suino è di 2,8 miliardi di paia di basi, che contengono 21 640 geni codificanti proteine in 19 paia di cromosomi. Gli SNP sono i marcatori più diffusi nel genoma animale (uno ogni 500 - 1 000 nucleotidi); considerando che un genoma di mammifero è composto in media da circa 3 miliardi di nucleotidi, il numero di SNP presenti in ciascuna specie è di qualche milione. Questi marcatori, oltre ad essere i più frequenti nel genoma, sono biallelici e molto più raffinati e stabili rispetto ai micro satelliti (Schook,2005).

Alcuni metodi per la determinazione degli SNP sono ad esempio il metodo dei geni candidati che si basa sull'ipotesi che alcuni geni, in base alla loro funzione fisiologica e biochimica, possano influenzare direttamente o indirettamente un carattere produttivo. L'utilizzo di geni candidati può portare velocemente all'identificazione dei QTL in quanto si studiano direttamente associazioni tra polimorfismi (SNP, Single Nucleotide Polymorphism) in questi geni e i caratteri produttivi senza analizzare completamente il genoma come nel caso del genome scanning (Raschetti, 2009).

Un' alternativa all'approccio basato sui geni candidati è il Genome-Wide Association Study (GWAS),dove si impiega una densa mappa di markers polimorfici per esplorare il genoma in maniera sistematica, considerando quindi i cromosomi nella loro interezza, incluse regioni introniche e regioni comprese tra un gene e l'altro. La scelta dei markers per la GWAS ricade in ogni caso sugli SNPs biallelici grazie alla loro alta frequenza con cui compaiono nel genoma, per il basso tasso di mutazione a cui vanno incontro e per la facilità con cui possono essere analizzati rivelandosi uno strumento molto potente per il mappaggio in alta risoluzione dei QTL nelle specie di interesse zootecnico (Lu, 2012).

Per determinare in maniera rapida ed efficiente il genotipo per migliaia di SNPs in decine o centinaia di individui si ricorre alla tecnologia del "DNA-chip" e l'analisi può essere definita "analisi di genotipizzazione". Un chip a DNA è un vetrino sulla cui superficie sono presenti migliaia o decine di migliaia di sonde a DNA ciascuna delle quali corrisponde ad uno specifico SNPs. Questa tecnologia permette un'analisi accurata e rapida.



I chip a DNA di ultima generazione sono:

- disponibili in marche differenti (Affimetrix, Illumina, GeneSeek, anche se per le specie di interesse zootecnico i più utilizzati sono quelli dell'Illumina);
- disponibili per specie specifiche, ovviamente di interesse zootecnico;
- disponibili anche con marcatori personalizzati (polimorfismi su malattie rare, specifiche resistenze agli organismi patogeni ecc.);

Il miglioramento del funzionamento dei DNA chip messi a punto in questi anni ha portato allo sviluppo di diversi meccanismi con cui vengono determinati i genotipi. Una volta scelto il chip a DNA adatto alle proprie esigenze, bisogna ottenere il genotipo dell'animale analizzato per poter implementare dei programmi di selezione basati sulla GWAS: difatti sono molte le tecnologie per la determinazione gli SNP, che sono state integrate in operazioni di genotipizzazione su larga scala. I metodi di genotipizzazione degli SNP proprio per questo motivo sono ancora in fase di perfezionamento, miglioramento od adeguamento, ma già nuovi metodi stanno emergendo per soddisfare le esigenze della genomica odierna. Anche se attualmente però non è disponibile alcun metodo per la genotipizzazione degli SNP totalmente versatile che possa soddisfare le esigenze di ogni studio scientifico che potrebbe essere intrapreso (Bayes e Gut, 2005).

Il DNA chip che è stato utilizzato in questo studio basa il suo funzionamento sulla chimica denominata Infinium II che verrà di seguito approfondita.

#### *Infinium HD Assay:*

Il campione di DNA utilizzato per questo saggio viene amplificato e incubato per venti ore per togliere i bias di PCR causati dalle coppie guanina-citosina. Inoltre, un requisito relativamente ottimo è che la quantità di DNA richiesta per lo svolgersi dell'analisi è piuttosto esigua (750 ng), ma sufficiente a testare oltre 500.000 loci SNP. Il prodotto amplificato viene quindi digerito enzimaticamente in modo controllato in segmenti da 300 a 600 paia di basi ed il DNA lisato non richiede successiva elettroforesi su gel. Dopo la precipitazione in alcool e risospensione del DNA, il Chip è preparato nell'apposita camera adibita per l'ibridazione; dopodiché i campioni sono applicati ai Chip e incubati a temperatura controllata overnight. Per ogni allele corrisponde una sfera, che è specifica a sua volta per ogni locus SNP. Dopo l'ibridazione, i prodotti vengono successivamente colorati con coloranti fluorescenti specifici a seconda del genotipo. Le intensità di fluorescenza delle perle vengono rilevati dal Illumina BeadArray Reader e, sono a loro volta analizzati utilizzando il software automatizzati di Illumina per la determinazione del genotipo.

#### **Controllo qualità dei genotipi.**

Dopo aver ottenuto i dati dal Laboratorio americano è necessario valutarli con diversi indici qualitativi, in modo tale da comprendere se il nostro dataset possiede o meno i requisiti per proseguire con lo studio di associazione, questo perché lavorare con:

- preparazione e qualità dei campioni di DNA (stato di degradazione delle molecole, efficienza del processo di ibridazione, trasporto internazionale ecc.);

- condizioni sperimentali (locali ed attrezzature) inadeguate al lavoro commissionato;
  - operatori e/o dipendenti non adeguatamente preparati (errore umano, incidenti ecc.);
- possono portare alla rilevazione di falsi positivi e falsi negativi durante lo studio di associazione e per tali considerazioni si eseguono test qualitativi di screening del dataset.

Prima di procedere con l'analisi di associazione vera e propria è necessario eseguire un controllo dei risultati della genotipizzazione in quanto alcuni parametri devono rispettare alcuni requisiti.

- 1) *Qualità DNA del campione utilizzato*: Come prima cosa è necessario determinare l'indice della qualità del DNA di partenza ottenuto da un campione biologico come tessuto auricolare o sangue. Questo indice si ricava dai dati provenienti dalla lettura dei chip alla Illumina BeadArray Reader tramite l'utilizzo di un'equazione per la determinazione del Call rate per gli SNP, che deriva dal rapporto tra il numero di SNP assegnati ( $N^{\circ}$  SNP Ass.) e la sommatoria degli SNP non assegnati ( $N^{\circ}$  SNP nass.) con quelli assegnati ( $N^{\circ}$  SNP Ass.) come visibile nella formula:

$$\text{Call Chm} = \frac{N^{\circ} \text{ Snp Ass.}}{(N^{\circ} \text{ Snp Ass.} + N^{\circ} \text{ Snp nass.})}$$

Il valore del call rate di ogni campione varia tra zero ed uno e, più il valore ottenuto si avvicina ad uno più il numero di SNP assegnati è elevato e quindi non sono stati rilevati grandi problemi nella lettura del chip e che il DNA con cui abbiamo lavorato era in un buono stato di conservazione.

- 2) *Determinazione Call Rate degli SNP*: Il call rate degli SNP deriva dal rapporto tra il numero degli SNP a cui è stato assegnato un determinato genotipo e il numero totale degli SNP presenti nel chip come da formula.

$$\text{Call SNP} = \frac{N^{\circ} \text{ Assegnazioni}}{(N^{\circ} \text{ Assegnazioni} + N^{\circ} \text{ Missing})}$$

Ad esempio: se ottengo un valore minimo di Call Rate pari a 0,31 indica che 1 degli SNP è stato genotipizzato solo in 30 dei 96 individui ( $0,31 \cdot 96$ ), per cui per questo SNP la genotipizzazione non è andata a buon fine e quindi verrà scartato da analisi successive.

- 3) *Minor Allele Frequency (MAF) e determinazione dell'equilibrio di Hardy Weinberg*: All'intero di una popolazione è possibile determinare una minor frequenza allelica (minor allele frequency, MAF), definita come il rapporto tra la frequenza della variante più rara e quella più comune di un determinato SNP. Una MAF troppo bassa, tipicamente minore del 5%, indica generalmente errori nel sequenziamento, polimorfismi troppo rari o mutazioni ( $MAF < 0.01$ ). Un aspetto importante è che la MAF influenza la quantità di falsi positivi nei test statistici, quindi la scelta di una soglia, al di sotto della quale scartare gli SNP con MAF minore, non è banale. Generalmente la maggior parte degli studi non tiene conto di markers con  $MAF < 5-10\%$  in quanto hanno scarsa capacità di individuare l'effetto genetico su un determinato carattere.

Quindi non ci interessano gli SNP al di sotto della soglia MAF fissata a 0,05 in quanto sono ad una frequenza troppo bassa quindi bisogna eliminarli, in quanto potremmo farli risultare come falsi positivi nelle analisi statistiche e perciò includeremo degli SNP che non sono SNP, ma mutazioni.

- 4) *Stratificazione della popolazione*: Un potenziale problema che nasce da ogni studio basato su popolazione è la presenza non identificata di una stratificazione di popolazione che può simulare un segnale di associazione spurio e di conseguenza portare a falsi positivi e/o alla non individuazione dei reali effetti di associazione tra carattere e polimorfismo genetico a singolo nucleotide. La stratificazione può essere dovuta principalmente alla presenza di una struttura (cioè di sottogruppi) all'interno di una popolazione, tipicamente, gli studi di associazione genome-wide evitano di campionare, all'interno dello stesso studio, individui provenienti da diverse popolazioni, con l'intenzione di evitare la stratificazione dei dati. In generale, per il nostro studio, questo problema è una realtà con la quale avremo poco a che fare, poiché analizziamo suini meticci che derivano dal medesimo incrocio, della sola ed unica popolazione di riferimento a disposizione.

Tutte le statistiche per gli SNPs successive al controllo qualità effettuato sui genotipi, sono state condotte dopo aver rimosso individui con un alto tasso di informazioni genotipiche mancanti e/o insufficienti. Per quanto riguarda i parametri impostati durante le analisi qualitative dei dataset sono stati fissati sulla base di una scrupolosa ricerca bibliografica che ha portato all'applicazione di tali criteri anche nel nostro studio.

#### **Stato dell'arte studi GWAS su caratteri legati alla qualità della coscia e della carne suina.**

Per quanto riguarda il quadro generale per uomini ed animali di interesse zootecnico dal 1994 a novembre 2014 le pubblicazioni riguardanti gli studi GWAS sono 15 592 registrando comunque un trend in aumento (National Human Genome Research Institute, 2014. NCBI, 2014).

C'è un grande interesse nel progresso della GWAS negli animali e sono stati identificati alcuni geni associati a caratteri economicamente importanti. Tuttavia, il problema principale risiede nelle incongruenze tra i risultati riportati nei diversi studi GWAS per lo stesso carattere, che può essere attribuito principalmente ad aspetti come la dimensione della popolazione, la densità dei marcatori, la struttura genetica della popolazione, la scelta dei modelli statistici, scelta dei chip.

Inoltre, con la progressiva riduzione del costo di sequenziamento, è possibile che in futuro tutti gli individui possano essere sequenziati e genotipizzati in tempi più rapidi ed in modo più efficiente (Zhang et al., 2012).

E' importante identificare marcatori molecolari associati alla qualità della coscia e della carcassa per poterli includere in programmi di miglioramento genetico. Attualmente (a novembre 2014) non ci sono studi scientifici GWAS effettuati su i più importanti caratteri correlati alla qualità della coscia destinata alla produzione certificata di prosciutti DOP o IGP. La sola eccezione è un articolo di Fontanesi et al. pubblicato su BMC Genomics nel 2012, dove si riporta uno studio di associazione riguardante lo spessore del grasso dorsale condotto su circa 12 000 suini pesanti italiani utilizzando marcatori molecolari SNP rispecchiando perfettamente il panorama della

situazione contemporanea per il miglioramento genetico della specie suina rivolta come già riportato in precedenza alla produzione di un suino magro e leggero.

Per quanto riguarda la carne i caratteri più studiati nelle ricerche GWAS sono: la marezzatura, il colore della carne (Nonneman et al., 2013), tenerezza della carne (Nonneman et al., 2013), livello androsterone (Duijvesteijn et al., 2010), indolo e scatolo (Ramos et al., 2011), pH(Becker,2013), spessore grasso sottocutaneo (Fontanesi et al. 2012) , perdita peso della carne in cottura (Nonneman et al., 2013), peso carcassa (Becker, 2013).

### **Il suino Goland: una realtà nell'industria suinicola Italiana.**

L'azienda Gorzagri di Fonzaso (Italia) ha progettato e messo in atto il programma di selezione della linea verri C21 perseguendo come obiettivo generale il miglioramento della redditività di allevamento congiuntamente a quello dell'attitudine alla trasformazione delle cosce fresche in prodotti tipici stagionati secondo le caratteristiche elencate nei paragrafi precedenti.

Per ogni candidato riproduttore, l'indice di selezione<sup>3</sup> viene determinato utilizzando i valori genetici stimati per ognuno dei caratteri d'interesse, opportunamente "pesati" per il loro valore economico relativo attribuendo un'importanza diversificata ai vari caratteri, in funzione della loro rilevanza economica.

Gli animali della linea C21 sono utilizzati come riproduttori. Infatti essi sono accoppiati con scrofe ibride Goland (ottenute incrociando maschi di una linea sintetica di derivazione Large White e Pietrain, con femmine Large White) con l'obiettivo di produrre suini ibridi commerciali Goland. Essi sono destinati all'ingrasso e sono quindi macellati per ottenere cosce immesse nel circuito dei prosciutti DOP (Figura 1.1).

Dato che gli animali della linea C21 dovranno originare suini da ingrasso da cui ricavare cosce di elevata qualità, è necessario includere negli obiettivi della selezione anche quei caratteri che sono propri dei soggetti da ingrasso. I caratteri legati alla qualità della carcassa e della coscia non sono misurabili sugli animali di linea C21. Questo perché essi sono misurabili solo dopo la macellazione e non è possibile congelare il seme suino. Inoltre, i verri usati come riproduttori sono allevati nel nucleo di selezione che ha condizioni ambientali molto diverse dagli allevamenti commerciali dove vengono allevati i soggetti meticci. Questo fa sì che i caratteri siano poco correlati tra i due gruppi di animali e quindi misurarli in suini C21 non è comunque molto conveniente. Quindi si ricorre a programmi di sib-testing dove i verri nucleo della linea C21 vengono accoppiati con scrofe ibride Goland per ottenere dei gruppi di suini meticci (testing group) che vengono ingrassati solo allo scopo di macellarli e poter misurare i caratteri di qualità della carcassa e della coscia oggetto di selezione. I suini meticci appartenenti al testing group sono mezzi fratelli degli animali C21 tra i quali saranno scelti i futuri riproduttori. Un approccio di questo tipo oltre a portare ad avere EBVs non molto accurati, è anche parecchio dispendioso perché l'azienda è costretta ad allevare degli animali solo per la valutazione genetica.

---

<sup>3</sup> Tale indice rappresenta una sintesi del valore genetico di ogni candidato riproduttore in relazione all'obiettivo di selezione generale.

Proprio per ovviare alla necessità di attuare programmi di sib-testing si stanno valutando programmi di selezione genetica basati sull'informazione genomica contenuta nel DNA.

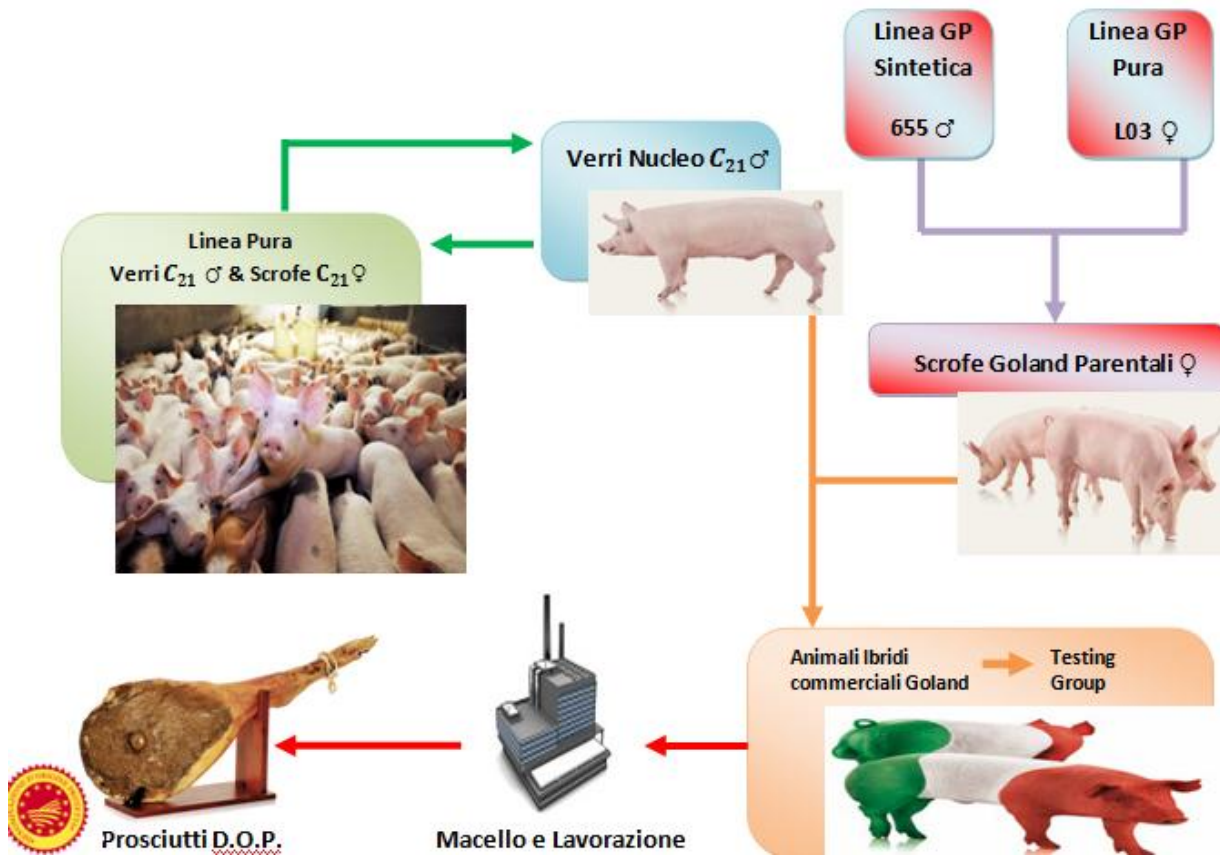


Figura 1.1 Schema selezione Gorzagri

## **2. OBIETTIVO DELLA TESI**

L'obiettivo del mio progetto di tesi è stato determinare l'associazione tra polimorfismi a singolo nucleotide (SNPs) e caratteri quantitativi legati al peso a 270 giorni, alla qualità della carcassa e della coscia in suini pesanti italiani. Tali marcatori molecolari potranno essere sfruttati per l'implementazione di un approccio di selezione genomica per migliorare la qualità della carne e dei prosciutti.

### 3. Materiali e metodi

#### Animali.

Il lavoro condotto per questa tesi è parte di un lavoro più ampio svolto dal gruppo di ricerca con cui ho collaborato che ha come obiettivo quello di sviluppare un programma di selezione genomica per il miglioramento di caratteri legati alla qualità della carcassa e della coscia nelle linee suine dell'azienda suinicola Gorzagri.

I dati fenotipici riguardanti l'accrescimento, la qualità della carcassa e della coscia sono registrati di routine su soggetti meticci i quali sono prodotti e allevati durante i programmi di sib-testing attuati per la valutazione genetica tradizionale della linea parentale pura C21. Le informazioni fenotipiche per questi caratteri sono disponibili per 10 488 suini meticci nati a partire da febbraio 2003 a gennaio 2013. Essi sono figli di 343 verri di linea nucleo C21 e 524 scrofe ibride Goland parentali. Essi sono stati macellati in gruppi di circa 70 animali ciascuno al raggiungimento di un'età di  $279.15 \pm 24.26$  giorni e ad un peso di  $167.88 \pm 24.26$  kg. Per tutti questi animali è anche disponibile un campione di tessuto auricolare da cui è possibile estrarre il DNA per la genotipizzazione.

Allo scopo di ottenere una popolazione di riferimento sufficientemente grande da questo gruppo di animali (con informazione fenotipica nota) sono stati scelti 1 088 animali da genotipizzare.

La scelta è stata fatta in modo tale da soddisfare i seguenti criteri:

- Fossero figli dei verri nucleo della linea C21: essi sono figli di 89 verri nucleo ed in media ogni verro nucleo ha 12 figli genotipizzati che sono stati scelti random tra tutti i disponibili.
- Fossero rappresentate tutte le famiglie (ciascuna famiglia è considerata come combinazione verro-scrofa): gli animali genotipizzati appartengono a 530 famiglie diverse con circa 2 individui rappresentanti di ciascuna famiglia.

Lo studio di associazione condotto in questa tesi ha quindi riguardato i 1 088 suini meticci (314 maschi e 774 femmine) genotipizzati per la costituzione della popolazione di riferimento per lo sviluppo dell'approccio di selezione genomica. Essi sono nati a partire da gennaio 2010 ad ottobre 2012. Sono figli di 89 padri e 215 madri. Sono stati allevati presso l'allevamento sito a Todi (PG). Gli animali sono stati stabulati in gruppi comprendenti da 4 a 7 suini e sono stati alimentati con una dieta ad libitum fino al raggiungimento dei 75 kg e successivamente con un regime alimentare di tipo ristretto. Essi sono stati macellati a partire da novembre 2010 a luglio 2013 in gruppi di circa 70 animali ciascuno.

#### Caratteri esaminati.

Nel presente studio sono stati esaminati i seguenti caratteri quantitativi.

Carattere legato all'accrescimento:

- Peso vivo a 270 giorni (kg): il peso vivo finale è stato aggiustato all'età di 270 giorni attraverso la regressione dell'età e del peso registrati in 6 diversi momenti (a 60, 90, 135, 180, 245 giorni di età e il giorno prima della macellazione).

Caratteri legati alla qualità della carcassa:

- Spessore del grasso dorsale sulla carcassa (mm): determinato attraverso lo strumento Fat-O-Meater esaminando un punto tra la terz'ultima e la quart'ultima costola;
- Contenuto di carne magra sulla carcassa (%): questo parametro è stato stimato a partire dalla misura dello spessore del grasso dorsale e del lombo ottenute con lo strumento Fat-O-Meater applicando la seguente formula:

$$y = 45.371951 - 0.221432 x_1 + 0.055939 x_2 + 2.554674 x_3$$

dove:  $x_1$  è la misura dello spessore del grasso dorsale;  $x_2$  è la misura dello spessore del lombo;  $x_3$  è il rapporto tra  $x_2$  e  $x_1$ .

Caratteri legati alla qualità della coscia

- Numero di iodio: Il suo valore esprime l'incidenza degli acidi grassi insaturi presenti in cento grammi di frazione grassa analizzata. Più alto è il suo valore, maggiore è la presenza di acidi grassi insaturi, i quali rendono instabile (ossidabile) il grasso, con conseguente sua denaturazione: irrancidimento, ingiallimento, percolazione. E' determinato attraverso equazioni di predizione basate sulla riflettanza di spettri NIRS ottenuti esaminando campioni di grasso di copertura delle cosce.
- Contenuto acido linoleico (%): è uno dei più importanti acidi grassi insaturi. Anch'esso è predetto attraverso la tecnica NIRS.
- Spessore del grasso sottocutaneo in prossimità del muscolo semimembranoso (mm): misurato con ecografo.
- Spessore del grasso sottocutaneo vicino al muscolo quadricipite femorale (mm): misurato con righello.
- Globosità: punteggio dato da un operatore esperto per valutare la tipica conformazione tondeggiante della coscia in una scala da 0 (poco globosa) a 4 (molto globosa), con punteggio ottimale che si aggira attorno all'1.
- Spessore del grasso di copertura della coscia: punteggio dato da un operatore esperto per valutare lo spessore del grasso di copertura con una scala da -4 (poco spesso) a +4 (molto spesso).
- Marezzatura: punteggio dato da un operatore esperto per valutare la presenza di grasso intramuscolare visibile (infiltrazioni di grasso nella coscia) in una scala da 0 (poca marezzatura) a 4 (elevata marezzatura), con punteggio ottimale che si aggira attorno all'1.

### **Genotipizzazione.**

Per ridurre i costi legati alla genotipizzazione è stato scelto di utilizzare un DNA-chip a bassa densità, sviluppato da Neogen a partire dal DNA-chip Illumina Porcine60SNP BeadChip (Illumina, Inc.). Un campione di tessuto auricolare per i 1 088 suini meticci selezionati è stato inviato al



laboratorio GeneSeek Inc. (Lincoln, NE, USA). Quindi la genotipizzazione è stata condotta utilizzando il DNA-chip a bassa densità GGP Porcine LD chip (Genomic Profiler for Porcine LD, GeneSeek Inc., a Neogen Co., Lincoln, NE).

### Suddivisione degli animali con EBV favorevole e sfavorevole per il carattere di interesse.

Per ciascun animale e per i diversi caratteri esaminati sono stati stimati gli EBVs utilizzando la metodologia BLUP. Gli EBVs sono stati standardizzati attraverso la formula:

$$EBV_{st} = (EBV - \mu)/\sigma$$

Dove  $\mu$ =EBV medio per gli animali genotipizzati e  $\sigma$ =deviazione standard degli EBVs degli animali genotipizzati. Per ciascun carattere è stata stilata una classifica degli animali in base al valore di  $EBV_{st}$  e successivamente essi sono stati suddivisi in due gruppi: ad un gruppo appartenevano il 10% degli animali con gli EBVs favorevoli per il carattere e al secondo quelli con gli EBVs più sfavorevoli secondo gli obiettivi della selezione (Tabella 3.1). Infatti il peso vivo a 270 giorni, lo spessore del grasso dorsale e lo spessore del grasso sottocutaneo della coscia necessitano di essere incrementati, poiché le cosce con poco grasso sottocutaneo hanno cali troppo elevati e per tale motivazione è necessario aumentare lo spessore (quindi gli animali migliori saranno quelli con EBV più elevato), mentre il contenuto di carne magra, la globosità, il numero di iodio, il contenuto di acido linoleico e la marezatura devono diminuire (e quindi gli animali migliori saranno quelli con EBV inferiore).

E' stato infine determinato, attraverso un test *t* se l' $EBV_{st}$  medio tra i due gruppi differisce in modo statisticamente significativo o meno.

Carattere	EBV <sub>st</sub> medio peggiori (u.d.s.)	EBV <sub>st</sub> medio migliori (u.d.s.)	F	P-value
Peso vivo a 270 giorni	-1.77	1.76	3601.45	<0.0001
Spessore grasso dorsale (mm)	-1.62	1.89	3903.78	<0.0001
Percentuale carne magra (%)	1.70	-1.84	4021.98	<0.0001
Numero di iodio	2.10	-1.9	4240.93	<0.0001
Contenuto di acido linoleico (%)	1.20	-0.99	4153.72	<0.0001
Spessore del grasso sottocutaneo in prossimità del muscolo semimembranoso (mm)	-1.61	1.84	3849.35	<0.0001
Spessore del grasso sottocutaneo vicino al muscolo quadricipite femorale (mm)	-1.66	1.75	4039.76	<0.0001
Globosità	1.78	-1.69	4198.07	<0.0001
Spessore del grasso sottocutaneo	-1.71	1.73	5184.31	<0.0001
Marezatura	0.84	-0.30	3629.65	<0.0001

Tabella 3.1 Differenze tra gli EBV<sub>st</sub> medi del gruppo degli animali migliori e peggiori. u.d.s.: unità di deviazione standard.

### **Analisi degli EBVs e differenze tra i due gruppi.**

Prima di procedere all'analisi di associazione abbiamo verificato se la differenza tra gli EBVs tra i due gruppi è statisticamente significativa oppure no. La tabella 3.1 riassume i risultati ottenuti. L'EBV<sub>st</sub> medio degli animali peggiori e quello degli animali migliori sono risultati significativamente diversi, infatti il P-value è inferiore al valore soglia ( $p < 0.05$ ) per tutti i caratteri esaminati.

### **STUDIO DI ASSOCIAZIONE.**

Analisi è stata effettuata mediante l'impiego di PLINK Versione 1.07 (Purcell et al., 2007), un software libero e gratuito, progettato ad hoc per gli studi di associazione sull'intero genoma, grazie al quale abbiamo potuto applicare delle soglie per il controllo qualità su i genotipi ottenuti dal nostro chip a DNA. Il programma per poter operare ha bisogno essenzialmente di una serie di file che contengono le informazioni provenienti dalla genotipizzazione dei nostri suini meticci suddivisi essenzialmente in: un file con estensione .PED che contiene le informazioni sui genotipi e fenotipi degli animali ed è suddiviso a sua volta in:

- Colonna numero 1: Famiglia
- Colonna numero 2: Matricola alfanumerica meticcio (animali analizzati)
- Colonna numero 3: Matricola alfanumerica padre
- Colonna numero 4: Matricola alfanumerica madre
- Colonna numero 5: Sesso
  - Maschio = 1 ;
  - Femmina = 2;
  - Sconosciuto = 3;
- Colonna numero 6: Fenotipo
  - 1 = animali con EBV favorevole;
  - 2 = animali con EBV sfavorevole;
  - 0 = animali che non stanno nelle due code;
- Colonna numero 7: Genotipo

Inoltre il programma richiede un file con estensione .MAP che contiene:

- Colonna numero 1 = Numero cromosoma suddiviso
  - Da 1 a 18 sono i corrispettivi autosomi del suino
  - 19 = cromosoma X
  - 20 = cromosoma Y
  - 21 = cromosoma sconosciuto (cromosoma virtuale dove ricadono gli SNP non ancora mappati)
- Colonna numero 2 = Codice identificativo dello SNP
- Colonna numero 3 = Posizione in paia di basi dello SNP

Una volta ottenuti per ciascun carattere i corrispettivi file .PED e .MAP è necessario avviare PLINK; programma che opera in Microsoft Disk Operating System (MS-DOS) presente nei sistemi operativi basati su Microsoft Windows e, per eseguire l'analisi qualitativa dei dataset è necessario immettere degli script di comando, i quali indicano quale test PLINK debba eseguire nei file .PED e .MAP.

### **Controllo di qualità dei genotipi.**

Prima di procedere con l'analisi di associazione vera e propria è necessario eseguire un controllo dei risultati della genotipizzazione in quanto alcuni parametri devono rispettare alcuni requisiti come già accennato nel capitolo introduttivo.

I parametri qualitativi eseguiti in questo studio su i nostri dataset sono:

- 1) *Qualità DNA del campione utilizzato*: ottenibile utilizzando la funzione di comando seguente

`--mind 0.1`

Per rimuovere gli animali con call rate inferiore a 0.90.

- 2) *Determinazione Call Rate degli SNP*: ottenibile utilizzando la funzione di comando

`--geno 0.1`

Per rimuovere gli SNP con call rate inferiore a 0.90.

- 3) *Minor Allele Frequency (MAF) e determinazione dell'equilibrio di Hardy Weinberg*: ottenibile utilizzando la funzione di comando

`--maf 0.05 --hwe 0.0001`

Per rimuovere gli SNP con MAF inferiore al 5%, mentre per quanto riguarda la determinazione dell'equilibrio di Hardy Weinberg abbiamo fissato una soglia di deviazione pari allo 0,0001 per eliminare bias di campionamento, genotipi in cui la loro classificazione è errata.

Inoltre è stata condotta un'analisi per verificare se erano presenti fenomeni di stratificazione della popolazione. Per questo è stata utilizzata la funzione `--cluster` del programma.

### **Calcolo delle frequenze alleliche e determinazione degli SNPs associati ai caratteri quantitativi.**

L'analisi di associazione vera e propria prevede il calcolo delle frequenze alleliche nei due gruppi di animali (quelli con EBVs favorevoli e quelli con EBVs sfavorevoli), nel calcolo della loro differenza e nell'attribuzione di un valore di significatività a questa differenza tramite un test statistico del chi-quadro.

L'analisi si effettua attraverso la funzione ASSOC del programma PLINK inserendo in unico passaggio uno script contenente tutti i comandi riguardanti i test qualitativi sopraelencati e la funzione di associazione ottenendo la seguente stringa di comando:

```
plink --ped ped_bft.ped --map map_plink.map --map3 --nonfounders --geno 0.1 --maf 0.05  
--hwe 0.0001 --assoc --mperm 50000
```

Dato che vengono testati un numero molto elevato di SNPs simultaneamente è necessario fare una correzione per un *multiple-testing* per evitare di rischiare di avere troppi falsi positivi (cioè SNPs associati al carattere ma che in realtà non lo sono). Tale correzione è stata effettuata attraverso la metodologia della permutazione (attraverso la funzione `-mperm` introdotta nello script). La permutazione prevede la generazione di un certo numero di dataset "simulati" mescolando casualmente i fenotipi del dataset originario.

Nel nostro caso abbiamo permutato 50 000 volte. In particolare abbiamo scelto di utilizzare un tipo di permutazione (MAX)t dove in ciascun round tutti gli SNPs venivano mantenuti.

Ottenendo due file di cui il primo con estensione .ASSOC e l'altro .MPERM.

Il file .ASSOC contiene i dati elaborati per lo studio di associazione senza la permutazione (quindi i P-value riferiti alla significatività della differenza nelle frequenze alleliche non sono stati corretti per il *multiple testing*):

- Colonna numero 1 = Numero cromosoma suddiviso
  - Da 1 a 18 sono i corrispettivi autosomi del suino
  - 19 = cromosoma X
  - 20 = cromosoma Y
  - 21 = cromosoma sconosciuto (cromosoma virtuale dove ricadono gli SNP non ancora mappati)
- Colonna numero 2 = Codice identificativo dello SNP
- Colonna numero 3 = Posizione in paia di basi dello SNP
- Colonna numero 4 = Allele con la frequenza minore
- Colonna numero 5 = Frequenza allele minore
- Colonna numero 6 = Frequenza allele maggiore
- Colonna numero 7 = Allele con la frequenza maggiore
- Colonna numero 8 = Chi quadro
- Colonna numero 9 = P-value
- Colonna numero 10 = Odds ratio

Il file .MPERM contiene i dati permutati (P-value corretti):

- Colonna numero in serie progressivo = Numero campioni
- Colonna numero 1 = Numero cromosoma suddiviso
  - Da 1 a 18 sono i corrispettivi autosomi del suino
  - 19 = cromosoma X
  - 20 = cromosoma Y
  - 21 = cromosoma sconosciuto (cromosoma virtuale dove ricadono gli SNP non ancora mappati)
- Colonna numero 2 = Codice identificativo dello SNP
- Colonna numero 4 = Empirical p-value
- Colonna numero 5 = Empirical p-value con correzione (MAX)t

Dall'elaborazione dei dataset otteniamo le frequenze alleliche ed i P-value cioè un numero che indica se la differenza tra i due gruppi di animali è significativa oppure no. Il valore soglia di P-value che nel nostro caso è stato di 0.05 e, gli SNP con P-value inferiori alla soglia prefissata, li considero significativi e quindi associati al carattere, invece quelli superiori a 0,05 non sono significativi e quindi non risultano essere associati.

## Elaborazione dei grafici.

Haploview è un programma progettato per semplificare e accelerare il processo di analisi dell'aplotipo, fornendo un'interfaccia comune ed intuitiva per la visualizzazione e la stampa dei risultati forniti da Plink nell'analisi di associazione e visualizzabili come da immagine 3.1 cioè in grafico di tipo Manhattan. I file di PLINK possono essere caricati nel programma Haploview utilizzando la scheda PLINK sulla schermata di caricamento iniziale e devono contenere almeno una colonna deve essere intitolata "SNP" in cui sono contenuti i codici identificativi dei marcatori ed una in cui viene indicata la posizione cromosomica espressa in paia di basi. Ottenendo dei grafici specifici per ogni carattere d'interesse nella quale sono indicati i cromosomi nell'asse delle ascisse, mentre nelle ordinate troviamo  $-\log_{10}$  delle frequenze alleliche, permettendo un immediato riconoscimento degli SNP associati grazie alla soglia di P-value (0.05) che li divide dai marcatori non associati al carattere. La versione del programma da noi utilizzata è la 4.2.

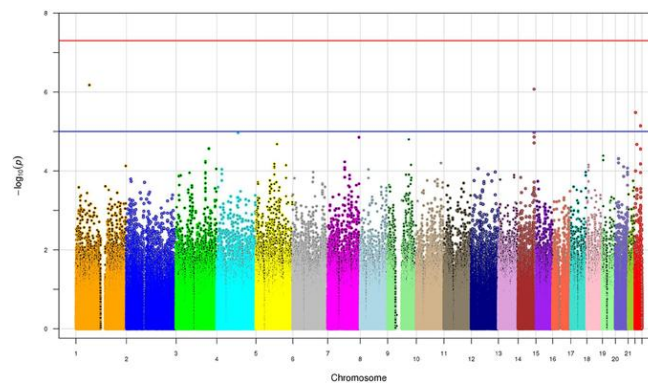


Figura 3.1 Esempio di grafico Manhattan plot.

## Analisi bioinformatica.

L'analisi bioinformatica è stata condotta consultando diverse banche dati di libero accesso tramite il web.

La prima analisi bioinformatica è stata eseguita nel database di ENSEMBL. Il progetto Ensembl (<http://www.ensembl.org>) crea e distribuisce le annotazioni del genoma e offre una vista integrata di altri dati genomici utili per l'analisi degli organismi viventi appartenenti al phylum chordata. Il procedimento eseguito si può riassumere in tre fasi:

- 1) Si accede al seguente sito [http://www.ensembl.org/Sus\\_scrofa/Variation/](http://www.ensembl.org/Sus_scrofa/Variation/)
- 2) Su cerca (in alto a destra) incollo il codice dello SNP che ho a disposizione. Ad esempio ALGA0002493 ed ottengo una prima schermata con le informazioni base sullo SNP: posizione, il tipo di variazione (trasversione, transizione) e il suo simbolo, se ci sono sinonimi.
- 3) Per avere un quadro più dettagliato clicco su *genomic context* ed ottengo una rappresentazione grafica e posso verificare il tipo di mutazione (intronica, sinonima, *missense*, intergenica).

Inoltre è stata effettuata una ricerca nel sito <http://www.animalgenome.org/> nel quale vengono raccolti tutti i dati di mappatura dei QTL provenienti da studi di associazione, da studi su

geni candidati, mappaggio dei QTL ed associazioni al fenotipo espresso effettuati su animali di interesse zootecnico. Tutto questo viene raccolto, classificato e reso disponibile al pubblico, al fine di facilitare l'individuazione e confrontando scoperte all'interno e tra le specie. All'interno di Animal QTLdb esistono strumenti bioinformatici altamente performanti sia per l'analisi di marcatori molecolari presi singolarmente che in coppia (metodo *flanking markers*), nel nostro studio è stato utilizzato il software on-line JBrowse 1.11.5 il quale impiega la versione 10.2 del genoma di *Sus scrofa* per l'identificazione dell'associazione SNP/QTL. La ricerca può essere effettuata nei seguenti passaggi:

- 1) PIG QTL DATABASE (<http://www.animalgenome.org/cgi-bin/QTLdb/SS/index>)
- 2) Aligment in genome features in Jbrowse
- 3) In elemento genomico o regione inserisco l'intervallo della posizione della regione in numero di basi e specificando il cromosoma in cui si trova. Ad esempio: Chr.1:165780122-168431741.
- 4) Ottengo un'immagine della regione dove è possibile visualizzare gli elementi che si trovano nella regione genica prossima allo SNP che si sta analizzando. Da qui è poi possibile risalire alle informazioni più dettagliate su tali elementi.

## 4. Risultati e discussione

### Statistiche descrittive.

Carattere	N° suini	Media	Dev.st.	Minimo	Massimo	Coefficiente Variazione
Peso vivo a 270 giorni	1047	164.47	13.22	116.7	203.9	0.08
Spessore grasso dorsale (mm)	982	25.2	4.57	15	45	0.18
Percentuale carne magra (%)	981	50.31	2.64	40.81	58.34	0.05
Numero di iodio	1043	68.61	2.42	62.04	78.39	0.03
Contenuto di acido linoleico (%)	1043	14.16	1.30	10.41	19.17	0.09
Spessore del grasso sottocutaneo in prossimità del muscolo semimembranoso (mm)	1047	18.38	5.49	8	40	0.29
Spessore del grasso sottocutaneo vicino al muscolo quadripite femorale (mm)	1047	6.33	1.07	3.8	10	0.16
Globosità	1046	2	1	0	4	0.5
Spessore del grasso sottocutaneo	1008	0	2	-4	4	11.21
Marezzatura	1046	1	1	0	4	1

Tabella 4.1: Statistiche descrittive per i caratteri esaminati

I risultati ottenuti riguardanti le statistiche descrittive dei caratteri di interesse analizzati sono riportati in Tabella 3.3. Il peso riportato a 270 giorni ha una media di 164.47 kg, quindi in linea con il peso di macellazione richiesto dai disciplinari per il suino pesante destinato alla produzione di prodotti DOP. Sia i valori di numero di iodio che di percentuale di acido linoleico rientrano abbondantemente entro le specifiche tecniche dei disciplinari di produzione. Entrambi sono parametri importanti in quanto sono correlati con la qualità del grasso per la stagionatura delle cosce destinate alla produzione di prosciutti. La consistenza del grasso è in primo luogo espressione della sua composizione in acidi grassi ma dipende anche dallo spessore dello strato depositato. Lo spessore del grasso sottocutaneo della coscia, qui misurato in diversi punti e con diverse metodiche è risultato idoneo per una buona trasformazione. Nel caso di spessori molto ridotti, infatti, la struttura connettivale è messa in condizione di aumentare la sua incidenza relativa facendo apparire più consistente anche un grasso relativamente ricco di acidi grassi insaturi. Un maggiore contenuto di acidi grassi insaturi si configura come una condizione molto sfavorevole poiché, a parità di spessore, costituisce un fattore predisponente alla comparsa di grasso dalla consistenza insufficiente e, indipendentemente dallo spessore, favoriscono i processi di irrancidimento durante la conservazione e stagionatura. (Carnier, 2004).

### Analisi di associazione.

#### Controllo di qualità dell'informazione genotipica.

I risultati dello screening dei dataset applicando i parametri qualitativi sono i seguenti:

- 1) *Qualità DNA del campione utilizzato*: ottenibile utilizzando la funzione di comando seguente

`--mind 0.1`

Risultano eliminati 22 animali con call rate inferiore a 0.90 su 1 088 totali.

- 2) *Determinazione Call Rate degli SNPs*: ottenibile utilizzando la funzione di comando

`--geno 0.1`

Risultano 169 gli SNPs eliminati con call rate inferiore a 0.90 su 8 826 marcatori totali analizzati.

3) *Minor Allele Frequency (MAF) e determinazione dell'equilibrio di Hardy Weinberg*: ottenibile utilizzando la funzione di comando

`--maf 0.05 --hwe 0.0001`

Risultano 817 (di cui 217 monomorfici) gli SNPs con MAF inferiore al 5% mentre 2 237 sono gli SNPs che non sono in equilibrio di Hardy Weinberg di conseguenza sono stati eliminati dai nostri dataset.

Il numero di SNPs risultati associati con i caratteri quantitativi esaminati nel presente studio sono riassunti brevemente in tabella 4.2. In totale sono risultati associati ben 439 SNP su 8 826 marcatori di partenza.

<b>Caratteri</b>	<b>Numero SNP significativi</b>	<b>Numero SNP Totali Carattere</b>
Peso vivo a 270 giorni	56	7737
Spessore grasso dorsale (mm)	20	7769
Percentuale carne magra (%)	11	7800
Numero di iodio	117	7762
Contenuto di acido linoleico (%)	61	7748
Spessore del grasso sottocutaneo in prossimità del muscolo semimembranoso	39	7714
Spessore del grasso sottocutaneo vicino al muscolo quadricipite femorale	40	7735
Globosità	30	7751
Spessore del grasso sottocutaneo	49	7736
Marezzatura	16	7749
<b>TOTALE 439</b>		

Tabella 4.2 Numero di SNPs risultati associati ai caratteri di interesse.

Per le liste dettagliate degli SNPs significativi, la loro posizione ed ulteriori informazioni fare riferimento alla tabelle (dalla 6.1 alla 6.10) presenti in appendice di questa tesi. Durante l'analisi bioinformatica ho cercato di determinare se i marcatori risultati associati ai nostri caratteri si trovassero all'interno di QTL già mappati e associati ai caratteri di interesse. Come già detto in introduzione non ci sono studi di mappaggio di QTL condotti sul suino pesante. Quindi i QTLs riportati nelle tabelle in appendice si riferiscono a caratteri misurati nel suino leggero.



## Peso vivo a 270 giorni

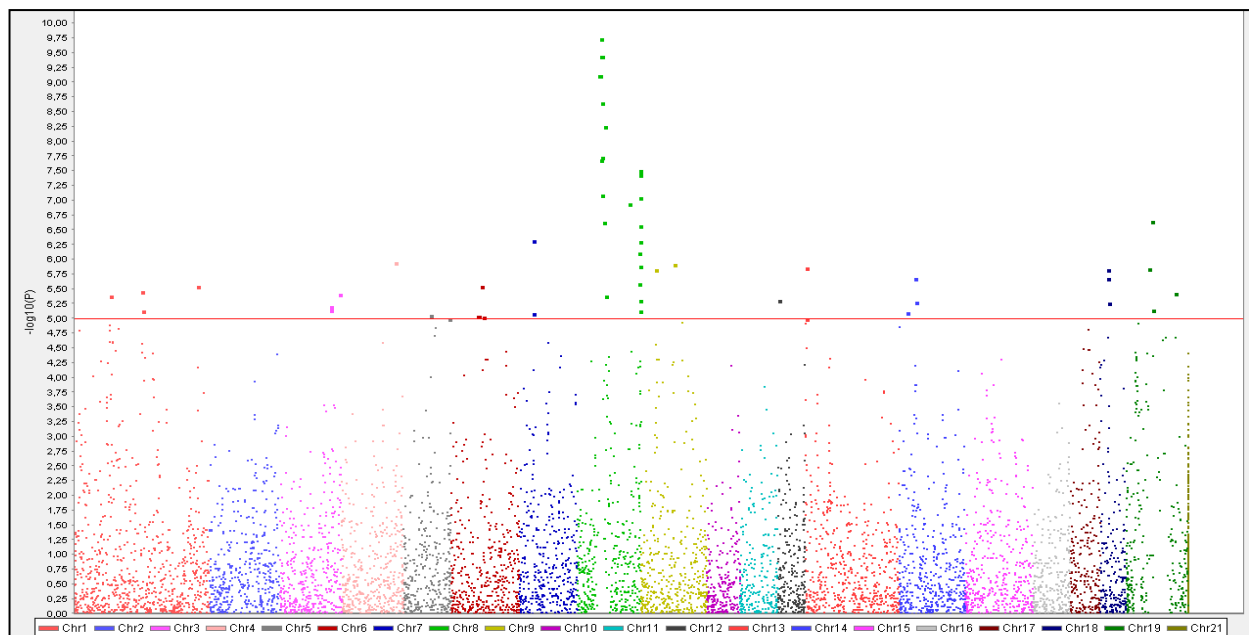


Figura 4.1: Manhattan plot – Peso vivo a 270 giorni.

Per quanto riguarda il carattere peso vivo a 270 giorni sono riportati nella figura 4.1 (e tabella 6.1 in appendice) i 56 SNPs che sono risultati significativamente associati a questo carattere. Essi sono distribuiti rispettivamente nei cromosomi 1,3,4,5,6,7,8,9,12,14,18 e X, con una distribuzione preferenziale per il cromosoma 8. Alcuni non sono stati ancora mappati.

Dei 56 SNPs significativi, 13 SNPs si trovano in introni (ALGA0099758, ASGA0081324, MARC0009862, ALGA0040181, MARC0077695, DRGA0008609, H3GA0025688, ALGA0122878, ALGA0115298, ASGA0052546, ASGA0062732, ASGA0079089, DIAS0001180), mentre tre SNP in esoni rispettivamente MARC0013221 ALGA0047914 MARC0046345. In aggiunta, 41 SNP sono risultano essere all'interno di QTLs già mappati ed associati al carattere in esame o comunque legati a caratteri importanti da un punto di vista produttivo nel suino.

## Carattere Spessore grasso dorsale in mm

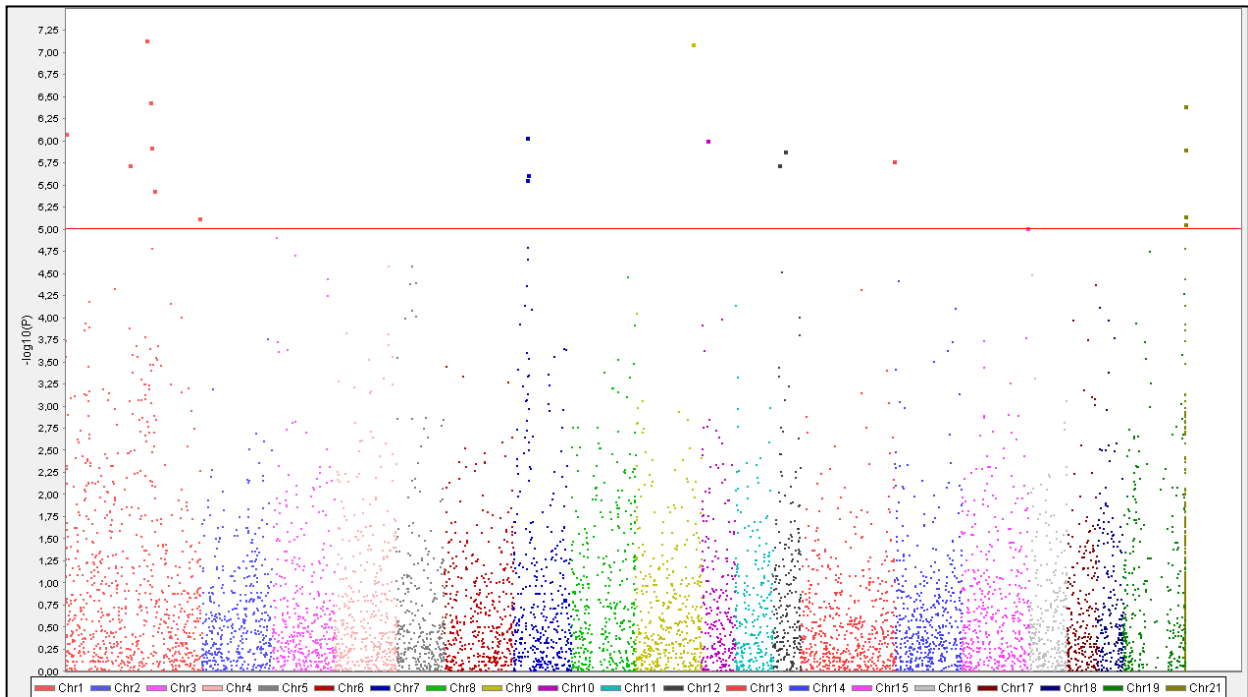


Figura 4.2: Manhattan plot – Spessore del grasso dorsale.

Per quanto riguarda lo spessore del grasso dorsale misurato sulla carcassa sono riportati nella figura 4.2 (e tabella 6.2 in appendice) i 20 SNPs che superando la soglia di significatività fissata ad un P-value di  $<0.05$  sono associati a questo carattere. Essi sono distribuiti rispettivamente nei cromosomi 1,7,8,9,12,13 e 15 con una distribuzione preferenziale per il cromosoma 1. Anche in questo caso alcuni non sono stati ancora mappati.

Di 20 SNP significativi (vedi tabella 6.2 in appendice) 6 SNP si trovano in introni (ASGA0032270, ALGA0040181, ALGA0054972, ASGA0046547, ALGA0065112, ALGA0117681), mentre uno SNP in esoni rispettivamente H3GA0003318. Dei 20 SNPs significativi 15 polimorfismi sono risultano essere all'interno di QTL già mappati ed associati al carattere in riferimento.

## Carattere Percentuale carne magra

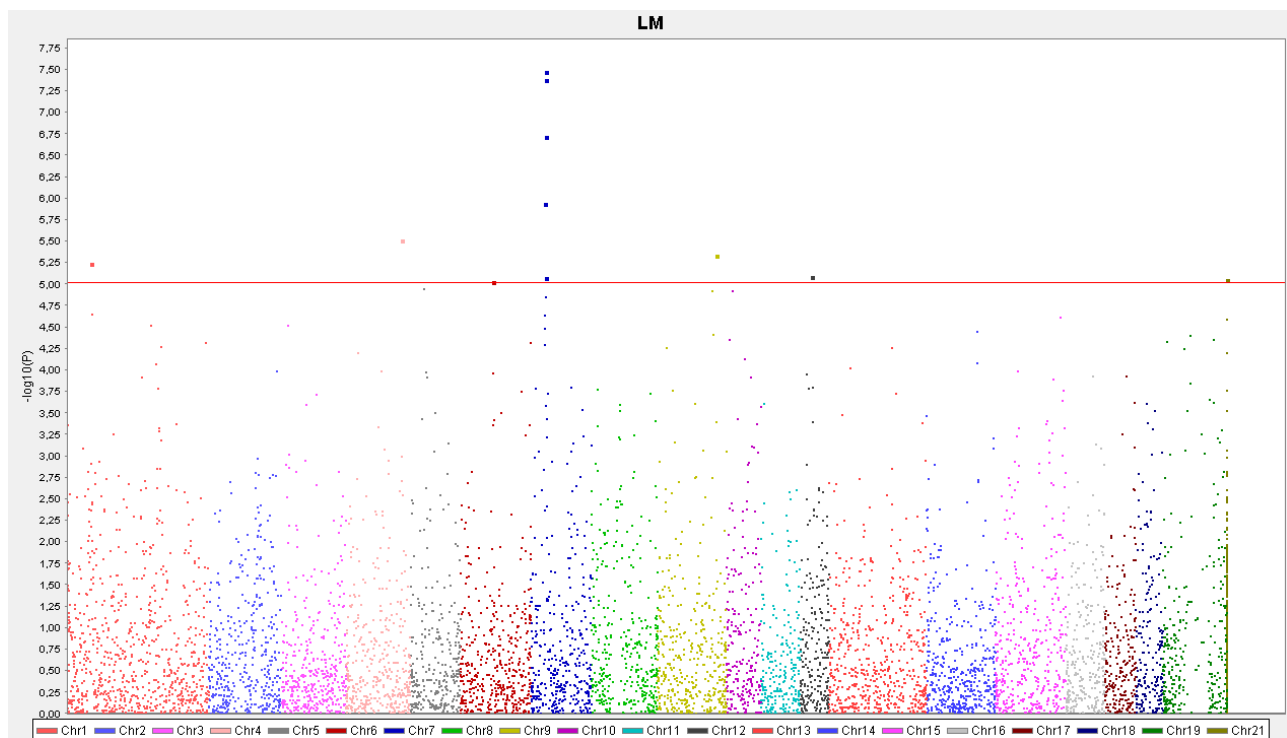


Figura 4.3: Manhattan plot – Percentuale carne magra.

Gli SNPs che sono risultati associati al carattere percentuale di carne magra sono riportati nella figura 4.3 (e tabella 6.3 in appendice) gli 11 SNPs che superano la soglia di significatività fissata ad un P-value di  $<0.05$ , distribuiti rispettivamente nei cromosomi 1,4,6,7,8,9,12 e X con una distribuzione preferenziale per il cromosoma 7.

Di 11 SNPs significativi, quattro SNPs si trovano in introni (H3GA0020592; ASGA0032270; ALGA0040181; ALGA0117681), mentre nessuno SNPs si trova in esoni; 11 SNPs risultano essere all'interno di QTL già mappati per caratteri produttivi nel suino. In particolare si trovano su QTLs associati al peso della carcassa calda, alla stima della percentuale di carne magra, alla percentuale carne magra (quindi in carattere qui esaminato), area carne magra e percentuale di grasso.

## Carattere Numero di iodio

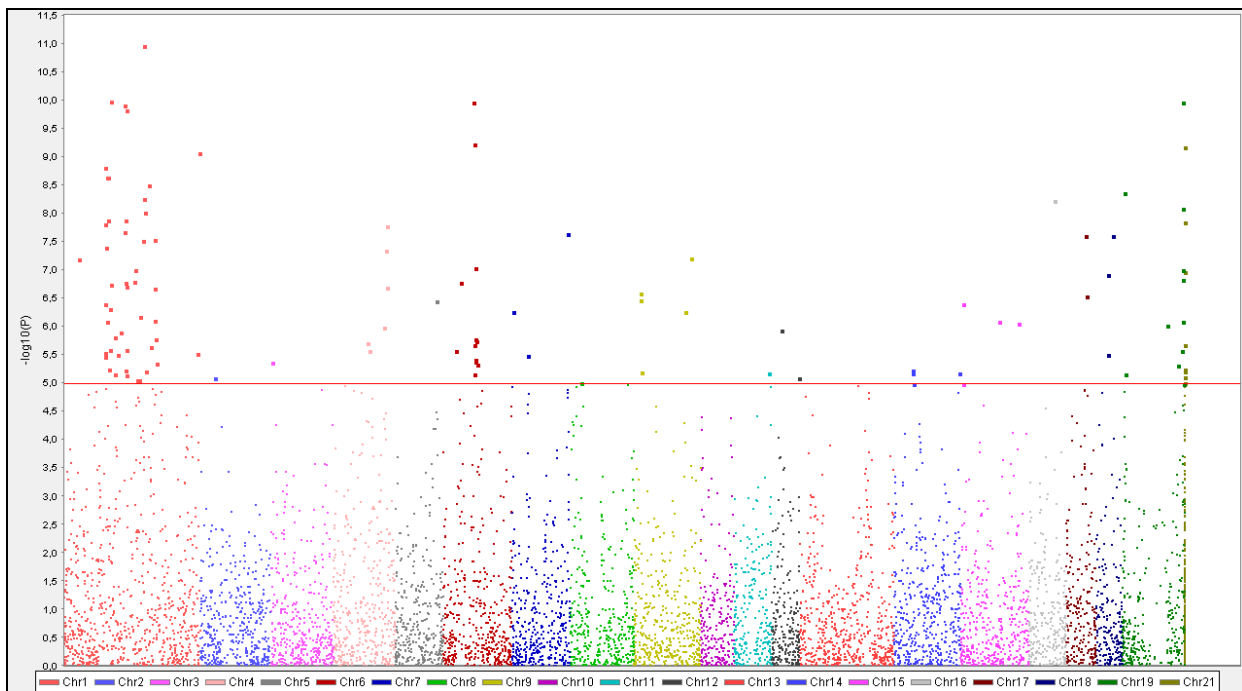


Figura 4.4: Manhattan plot – Numero di iodio.

Per quanto riguarda il carattere numero di iodio nella figura 4.4 (e tabella 6.4 in appendice) sono riportati i 117 SNP che sono associati a questo parametro misurato sul grasso delle cosce. Essi sono distribuiti in tutti i cromosomi con una distribuzione preferenziale per il cromosoma 1.

Di 117 SNPs significativi 27 SNPs si trovano in introni (ALGA0005938, MARC0003250, MARC0009571, H3GA0003318, ALGA0006982, ASGA0020351, MARC0016710, DRGA0001449, H3GA0052088, SIRI0000378, MARC0013705, MARC0054059, ALGA0122547, MARC0026937, MARC0002557, ASGA0060257, ALGA0077177, M1GA0019883), mentre 18 SNP in esoni rispettivamente ASGA0080643, ALGA0103468, MARC0006809, MARC0031172, ASGA0081577, INRA0003212, ALGA0004925, ALGA0005730, ASGA0004539, MARC0029823, ALGA0006831, MARC0011407, ASGA0102917, ALGA0027910, MARC0081632, ASGA0092766, MARC0027939, H3GA0020846, H3GA0023819, ALGA0054972, MARC0002558, CASI0009880, ALGA0077120, DIAS0000968, ASGA0073565, ALGA0095103, ASGA0079373.

43 SNP sono risultano essere all'interno di QTL già mappati da precedenti studi in bibliografia. Tali QTLs sono associati ai caratteri acido palmitico, acido stearico, acido oleico, acido linoleico, e grasso nel muscolo.

## Carattere Contenuto di acido linoleico

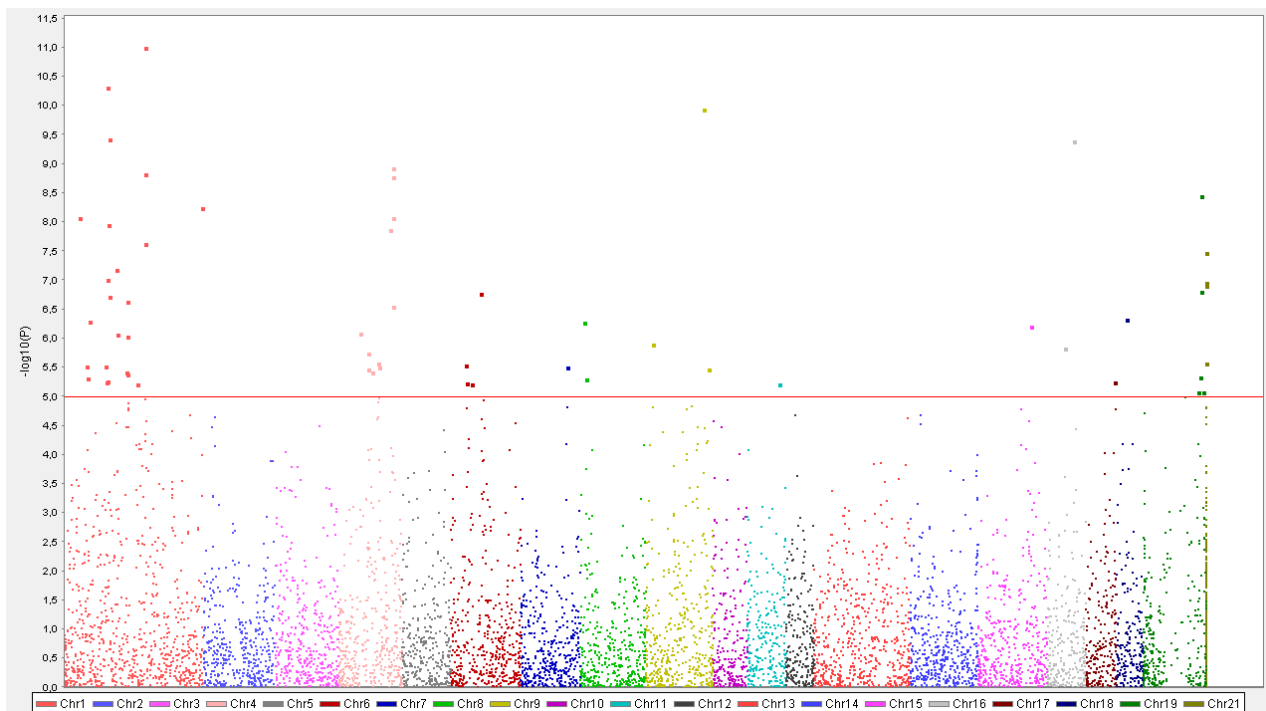


Figura 4.5: Manhattan plot – Contenuto di acido linoleico.

Per quanto riguarda il carattere Contenuto di acido linoleico in % sono riportati nella figura 4.5 (e tabella 6.5 in appendice) i 61 SNP che sono associati a questo carattere. Sono distribuiti rispettivamente nei cromosomi 1,4,6,7,9,11,15,16,17,18 e X con una distribuzione preferenziale per il cromosoma 1.

Di 61 SNPs significativi, 18 SNPs si trovano in introni (ALGA0100211, ASGA0002567, ALGA0003260, ALGA0004752, INRA0003212, DIAS0001261, ALGA0006831, DRGA0004942, INRA0015274, MARC0081632, H3GA0017944, M1GA0010661, ALGA0054972, MARC0055757, H3GA0046523, ASGA0073565, ALGA0096298, MARC0003161), mentre 6 SNPs in esoni rispettivamente MARC0053876, H3GA0052088, MARC0013705, MARC0054059, ASGA0019836, ASGA0097473.

Anche in questo caso 14 SNPs sono risultano essere all'interno di QTL già mappati ed associati al carattere in riferimento. Alcuni QTLs sono associati al contenuto di acido palmitico, acido oleico, acido linoleico e livello di androstenone nel grasso.

### Carattere Spessore del grasso sottocutaneo in prossimità del muscolo semimembranoso

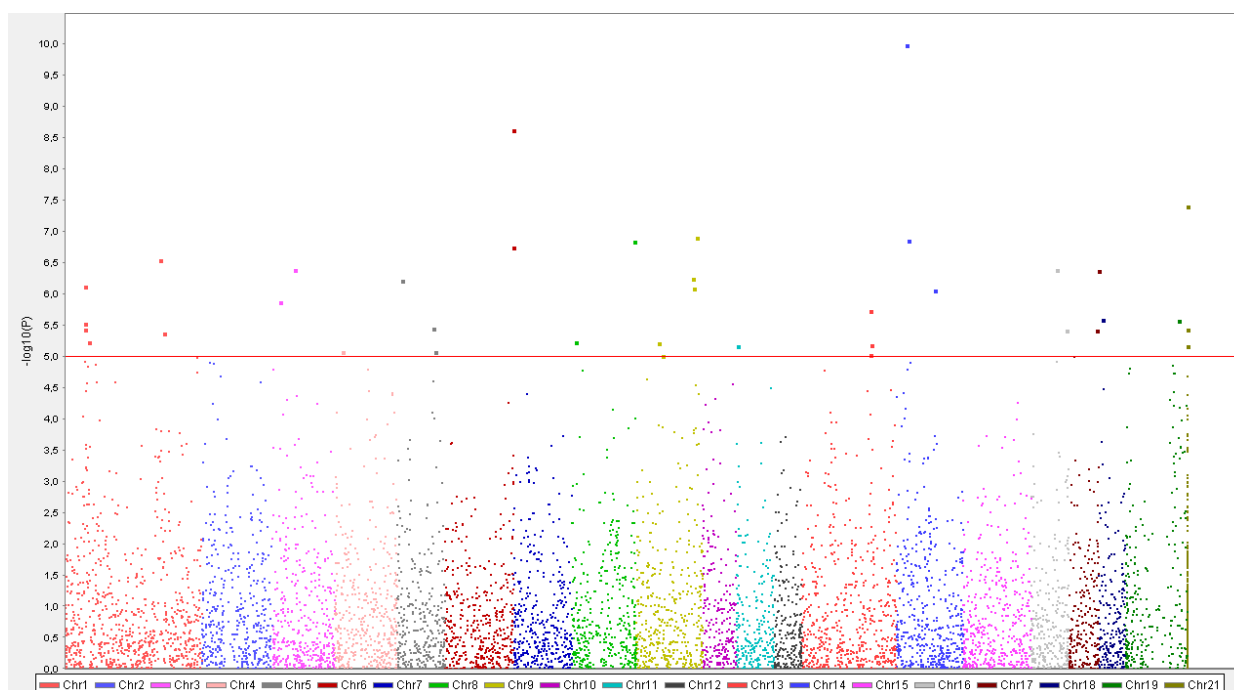


Figura 4.6 : Manhattan plot – Spessore del grasso sottocutaneo in prossimità del muscolo semimembranoso.

Per quanto riguarda il carattere spessore del grasso sottocutaneo in prossimità del muscolo semimembranoso sono riportati nella figura 4.6 (e tabella 6.6 in appendice) i 39 SNPs che superano la soglia di significatività fissata ad un P-value di  $<0.05$  e quindi che sono risultati associati al carattere in questione, distribuiti rispettivamente nei cromosomi 1,3,4,5,6,8,9,11,13,14,16,17,18 e X con una distribuzione eterogenea in tutti i cromosomi.

Di 39 SNPs significativi 11 SNPs si trovano in introni (ALGA0002856, H3GA0008947, ALGA0109569, MARC0043200, ASGA0030388, ALGA0054952, ALGA0054972, H3GA0037481, ASGA0073565, DIAS0004816, ALGA0118449), mentre 3 SNPs in esoni rispettivamente ALGA0072444, ASGA0075377, MARC0055325. Inoltre, 32 SNPs sono risultano essere all'interno di QTLs già mappati ed associati al carattere in riferimento. Alcuni QTLs sono associati a grasso sottocutaneo spalla, spessore grasso prosciutto, grasso muscolare dorsale, accumulo grasso sottocutaneo coscia, grasso esterno lombo, spessore grasso dorsale, grasso coppa, grasso addominale e grasso intramuscolare.

### Carattere Spessore del grasso sottocutaneo vicino al muscolo quadricipite femorale

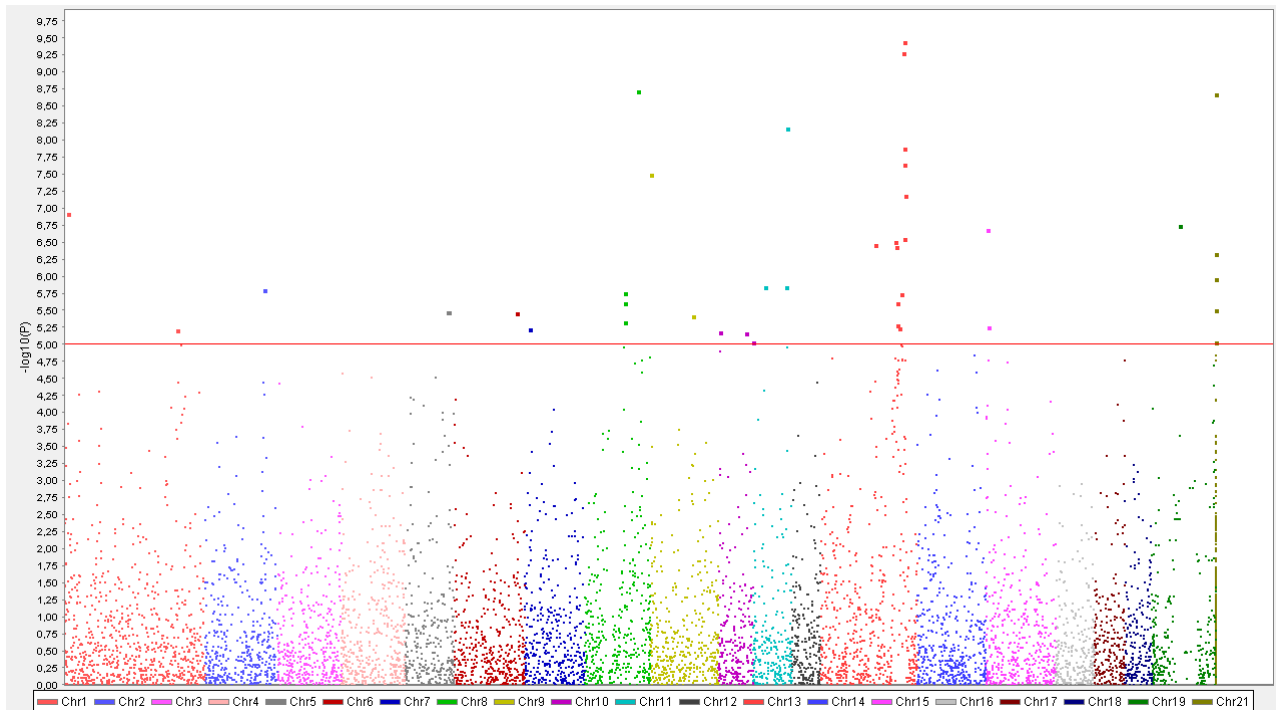


Figura 4.7: Manhattan plot – Spessore del grasso sottocutaneo vicino al muscolo quadricipite femorale.

Per quanto riguarda il carattere spessore del grasso sottocutaneo misurato in prossimità del muscolo quadricipite femorale della coscia nella figura 4.7 sono rappresentati i 40 SNPs che superano la soglia di significatività fissata ad un P-value di  $<0.05$  e quindi associati al carattere in questione, distribuiti rispettivamente nei cromosomi 1,2,5,6,7,8,9,10,11,13,14,15 e X con una distribuzione preferenziale per il cromosoma 13 .

Di 40 SNPs significativi (tabella 6.7 in appendice) 2 SNPs si trovano in introni (ASGA0039207, ALGA0072961), mentre 2 SNPs in esoni rispettivamente ALGA0015866, MARC0057361.

Inoltre, 28 SNPs sono risultano essere all'interno di QTLs già mappati per il grasso sottocutaneo spalla, lo spessore del grasso nel prosciutto, l'accumulo di grasso sottocutaneo nella coscia, grasso esterno lombo, grasso totale nei tessuti, grasso nei tessuti a 22 settimane e accumulo grasso sottocutaneo nella spalla.

## Carattere Globosità

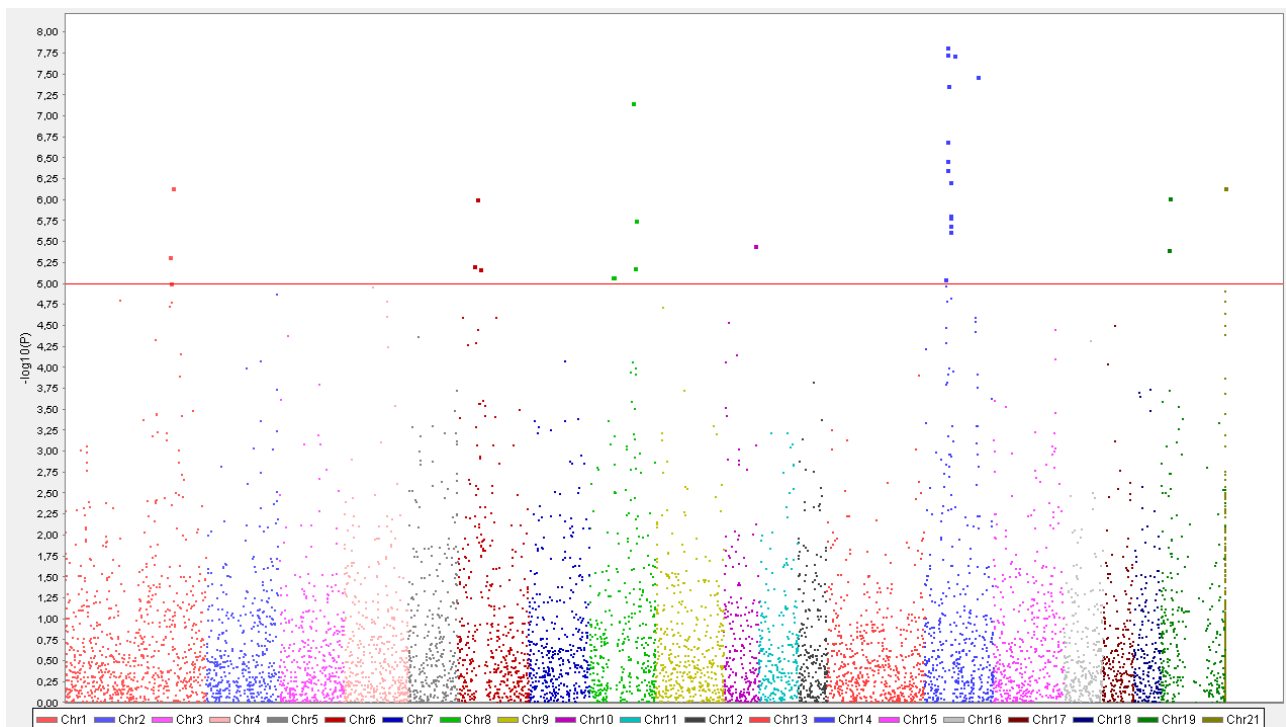


Figura 4.8: Manhattan plot – Globosità.

Per quanto riguarda il carattere della globosità della coscia sono riportati nella figura 4.8 i 30 SNPs che sono risultati associati al carattere. Essi sono distribuiti rispettivamente nei cromosomi 1,,6, 8, 10, 14 e X con una distribuzione preferenziale per il cromosoma 14.

Di 30 SNPs significativi (vedi tabella 6.8 in appendice) 9 SNPs si trovano in introni (MARC0077695, H3GA0040005, MARC0093590, H3GA0040130, ALGA0077469, DRGA0013821, H3GA0040146, M1GA0018651, ASGA0063433), mentre 4 SNPs in esoni rispettivamente DRGA0017142, MARC0048809, MARC0015928, ALGA0080846.

17 SNPs si trovano all'interno di un unico QTL mappato che è quello per la conformazione della coscia.



## Carattere Spessore del grasso sottocutaneo

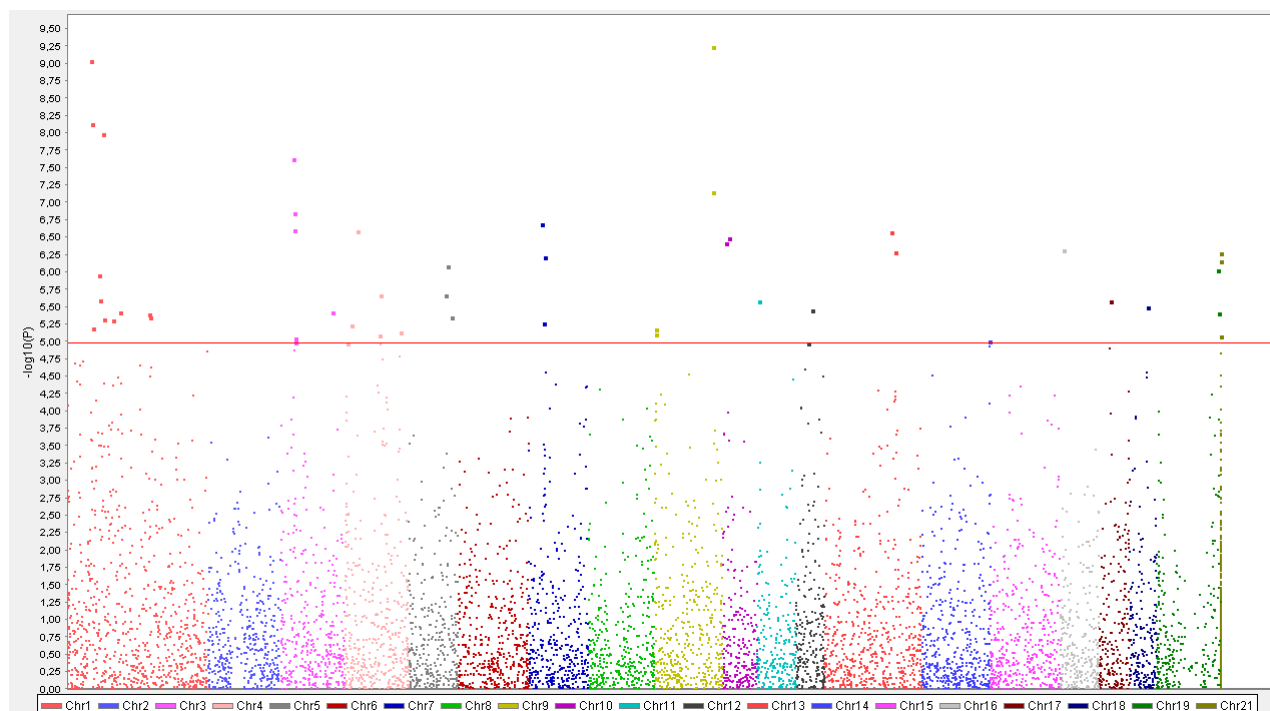


Figura 4.9: Manhattan plot – Spessore del grasso sottocutaneo della coscia valutato con un punteggio lineare.

Per quanto riguarda il carattere di spessore del grasso sottocutaneo valutato da un esperto attraverso un punteggio lineare in figura 4.9 sono riportati i 49 SNP che superano la soglia di significatività fissata ad un P-value di  $<0.05$  e quindi risultati associati. Essi si trovano rispettivamente nei cromosomi 1,3,4,5,7,9,10,11,12,13,14,16,17,18 e X con una distribuzione preferenziale per il cromosoma 1.

Di 49 SNPs significativi (vedi tabella 6.9 in appendice) 13 SNPs si trovano in introni (ALGA0003260, H3GA0001974, ASGA0014064, ASGA0032401, H3GA0020846, ALGA0054952, ALGA0054972, ASGA0046547, ALGA0117681, INRA0038984, ALGA0083385, ASGA0072103, ALGA0097987), mentre 6 SNPs in esoni rispettivamente ALGA0050620, ALGA0072444, H3GA0052088, MARC0054059, M1GA0008047, ASGA0040939.

25 SNPs risultano essere all'interno di QTLs già mappati ed associati ai caratteri grasso sottocutaneo della spalla, media dello spessore del grasso dorsale e accumulo di grasso sottocutaneo.

## Carattere Marezzatura

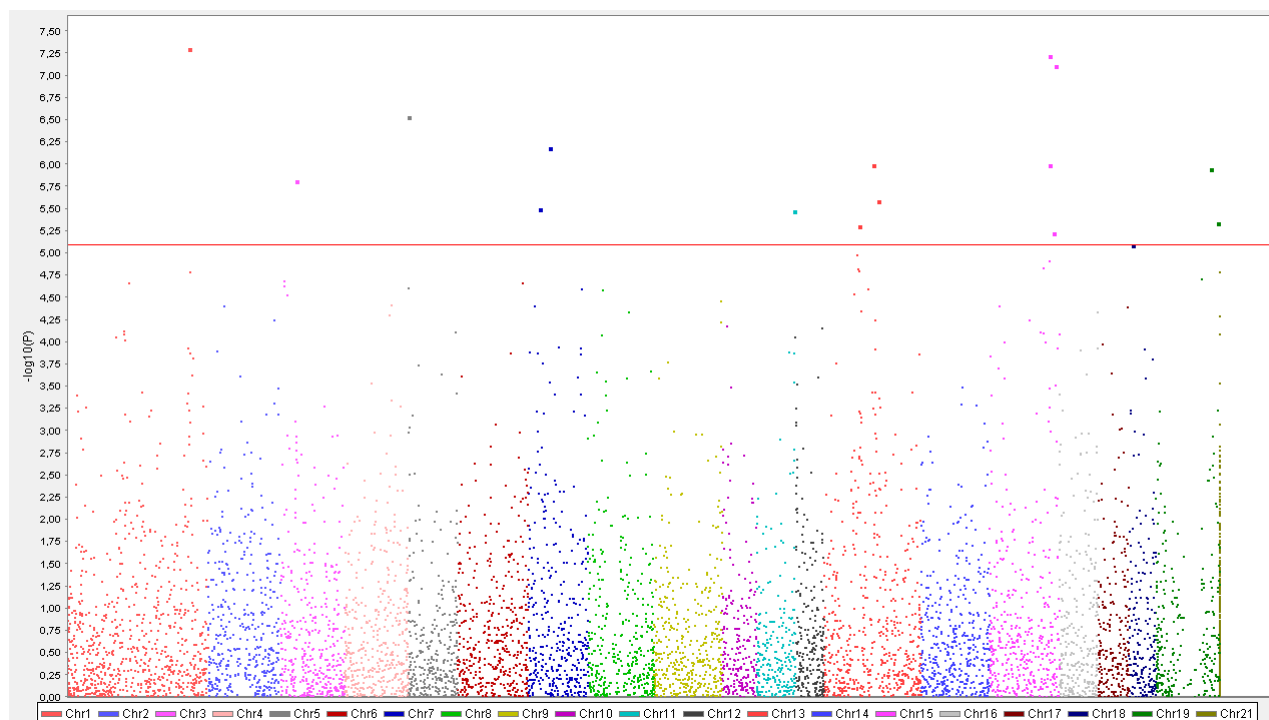


Figura 4.10: Manhattan plot – Marezzatura.

Per quanto riguarda il carattere marezzatura delle cosce sono riportati nella figura 4.10 i 16 SNPs che superano la soglia di significatività fissata ad un P-value di  $<0.05$  e quindi associati. Essi sono distribuiti rispettivamente nei cromosomi 1,3,5,7,11,13,15,18 e X con una distribuzione preferenziale per il cromosoma 15.

Di 16 SNPs significativi (vedi tabella 6.10 in appendice) 1 SNP si trova in un introne (ASGA0023712), mentre 1 SNP in un esone rispettivamente H3GA0021382.

Solo 1 SNP risulta essere all'interno di un QTL già mappato e associato al carattere marezzatura.

Per i caratteri analizzati in questo studio 439 polimorfismi a singolo nucleotide sono risultati essere associati a caratteri legati alla qualità della carcassa e della coscia in suini pesanti Italiani. E' importante ricordare che, a differenza di alcuni studi presenti in bibliografia, l'approccio che è stato utilizzato in questo studio non è un vero e proprio approccio di *selective genotyping*.

Infatti la suddivisione degli animali nei due gruppi (animali con EBV favorevole e animali con EBV sfavorevole) è stata effettuata già prendendo in considerazione i soli suini con informazione genotipica, quindi dopo la genotipizzazione. Questo in quanto il presente lavoro è parte di un progetto più ampio condotto allo scopo di mettere in atto procedure di selezione genomica. Al contrario, se i due gruppi di animali per i quali sono state calcolate le frequenze alleliche fossero stati individuati su tutta la popolazione a disposizione (11 488 individui, vedi materiali e metodi) e solo successivamente quelli individuati fossero stati genotipizzati, la differenza tra i due gruppi sarebbe stata maggiore e forse sarebbero risultati associati un numero maggiore di SNPs. Tuttavia

questo approccio avrebbe individuato animali diversi per i diversi caratteri e i costi relativi all'analisi di genotipizzazione sarebbero stati molto più elevati.

Degli SNPs risultati associati ai caratteri esaminati, alcuni si trovano in regioni del cromosoma codificanti per proteine (sia in regioni introniche che esoniche). Tuttavia tali geni non sembrano essere coinvolti in meccanismi biologici legati a questi caratteri. Per gli SNPs che si trovano in regioni intergeniche è stata condotta un'analisi più fine al fine di stabilire quali geni si trovassero a monte e a valle di questi marcatori. Dei geni fiancheggiati gli SNPs intergenici nessuno sembra avere un collegamento biologico diretto con i caratteri in esame.

## 5. Conclusioni ed implicazioni future

Lo scopo di questo studio è stato quello di individuare l'associazione tra marcatori SNPs e caratteri legati alla qualità della carcassa e della coscia in suini pesanti italiani destinati alla produzione di prodotti tipici come il prosciutto di Parma. L'analisi di associazione è stata condotta analizzando circa 9 000 SNPs sparsi lungo tutto il genoma suino attraverso la tecnologia del DNA-chip. L'associazione tra fenotipo e marcatori è stata determinata confrontando le frequenze alleliche di ciascun SNP in due gruppi di animali individuati in base al loro EBV stimato per ciascun carattere preso in esame.

In totale sono risultati associati 439 SNPs localizzati in tutti i cromosomi del genoma suino.

Tuttavia l'analisi bioinformatica ha rivelato che tali polimorfismi non si trovano all'interno o in prossimità di geni che hanno un diretto collegamento da un punto di vista biologico con le caratteristiche analizzate. Le informazioni ottenute in questo lavoro potranno essere comunque approfondite. Inoltre sarebbe interessante stimare l'effetto di ciascun SNP analizzato sui caratteri di interesse. Essendo i caratteri in questione tutti caratteri quantitativi ci si aspetta che siano implicati un numero elevato di geni e che quindi ciascun marcatore contribuisca con un effetto piccolo.

Lo studio di GWAS da noi effettuato diventa utile perché siamo riusciti ad individuare per ciascun carattere d'interesse, delle regioni genomiche dove si potrebbe andare ad approfondire la ricerca di specifici polimorfismi che mi consentono di identificare regioni geniche QTL in un approccio di *fine mapping*. Inoltre può essere utile per risolvere in parte il problema statistico definito "small N, large P" (N= dimensione del dataset; P= numero caratteristiche studiate) che nel nostro caso si traduce in un piccolo numero di animali analizzati (1 088) per un elevato numero di marcatori molecolari. A livello statistico il tutto si traduce in un'equazione nella quale si ha 9 000 incognite ma solo 1 000 dati e il sistema di equazioni è ridondante e non si riuscirebbe a risolverlo. Questo è un problema comune quando si eseguono studi di GWAS. Quindi i risultati qui ottenuti potrebbero essere sfruttati per creare un panel di marcatori a più bassa densità in modo tale da poter bilanciare il numero di polimorfismi analizzati con il numero di dati a disposizione. Inoltre un panel a più ridotta densità potrebbe limitare il costo dell'analisi di genotipizzazione.

Infine tutto questo lavoro può supportare lo sviluppo di procedure di selezione genomica per la valutazione genetica delle linee suine dell'azienda Gorzagri. L'implementazione di un piano di selezione genomica potrebbe portare a tutta una serie di vantaggi tra cui (Van Eenennaam et al., 2014): Integrazione verticale del piano di selezione nella filiera di produzione del suino pesante italiano: si tratta principalmente di un vantaggio di tipo economico e dal punto di vista pratico, in quanto le cose si semplificano molto quando io attuo la GS su un sistema di selezione pre-esistente e ben consolidato basato sul metodo tradizionale e, quindi con l'informazione genomica non vado a stravolgere il tutto ma m'inserisco con i fini di migliorare la filiera che costa effettivamente meno rispetto ad implementare da zero un piano di selezione genomica; Riduzione dell'intervallo di generazione per il turnover dei riproduttori; Riesco ad evitare le difficoltà nel misurare alcune tipologie di fenotipi; Aumento significativo dell'accuratezza del BV della linea pura (mezzi fratelli non macellabili).

## 6. Appendice

<b>Tabella 6.1.</b> Lista degli SNPs risultati associati al carattere peso a 270 giorni.	<b>-42-</b>
<b>Tabella 6.2</b> Lista degli SNPs risultati associati al carattere spessore del grasso dorsale.	<b>-44-</b>
<b>Tabella 6.3</b> Lista degli SNPs risultati associati al carattere percentuale di carne magra.	<b>-45-</b>
<b>Tabella 6.4</b> Lista degli SNPs risultati associati al carattere numero di iodio.	<b>-46-</b>
<b>Tabella 6.5</b> Lista degli SNPs risultati associati al carattere Acido Linoleico.	<b>-51-</b>
<b>Tabella 6.6</b> Lista degli SNPs risultati associati al carattere Spessore del grasso sottocutaneo in prossimità del muscolo semimembranoso.	<b>-53-</b>
<b>Tabella 6.7</b> Lista degli SNPs risultati associati al carattere Spessore del grasso sottocutaneo vicino al muscolo quadricipite femorale.	<b>-55-</b>
<b>Tabella 6.8</b> Lista degli SNPs risultati associati al carattere Globosità.	<b>-57-</b>
<b>Tabella 6.9</b> Lista degli SNPs risultati associati al carattere Spessore del grasso sottocutaneo.	<b>-58-</b>
<b>Tabella 6.10</b> Lista degli SNPs risultati associati al carattere Marezzatura.	<b>-60-</b>

**Tabella 6.1.** Lista degli SNPs risultati associati al carattere peso a 270 giorni.

SNP	Chr	pb SNP	Ubicazione	Caratteri ID	QTL	pb QTL	Geni Vicini <--5'/3'-->	Proteine
MARC0046345	X	53546811	5' gene	216	HAMWT	77,211,060	LOC100736786/TROP	6-phosphofructo-2-kinase/fructose-2, 6-biphosphatase 1-like/Trophinin
ALGA0099758	X	60471958	Introne	216	HAMWT	77,211,060	OPHN1/AR	oligophrenin 1 /androgen receptor
ASGA0081192	X	62086511	Var. Inter.	216	HAMWT	77,211,060	LOC100738840/EFNB1	stAR-related lipid transfer protein 8-like /ephrin-B1
ASGA0081324	X	114535864	Introne	90	TWPLWT	102,049,443	DOCK11/RPLP1	dedicator of cytokinesis 11/ribosomal protein, large, P1
ASGA0098061	1	85248481	Var. Inter.	77	HCWT	101,991,524	GPR6/FIG4	G protein-coupled receptor 6 /SAC1 lipid phosphatase domain containing
H3GA0002892	1	157545956	Var. Inter.	76	CWT	116,274,998	ATP10A/LOC100739145	ATPase/cytochrome c oxidase subunit 6B1-like
H3GA0002904	1	159151122	Var. Inter.	76	CWT	116,274,998	CHRNA7/OTUD7A	cholinergic receptor, nicotinic, alpha 7/OTU domain containing 7A
ALGA0122311	1	287204720	Var. Inter.	216	HAMWT	33,716,480	LOC100737284/PAPP-A	60S acidic ribosomal protein P1-like/pregnancy-associated plasma protein-A
H3GA0010581	3	119482562	Var. Inter.	77	HCWT	17,607,439	C3H2orf70/LOC100737937	UPF0573/ Non Nota
MARC0016706	3	119943628	Var. Inter.	215	LOINWT	4,801,365	RAB10/KIF3C	member RAS oncogene family/kinesin family member 3C
MARC0009862	3	140555013	Introne					
ALGA0028398	4	124706183	Var. Inter.	216	HAMWT	14,392,640	LOC100157091/LOC100620733	BRISC complex subunit Abro1-like / serine-rich coiled-coil domain-containing protein 2-like
ALGA0032158	5	62654938	Var. Inter.	322	LIVWT	43,558,939	GRIN2B/LOC100739189	glutamate [NMDA] receptor subunit epsilon-2/germ cell-specific gene 1 protein-like
ASGA0027164	5	106572070	Var. Inter.					
ASGA0095271	6	62584617	Var. Inter.	216	HAMWT	34,012,527	LOC100738348	pleckstrin homology domain-containing family G member 5-like
MARC0067004	6	62829795	Var. Inter.	216	HAMWT	34,012,527	LOC100519197/LOC100519368	Non Nota/ umor necrosis factor receptor superfamily member 9-like
ASGA0028529	6	70658175	Var. Inter.	216	HAMWT	34,012,527	LOC100525818/LOC100622307	rho guanine nucleotide exchange factor 10-like protein-like/ actin-like protein 8-like
ASGA0101946	6	75151427	Var. Inter.	216	HAMWT	34,012,527	LUZP1/HTR1D	leucine zipper protein 1/5-hydroxytryptamine (serotonin) receptor 1D
ALGA0040052	7	33032424	Var. Inter.	216	HAMWT	78,882,719	PRIM2/LOC100155623	DNA primase large subunit/ras-related protein Rab-23-like
ALGA0040181	7	34450700	Introne	216	HAMWT	78,882,719	LOC100737015/ITPR3	kinesin-like protein KIFC1-like/inositol 1,4,5-trisphosphate receptor, type 3
DRGA0008588	8	51580681	Var. Inter.	216	HAMWT	89,516,613	LOC100738398/LOC100738432	Krueppel-like factor 5-like/follistatin-related protein 5-like
MARC0077695	8	53929233	Introne	216	HAMWT	89,516,613	GAP/LOC100518673	N.A. GAP /H-ACA ribonucleoprotein complex non-core subunit NAF1-like

Segue

SNP	Chr	pb SNP	Ubicazione	Caratteri ID	QTL	pb QTL	Geni Vicini <--5'/3'-->	Proteine
H3GA0024880	8	55670008	Var. Inter.	216	HAMWT	89,516,613	NPYR5/LOC100518849	neuropeptide Y receptor type 5/E3 ubiquitin-protein ligase MARCH1-like
ASGA0038818	8	56175366	Var. Inter.	216	HAMWT	89,516,613	N.A. GAP	N.A. GAP
H3GA0024884	8	56642918	Var. Inter.	216	HAMWT	89,516,613	N.A. GAP	N.A. GAP
ALGA0047901	8	56805057	Var. Inter.	216	HAMWT	89,516,613	3'→LOC100519499	LOC100519499
MARC0013221	8	57262741	5' gene	216	HAMWT	89,516,613	LOC100625602/LOC100625851	probable polyprenol reductase-like/zinc finger protein 501-like
ALGA0047914	8	57625375	5' gene	216	HAMWT	89,516,613	LOC100520576 /HOPX	LOC100520576/homeodomain-only protein
ALGA0047923	8	58000986	Var. Inter.	216	HAMWT	89,516,613	AASDH/ CEP135	aminoadipate-semialdehyde dehydrogenase/ centrosomal protein 135kDa
ALGA0047927	8	58426682	Var. Inter.	216	HAMWT	89,516,613	LOC100628003/LOC100523263	exocyst complex component 1-like/neuromedin-U-like
M1GA0011944	8	58807576	Var. Inter.	216	HAMWT	89,516,613	LOC100736838/LOC100523077	transmembrane protein 165-like/probable polyprenol reductase-like
MARC0001802	8	61444757	Var. Inter.	216	HAMWT	89,516,613	← 5' LOC100621224	retinoic acid receptor RXR-gamma-like
MARC0005813	8	63826383	Var. Inter.	216	HAMWT	89,516,613	3'→LOC100737232	putative histone-lysine N-methyltransferase PRDM6-like
DRGA0008609	8	67430470	Introne	216	HAMWT	89,516,613	LOC100737487/EPHA5	ephrin type-A receptor 5-like/EPH receptor A5
ALGA0049235	8	120746095	Var. Inter.	217	ECLC	46,727,401	LOC100623186/LOC100622653	coiled-coil domain-containing protein 109B-like/protein transport protein Sec24B-like
H3GA0025688	8	143510867	Introne					
ASGA0040497	8	145409939	Var. Inter.					
ALGA0122878	8	146829727	Introne					
ALGA0115298	8	146937454	Introne					
ALGA0108361	8	147002408	Var. Inter.					
ASGA0091822	8	147096090	Var. Inter.					
CASI0010064	8	147270913	Var. Inter.					
MARC0011508	8	147363214	Var. Inter.					
M1GA0012229	8	147435536	Var. Inter.					
H3GA0025835	8	147531540	Var. Inter.					
DRGA0009028	8	147583976	Var. Inter.					
ALGA0052283	9	34372328	Var. Inter.	322	LIVWT	14,849,019	LOC100519042/CNTN5	enhancer of yellow 2 transcription factor homolog/contactin-5
DRGA0009451	9	77876687	Var. Inter.	219	SHOUWT	64,322,505	CDK14/LOC100625201	cyclin-dependent kinase 14/magnesium transporter NIPA2-like
ASGA0052546	12	4118938	Introne					
MARC0021482	13	3328088	Var. Inter.	84	LEANP	9,799,313	3'→LOC100625499	LOC100625499
ASGA0061781	14	18545612	Var. Inter.	86	LMA	129,251,521	LOC100625540/LOC100518755	polypeptide N-acetylgalactosaminyltransferase-like 6-like
ASGA0062732	14	37900504	Introne	86	LMA	129,251,521	RNFT2/LOC100520051	ring finger protein, transmembrane 2/UPF0454 protein C12orf49 homolog
MARC0044814	14	39496627	Var. Inter.	86	LMA	129,251,521	MED13L/TBX3	mediator complex subunit 13-like/T-box transcription factor TBX3 isoform 2
ALGA0097277	18	19527294	Var. Inter.	216	HAMWT	36,274,068	PCPA1/LOC100513961	carboxypeptidase A1 precursor/carboxypeptidase A5-like, transcript variant 2
ASGA0079089	18	19925205	Introne	216	HAMWT	36,274,068	LOC100626356/LOC100739649	ubiquitin-conjugating enzyme E2 H-like/nuclear respiratory factor 1-like
DIAS0001180	18	21621578	Introne	216	HAMWT	36,274,068	LOC100521760/LOC100523579	LOC100521760/paired box protein Pax-4-like

**Tabella 6.2** Lista degli SNPs risultati associati al carattere spessore del grasso dorsale.

SNP	Chr	pb SNP	Ubicazione	Caratteri ID	QTL	pb QTL	Geni Vicini <--5'/3'-->	Proteine
MARC0031127			Non map.					
ASGA0000014	1	342481	Var. Inter.					
H3GA0001002	1	19115015	Var. Inter.	2	bft	196,801,523	TAB2 / UST	beta activated kinase 1/uronyl-2-sulfotransferase
MARC0010516	1	104293294	Var. Inter.	2	bft	196,801,523	LOC100153027 /SEPTBP1	SET-binding protein-like/SET binding protein 1
ASGA0004615	1	148840202	Var. Inter.	2	bft	196,801,523	TMC05A/LOC100514616	transmembrane and coiled-coil domains 5A/ zinc finger protein 770-like
H3GA0003318	1	186789883	3' gene	2	bft	196,801,523	LOC100522295/LRRC49	Non Nota/ leucine rich repeat containing 49
INRA0005325	1	195758671	Var. Inter.	2	bft	196,801,523	FAM179B/LOC100620782	family with sequence similarity 179, member B/ high affinity copper uptake protein 1-like
ALGA0007108	1	197179651	Var. Inter.	2	bft	196,801,523	MDGA2/LOC100737539	MAM domain containing glycosylphosphatidylinositol anchor 2 /Non Nota
ALGA0007278	1	205699906	Var. Inter.	2	bft	196,801,523	KTN1/LOC100736842	kinesin receptor/ Non Nota
ALGA0118442	1	308184301	Var. Inter.	7	efatham	13,377,595	COL5A1/FCN2	Ficolin/collagen, type V, alpha 1
ASGA0032270	7	32786027	Introne	2	bft	96,173,973	PRIM2/RAB23	Primase/ member RAS oncogene family
ALGA0040052	7	33032424	Var. Inter.	2	bft	53,089,783	PRIM2/ LOC100155623	primase, DNA, polypeptide 2 (58kDa)/ ras-related protein Rab-23-like
ALGA0040181	7	34450700	Introne	2	bft	53,089,783	N.A. GAP/ ITPR3	N.A. GAP /inositol 1,4,5-trisphosphate receptor, type 3
DIAS0002499	8	140632725	Mut. Mis.					
ALGA0054972	9	131957271	Introne	2	bft	100,687,901	RASAL2/LOC100523082	RAS protein activator like 2/ chromosome alignment-maintaining phosphoprotein 1-like
ASGA0046547	10	13589557	Introne	17	marb	16,795,956	AIDA/BROX	axin interactor, dorsalization associated/ BRO1 domain and CAAX motif containing
ALGA0065112	12	13563645	Introne	11	bfm	31,985,469	PRKCA/CACNG5	protein kinase C, alpha/calcium channel, voltage-dependent, gamma subunit 5
ALGA0117681	12	26811678	Introne	2	bft	34,451,703	LOC100738426/ACSF2	leucine-rich repeat-containing protein 59-like/acyl-CoA synthetase family member 2
ALGA0107287	13	215697149	Var. Inter.					
M1GA0020746	15	151385781	Var. Inter.					

EFATHAM= Spessore grasso prosciutto; BFT= Media spessore grasso dorsale; MARB= Marezzatura.



**Tabella 6.3** Lista degli SNPs risultati associati al carattere percentuale di carne magra.

SNP	Chr	pb SNP	Ubicazione	Caratteri ID	QTL	pb QTL	Geni Vicini <--5'/3'-->	Proteine
ALGA0111098	X	40307322	Var. Inter.	86	LMA	49,035,385	LOC100512449/LOC100514935	LOC100512449/renin receptor-like
H3GA0001617	1	53320108	Var. Inter.	217	ECLC	272,659,843	N.A. GAP	N.A. GAP
DRGA0017375	4	124409324	Var. Inter.	280	FATCP	32,847,820	LOC100157091/LOC100620733	BRISC complex subunit Abro1-like/ serine-rich coiled-coil domain-containing protein 2-like
H3GA0056401	6	72852606	Var. Inter.	84	LEANP	70,846,939	LOC100515085/LOC100515264	von Willebrand factor A domain containing 5B1/ calcium/calmodulin-dependent protein kinase II inhibitor 1-like
H3GA0020592	7	31714979	Introne	84	LEANP	120,480,515	GCLC/LOC100155845	glutamate-cysteine ligase, catalytic subunit, transcript variant 2/ eukaryotic translation initiation factor 1-like
ASGA0032266	7	32543114	Var. Inter.	84	LEANP	120,480,515	LOC100153184	KH domain-containing, RNA-binding, signal transduction- associated protein 2-like
ASGA0032270	7	32786027	Introne	84	LEANP	120,480,515	N.A. GAP/PRIM2	N.A. GAP/primase, DNA, polypeptide 2 (58kDa)
ALGA0040052	7	33032424	Var. Inter.	84	LEANP	120,480,515	3'--> LOC100155623	ras-related protein Rab-23-like
ALGA0040181	7	34450700	Introne	84	LEANP	120,480,515	N.A. GAP/ITPR3	N.A. GAP/ inositol 1,4,5-trisphosphate receptor, type 3
ALGA0117681	12	26811678	Introne	77	HCWT	24,254,842	LOC100738426/ACSF2	leucine-rich repeat-containing protein 59-like/acyl-CoA synthetase family member 2

HCWT= Peso carcassa calda (kg); ECLC= Stima carne magra carcassa (%); LEANP= Percentuale carne magra (%); LMA= Area carne magra; FATCP= Percentuale grasso.

**Tabella 6.4** Lista degli SNPs risultati associati al carattere numero di iodio.

SNP	Chr	pb SNP	Ubicazione	Caratteri ID	QTL	pb QTL	Geni Vicini <--5'/3'-->	Proteine
MARC0074316			Non map.					
Neogen-ss86352417			Non map.					
ALGA0004968			Non map.					
ASGA0080643	X	5484206	Introne	250	FA-C18:0	5,918,586	PNPLA4/KAL1	Kallmann syndrome 1 sequence/patatin-like phospholipase domain containing 4
ALGA0103468	X	6769971	Introne	250	FA-C18:0	5,918,586	LOC100522965/LOC100624736	protein Shroom2-like/G-protein coupled receptor 143-like
MARC0006809	X	104377448	Introne	354	MFCON	8,554,892	RBMX/LOC100520821	RNA binding motif protein, X-linked/LOC100520821
ASGA0081471	X	127945580	Var. Inter.					
H3GA0052088	X	136846599	5' gene					
ASGA0081585	X	139880674	Var. Inter.					
MARC0031172	X	139935048	Introne					
ALGA0100266	X	140000914	Var. Inter.					
ASGA0081577	X	140043606	Introne					
SIRI0000378	X	140634325	5' gene					
ASGA0081616	X	142189065	Var. Inter.					
ALGA0002273	1	34034434	Var. Inter.					
INRA0003161	1	94180981	Var. Inter.	354	MFCON	195,180,947	3'→LOC100524414	LOC100524414
H3GA0002186	1	94712400	Var. Inter.	354	MFCON	195,180,947	IBTK/LOC100152412	inhibitor of Bruton agammaglobulinemia tyrosine kinase/ribosomal protein L32
ALGA0004722	1	94935963	Var. Inter.	354	MFCON	195,180,947	LOC100627424	60S ribosomal protein L18-like
DRGA0001283	1	95146233	Var. Inter.	354	MFCON	195,180,947	LOC100156873	protein FAM46A isoform 2
INRA0003187	1	95873800	Var. Inter.	354	MFCON	195,180,947	BCKDHB	branched chain keto acid dehydrogenase E1, beta polypeptide
INRA0003212	1	97924183	Introne	354	MFCON	195,180,947	PHIP/LOC100156851	pleckstrin homology domain interacting protein/interleukin-1 receptor-associated kinase 1-binding protein 1-like
ALGA0004809	1	98447029	Var. Inter.	354	MFCON	195,180,947	N.A. GAP	N.A. GAP
ALGA0004833	1	98992614	Var. Inter.	354	MFCON	195,180,947	N.A. GAP	N.A. GAP
ASGA0003810	1	100577937	Var. Inter.	354	MFCON	195,180,947	N.A. GAP	N.A. GAP
ALGA0004925	1	101018800	Introne	354	MFCON	195,180,947	MYO6/SENTP6	myosin VI/SUMO1/sentrin specific peptidase 6
H3GA0002271	1	102071378	Var. Inter.	354	MFCON	195,180,947	N.A. GAP	N.A. GAP
MARC0013705	1	103129617	5' gene	354	MFCON	195,180,947	N.A. GAP/CD109	N.A. GAP/CD109 molecule

Segue

SNP	Chr	pb SNP	Ubicazione	Caratteri ID	QTL	pb QTL	Geni Vicini <--5'/3'-->	ProteineSegue
ASGA0004005	1	106768830	Var. Inter.	354	MFCON	195,180,947	N.A. GAP/LOC100624349	N.A. GAP/ mothers against decapentaplegic homolog 2-like
ASGA0003997	1	107013020	Var. Inter.	354	MFCON	195,180,947	LOC100624515/LOC100520594	LOC100624515/zinc finger and BTB domain-containing protein 7C-like
ASGA0003960	1	107572525	Var. Inter.	354	MFCON	195,180,947	LOC100520411/CTIF	LOC100520411/CBP80/20-dependent translation initiation factor
INRA0003458	1	108406184	Var. Inter.	354	MFCON	195,180,947	LOC100738627/LOC100738675	dymeclin-like/UPF0729 protein C18orf32 homolog
M1GA0001091	1	117930744	Var. Inter.					
DRGA0001449	1	118496465	3' UTR gene	354	MFCON	195,180,947	LOC100152751/LOC100514810	activating signal cointegrator 1-like/PCNA-associated factor-like
ALGA0005551	1	123361676	Var. Inter.	354	MFCON	195,180,947	LOC100157039/ANXA2	NMDA receptor-regulated protein 2-like/annexin A2
ALGA0005730	1	130814016	Introne	354	MFCON	195,180,947	LOC100516308/LOC100153251	LOC100516308/WD repeat-containing protein 72-like
ALGA0005858	1	139370995	Var. Inter.	354	MFCON	195,180,947	N.A. GAP/ LOC100623560	N.A. GAP/ 60S ribosomal protein L10-like
ALGA0005880	1	139666897	Var. Inter.	354	MFCON	195,180,947	LOC100152976/LOC100154592	ribosomal protein L29/60S ribosomal protein L17-like
ALGA0005938	1	141252903	3' gene	354	MFCON	195,180,947	DUOX2/SORD	dual oxidase 2/sorbitol dehydrogenase
ASGA0004483	1	142290765	Var. Inter.	354	MFCON	195,180,947	N.A. GAP	N.A. GAP
H3GA0002737	1	142765679	Mut. Mis.	354	MFCON	195,180,947	LOC100520287/LOC100520470	inositol hexakisphosphate and diphosphoinositol-pentakisphosphate kinase 1-like/microtubule-associated protein 1A-like
ASGA0102084	1	143603061	Var. Inter.	354	MFCON	195,180,947	LOC100512030/LOC100628176	codanin-1-like/stAR-related lipid transfer protein 9-like
MARC0003250	1	144155620	3' gene	354	MFCON	195,180,947	VPS39/LOC100513834	vacuolar protein sorting 39 homolog (S. cerevisiae), transcript variant 1/cytosolic phospholipase A2 zeta-like
ASGA0004529	1	144577367	Mut. Mis.	354	MFCON	195,180,947	PLA2G4B/LOC100155358	phospholipase A2, group IVB (cytosolic)/spectrin beta chain, brain 4-like
ASGA0004539	1	144941329	Introne	354	MFCON	195,180,947	LOC100524006/ITPKA	leukocyte tyrosine kinase receptor-like/inositol-trisphosphate 3-kinase A
MARC0029823	1	145464586	Introne	354	MFCON	195,180,947	INO80/LOC100524723	INO80 homolog (S. cerevisiae)/ cation transport regulator-like protein 1-like
MARC0009571	1	162976215	3' gene	354	MFCON	195,180,947	N.A. GAP/ LOC100736969	N.A. GAP/ galanin receptor type 1-like
ASGA0004864	1	163879096	Var. Inter.	354	MFCON	195,180,947	N.A. GAP/ LOC100513639	N.A. GAP/ zinc finger protein 516-like
ASGA0004931	1	169007648	Var. Inter.	354	MFCON	195,180,947	SOCS6/ RTTN	suppressor of cytokine signaling 6/rotatin
H3GA0003074	1	174834748	Var. Inter.	354	MFCON	195,180,947	N.A. GAP/LOC100738757	N.A. GAP/ tyrosyl-tRNA synthetase, mitochondrial-like
ALGA0006570	1	176029583	Var. Inter.	354	MFCON	195,180,947	BCL2/PHLPP1	B-cell CLL/lymphoma 2/PH domain and leucine rich repeat protein phosphatase 1
MARC0054059	1	183771659	5' gene	354	MFCON	195,180,947	SKOR1/PIAS1	SKI family transcriptional corepressor 1/protein inhibitor of activated STAT, 1

Segue

ASGA0005166	1	184185132	Var. Inter.	354	MFCON	195,180,947	ITGA11/ N.A. GAP	integrin, alpha 11/ N.A. GAP
<b>SNP</b>	<b>Chr</b>	<b>pb SNP</b>	<b>Ubicazione</b>	<b>Caratteri ID</b>	<b>QTL</b>	<b>pb QTL</b>	<b>Geni Vicini &lt;--5'/3'--&gt;</b>	<b>Proteine</b>
ALGA0006831	1	184400666	Introne	354	MFCON	195,180,947	CORO2B/LOC100738556	coronin, actin binding protein, 2B/Segue2B-like
H3GA0003318	1	186789883	3' gene					
ALGA0006982	1	189896026	3' gene	354	MFCON	195,180,947	N.A. GAP	N.A. GAP
ALGA0006991	1	190244449	Var. Inter.	354	MFCON	195,180,947	N.A. GAP	N.A. GAP
ALGA0007108	1	197179651	Var. Inter.					
H3GA0003379	1	200247563	Var. Inter.	354	MFCON	195,180,947	N.A. GAP /SOS2	N.A. GAP/son of sevenless homolog 2
ASGA0005468	1	208707283	Var. Inter.	354	MFCON	195,180,947	N.A. GAP / LOC100515641	N.A. GAP / LOC100515641
MARC0011407	1	209896126	Introne	354	MFCON	195,180,947	RTN1/ N.A. GAP	uncharacterized protein / N.A. GAP
ALGA0007366	1	210621807	Var. Inter.	354	MFCON	195,180,947	LOC100519236/SIX1	homeobox protein SIX6-like/SIX homeobox 1
ASGA0005491	1	211336489	Var. Inter.	229	FA-C18:3	70,643,791	SLC38A6/ N.A. GAP	solute carrier family 38, member 6/ N.A. GAP
ALGA0007411	1	213525917	Var. Inter.	229	FA-C18:3	70,643,791	NTRK3/LOC100523766	neurotrophic tyrosine kinase, receptor, type 3/LOC100523766
ALGA0007427	1	214089624	Var. Inter.	229	FA-C18:3	70,643,791	N.A. GAP	N.A. GAP
MARC0097217	1	259709320	Var. Inter.	229	FA-C18:3	70,643,791	N.A. GAP	N.A. GAP
ASGA0008267	1	309237179	Var. Inter.					
ALGA0011255	1	312450671	Var. Inter.					
ASGA0009897	2	34512802	Var. Inter.	93	FA-C18:2	39,100,368	N.A. GAP /LOC100517930	N.A. GAP / probable methyltransferase-like protein 15-like
ASGA0102917	3	3709765	Introne					
M1GA0004815	3	129508631	Var. Inter.					
ASGA0020192	4	79162883	Var. Inter.	93	FA-C18:2	10,774,211	CHD7/RAB2A	chromodomain helicase DNA binding protein 7/RAB2A, member RAS oncogene family
ASGA0020351	4	83047506	3' gene	93	FA-C18:2	24,426,594	LOC100156514/LOC100627085	transmembrane protein 68-like/XK-related protein 4-like
ALGA0027910	4	117840426	Introne	251	FA-C18:1	18,455,181	MOV10/LOC100520019	putative helicase MOV-10/rho-related GTP-binding protein RhoC-like
ASGA0022254	4	122973560	Var. Inter.	231	FA-C16:0	25,715,425	VAV3	vav 3 guanine nucleotide exchange factor
MARC0081632	4	123181700	Introne	231	FA-C16:0	25,715,425	NTNG2	netrin G2, transcript variant 2
ASGA0022326	4	123712634	Var. Inter.	231	FA-C16:0	25,715,425	PRMT6/LOC100157091	protein arginine methyltransferase 6/BRISC complex subunit Abro1-like
MARC0093802	5	94786562	Var. Inter.					
H3GA0017812	6	29902588	Var. Inter.					

Segue

MARC0056858	6	40053845	Var. Inter.						
SNP	Chr	pb SNP	Ubicazione	Caratteri ID	QTL	pb QTL	Geni Vicini <--5'/3'-->	Proteine	
ALGA0122547	6	70023840	5' gene	354	MFCON	68,999,890	SDHB/LOC100621356	succinate dehydrogenase complex, subunit B, iron sulfur (lp)/ protein-arginine deiminase type-2-like	
ASGA0028529	6	70658175	Var. Inter.						
MARC0016710	6	71271642	3' gene	354	MFCON	68,999,890	IGSF21/LOC100622416	/immunoglobulin superfamily, member 21kelch domain-containing protein 7A-like	
ASGA0092766	6	71932472	Introne	354	MFCON	68,999,890	CAPZB/LOC100737485	capping protein (actin filament) muscle Z-line, beta/40S ribosomal protein S25-like	
MARC0011512	6	73745517	Var. Inter.	354	MFCON	68,999,890	ECE1/N.A. GAP	endothelin converting enzyme 1, transcript variant 1/N.A. GAP	
ASGA0028587	6	74002918	Var. Inter.	354	MFCON	68,999,890	LOC100738715/LOC100517477	basement membrane-specific heparan sulfate proteoglycan core protein-like/LOC100517477	
ALGA0035678	6	74228517	Var. Inter.	354	MFCON	68,999,890	WNT4/N.A. GAP	wingless-type MMTV integration site family, member 4/N.A. GAP	
MARC0026937	6	74605898	5' gene	354	MFCON	68,999,890	EPHA8/C1QA	EPH receptor A8/complement component 1, q subcomponent, A chain	
MARC0002557	6	75463989	5' gene	354	MFCON	68,999,890	TCEB3/LOC100620900	transcription elongation factor B (SIII), polypeptide 3 (110kDa, elongin A)/ elongation factor 1-alpha, somatic form-li	
MARC0003453	6	77637493	Var. Inter.	354	MFCON	68,999,890	ARID1A/N.A. GAP	AT rich interactive domain 1A (SWI-like) /N.A. GAP	
MARC0027939	7	4064048	Introne						
H3GA0020846	7	36202231	Introne	232	FA-C16:1	23,643,212	PPARD/DEF6	peroxisome proliferator-activated receptor delta, transcript variant 2/differentially expressed in FDCP 6 homolog (mouse)	
H3GA0023819	7	129898714	Introne						
ALGA0047039	8	27073244	Var. Inter.	250	FA-C18:0	16,350,449	LOC100738271/N.A. GAP	uncharacterized protein/N.A. GAP	
H3GA0026659	9	15197400	Var. Inter.	229	FA-C18:3	7,592,460	LOC100738497/N.A. GAP	teneurin-4-like/N.A. GAP	
ALGA0051632	9	15869303	Var. Inter.	229	FA-C18:3	7,592,460	N.A. GAP	N.A. GAP	
ASGA0041847	9	16129184	Var. Inter.	229	FA-C18:3	7,592,460	LOC100515331	LOC100515331	
MARC0063505	9	117668749	Var. Inter.						
ALGA0054972	9	131957271	Introne						
ALGA0115806	10	65996645	Var. Inter.						
ASGA0051920	11	80645850	Var. Inter.	354	MFCON	28,680,936	N.A. GAP	N.A. GAP	
H3GA0054035	12	21266265	Var. Inter.	229	FA-C18:3	18,690,402	LOC100737650/LOC100736981	keratin, type I cytoskeletal 16-like/eukaryotic translation initiation factor 1-like	
MARC0002558	12	62600494	Introne						
ASGA0060257	13	215340754	5' gene						
CASI0009880	14	43121172	Introne	93	FA-C18:2	59,407,331	ACADS/LOC100154995	acyl-CoA dehydrogenase, C-2 to C-3 short chain/signal peptide peptidase-like 3-like	
ALGA0077120	14	43501877	Introne	93	FA-C18:2	59,407,331	ANKRD13A/GIT2	ankyrin repeat domain 13°/G protein-coupled receptor kinase interacting ArfGAP 2, transcript variant 4	

Segue

SNP	Chr	pb SNP	Ubicazione	Caratteri ID	QTL	pb QTL	Geni Vicini <--5'/3'-->	Proteine
ALGA0077177	14	44504632	5' gene	93	FA-C18:2	59,407,331	DA01/SSH1	D-amino acid oxidase/protein phosphatase Slingshot homolog 1
M1GA0019883	14	151056580	5' gene					
MARC0021707	15	6502734	Var. Inter.					
H3GA0043672	15	6798635	Var. Inter.					
INRA0049698	15	89149197	Var. Inter.					
DIAS0000968	15	133656928	Introne					
ASGA0073565	16	59713601	Introne					
ALGA0094969	17	44942590	Var. Inter.					
ALGA0095103	17	46369659	Introne					
ASGA0079373	18	27454936	Introne					
ALGA0097677	18	28006207	Var. Inter.					
MARC0085291	18	38350870	Var. Inter.					

FA-C16:0= Acido Palmitico; FA-C18:0= Acido Stearico; FA-C18:1= Acido Oleico FA-C18:2= Acido linoleico C:2; FA-C18:3= Acido linoleico C:3; MFCON= Grasso nel muscolo (lipidi totali)

**Tabella 6.5** Lista degli SNPs risultati associati al carattere Acido Linoleico.

SNP	Chr	pb SNP	Ubicazione	Caratteri ID	QTL	pb QTL	Geni Vicini <--5'/3'-->	Proteine
ALGA0004968			Non map.					
ASGA0081212	X	97188651	Var. Inter.					
M1GA0023768	X	124719392	Var. Inter.					
ALGA0100211	X	130476837	Introne					
MARC0036201	X	132088343	Var. Inter.					
DRGA0017308	X	132326739	Var. Inter.					
H3GA0052088	X	136846599	5' gene					
ALGA0002273	1	34034434	Var. Inter.					
ASGA0002567	1	49766240	Introne					
H3GA0001617	1	53320108	Var. Inter.					
ALGA0003260	1	56384076	Introne					
INRA0003161	1	94180981	Var. Inter.					
INRA0003187	1	95873800	Var. Inter.					
ALGA0004752	1	96820680	Introne					
INRA0003212	1	97924183	Introne					
ALGA0004809	1	98447029	Var. Inter.					
ALGA0004833	1	98992614	Var. Inter.					
ASGA0003810	1	100577937	Var. Inter.					
H3GA0002271	1	102071378	Var. Inter.					
MARC0013705	1	103129617	5' gene					
M1GA0001091	1	117930744	Var. Inter.					
DIAS0001261	1	120580759	Introne					
ASGA0004483	1	142290765	Var. Inter.					
H3GA0002737	1	142765679	Mut. Mis.					
ASGA0102084	1	143603061	Var. Inter.					
ALGA0006427	1	165256113	Var. Inter.					
MARC0076837	1	165612350	Var. Inter.					
MARC0054059	1	183771659	5' gene					
ASGA0005166	1	184185132	Var. Inter.					
ALGA0006831	1	184400666	Introne					
ALGA0011255	1	312450671	Var. Inter.					
H3GA0012671	4	47912962	Var. Inter.	269	140FANDRO	78,245,237	N.A.GAP/RUNX1T1	N.A.GAP/runt-related transcription factor 1; translocated to, 1 (cyclin D-related)
MARC0053876	4	66612535	3' gene	269	140FANDRO	78,245,237	N.A.GAP/CRISPLD1	N.A. GAP /cysteine-rich secretory protein LCCL domain containing 1
ASGA0019836	4	67211574	5' gene	269	140FANDRO	78,245,237	GDAP1/LOC100626574	ganglioside-induced differentiation-associated protein 1/junctophilin-1-like
ASGA0020073	4	76189394	Var. Inter.	93	FA-C18:2	10,774,211	MIR124A-1/ N.A.GAP	microRNA mir-124a-1/ N.A.GAP

Segue

SNP	Chr	pb SNP	Ubicazione	Caratteri ID	QTL	pb QTL	Geni Vicini <--5'/3'-->	Proteine
ASGA0020192	4	79162883	Var. Inter.	93	FA-C18:2	10,774,211	CHD7/RAB2A	chromodomain helicase DNA binding protein 7/RAB2A, member RAS oncogene family
DRGA0004942	4	89534984	Introne	93	FA-C18:2	28,118,813	LOC100152763/ATP1B1	nucleoside-diphosphate kinase 7/ATPase, Na+/K+ transporting, beta 1 polypeptide
INRA0015274	4	90781551	Introne	93	FA-C18:2	28,118,813	BRP44/ADCY10	brain protein 44/adenylate cyclase 10 (soluble)
ASGA0021838	4	117499406	Var. Inter.	251	FA-C18:1	18,455,181	LRIG2/ N.A.GAP	leucine-rich repeats and immunoglobulin-like domains 2/ N.A.GAP
ALGA0115452	4	122367604	Var. Inter.	231	FA-C16:0	25,715,425	N.A.GAP	N.A.GAP
ASGA0022254	4	122973560	Var. Inter.	231	FA-C16:0	25,715,425	VAV3	vav 3 guanine nucleotide exchange factor
MARC0081632	4	123181700	Introne	231	FA-C16:0	25,715,425	NTNG2/PRMT6	netrin G2, transcript variant 2/protein arginine methyltransferase 6
ASGA0022326	4	123712634	Var. Inter.	231	FA-C16:0	25,715,425	LOC100157091/N.A.GAP	BRISC complex subunit Abro1-like / N.A.GAP
MARC0021841	6	33801273	Var. Inter.					
ASGA0103757	6	34565495	Var. Inter.					
H3GA0017944	6	47228630	Introne					
ASGA0090414	6	67214075	Var. Inter.					
M1GA0010661	7	104755341	Introne					
ASGA0094982	8	8869876	Var. Inter.					
ALGA0046542	8	14244607	Var. Inter.					
ALGA0051632	9	15869303	Var. Inter.	229	FA-C18:3	7,592,460	N.A.GAP/LOC100515331	N.A.GAP/LOC100515331
ALGA0054972	9	131957271	Introne					
MARC0055757	9	142114310	Introne					
ALGA0063150	11	71912745	Var. Inter.					
ASGA0091417	15	119227123	Var. Inter.					
ASGA0097473	15	153829568	5' gene					
H3GA0046523	16	40416115	Introne					
ASGA0073565	16	59713601	Introne					
ALGA0096298	17	64897548	Introne					
MARC0003161	18	22912820	Introne	93	FA-C18:2	17,061,735	LOC100737970/GRM8	ATP synthase lipid-binding protein, mitochondrial-like/glutamate receptor, metabotropic 8

FA-C16:0= Acido Palmitico; FA-C18:1= Acido Oleico FA-C18:2= Acido linoleico C:2; FA-C18:3= Acido linoleico C:3; 140FARGO= Livello di Androstenone nel grasso



**Tabella 6.6** Lista degli SNPs risultati associati al carattere Spessore del grasso sottocutaneo in prossimità del muscolo semimembranoso.

SNP	Chr	pb SNP	Ubicazione	Carattere_ID	QTL	pb QTL	Geni Vicini <--5'/3'-->	Proteine
DRGA0007033			Non map.					
ALGA0100075	X	123825958	Var. Inter.	2	BFT	85,849,365	LOC100511236/LOC100513516	olfactory receptor 10A5-like/olfactory receptor 1S1-like
ASGA0002448	1	45116274	Var. Inter.	321	SHOUFATD	280,809,605	LOC100518281/N.A.GAP	LOC100518281 /N.A.GAP
ALGA0002856	1	45648377	Introne	321	SHOUFATD	280,809,605	GJA1 /LOC100156680	gap junction protein, alpha 1, 43kDa /protein broad-minded-like
H3GA0001534	1	46139189	Var. Inter.	321	SHOUFATD	280,809,605	LOC100156680/N.A.GAP	protein broad-minded-like/N.A.GAP
ALGA0003214	1	55856661	Var. Inter.	321	SHOUFATD	280,809,605	LOC100736796/LMBRD1	brain-specific angiogenesis inhibitor 3-like/LMBRD1 domain containing 1
INRA0005701	1	218183515	Mut. Mis.	321	SHOUFATD	280,809,605	LOC100512451/TEK	acrosome formation-associated factor-like/TEK tyrosine kinase, endothelial
MARC0052458	1	227524530	Var. Inter.	321	SHOUFATD	280,809,605	HAUS6/N.A.GAP	HAUS augmin-like complex, subunit 6 /N.A.GAP
H3GA0008947	3	17805231	Introne	1	ABDF	20,145,143	FBXL19/LOC100736565	F-box and leucine-rich repeat protein 19/protein orai-3-like
ALGA0109569	3	51843143	Introne	12	BFS	112,266,154	LOC100625522/LOC100625214	transforming growth factor-beta receptor-associated protein 1-like
ASGA0018774	4	18317740	Var. Inter.	16	IMF	78,019,498	LOC100153740/N.A.GAP	metalloendopeptidase OMA1, mitochondrial-like/N.A.GAP
MARC0025522	5	11601821	Var. Inter.	11	BFM	76,829,642	N.A.GAP/ N.A.GAP	N.A.GAP/ N.A.GAP
ALGA0033185	5	84758267	Var. Inter.	321	SHOUFATD	87,004,579	N.A.GAP/ LOC100515315	N.A.GAP/ LOC100515315
MARC0070476	5	88819927	Var. Inter.	321	SHOUFATD	87,004,579	N.A.GAP/ LOC100156003	N.A.GAP/ ankyrin repeat and sterile alpha motif domain-containing protein 1B-like
MARC0043200	6	156269199	Introne	16	IMF	13,771,878	LOC100522685/LOC100522878	LOC100522685/N-acetylaspartyl-glutamate synthetase A-like
ASGA0030388	6	157470018	Introne	16	IMF	13,771,878	KCNQ4/LOC100525647	potassium voltage-gated channel, KQT-like subfamily, member 4/nuclear transcription factor Y subunit gamma-like
M1GA0011796	8	9715626	Var. Inter.	289	BFTR	110,966,004	N.A.GAP/ CPEB2	N.A.GAP/ cytoplasmic polyadenylation element binding protein 2
MARC0067185	8	142867557	Var. Inter.					
H3GA0027318	9	52792189	Var. Inter.	319	EFATHAM	64,322,505	ARHGEF12/ N.A.GAP	Rho guanine nucleotide exchange factor (GEF) 12/ N.A.GAP
MARC0005360	9	60353481	Var. Inter.	343	EFATLOIN	64,322,505	N.A.GAP/ N.A.GAP	N.A.GAP/ N.A.GAP
ALGA0054952	9	131561944	Introne	3	SCF	147,219,260	N.A.GAP/ LOC100737513	N.A.GAP/ LOC100737513
ALGA0054972	9	131957271	Introne	3	SCF	147,219,260	RASAL2/N.A.GAP	RAS protein activator like 2, transcript variant 1/N.A.GAP
H3GA0028391	9	140414381	Var. Inter.	3	SCF	147,219,260	LOC100518570/LOC100518745	phosducin-like/LOC100518745
ALGA0055448	9	141815444	Var. Inter.	3	SCF	147,219,260	CENPF/N.A.GAP	centromere protein F, 350/400kDa (mitosin) /N.A.GAP
ASGA0049324	11	3755535	Var. Inter.					
ASGA0059120	13	158253764	Var. Inter.	427	HFT	105,491,972	N.A.GAP/ LOC100517610	N.A.GAP/ ribosomal protein L13a
ALGA0072415	13	159350756	Var. Inter.	427	HFT	105,491,972	LOC100620381/MORC1	developmental pluripotency-associated protein 2-like/MORC family CW-type zinc finger 1
H3GA0037481	13	159592997	Introne	427	HFT	105,491,972	MORC1	MORC family CW-type zinc finger 1
ALGA0072444	13	159924000	3' gene	427	HFT	105,491,972	RETNLB/LOC100154778	resistin like beta/E3 ubiquitin-protein ligase DZIP3-like

Segue

SNP	Chr	pb SNP	Ubicazione	Carattere_ID	QTL	pb QTL	Geni Vicini <--5'/3'-->	Proteine
ALGA0076103	14	23561317	Var. Inter.	3	SCF	125,155,600	SPOCK3/N.A.GAP	sparc/osteonectin, cwcv and kazal-like domains proteoglycan (testican) 3, transcript variant 2/N.A.GAP
DRGA0013762	14	28815792	Var. Inter.	3	SCF	125,155,600	LOC100156282/LOC100515100	LOC100156282 /LOC100515100
MARC0055325	14	88987258	5' gene	319	EFATHAM	50,425,308	LOC100154486/LOC100153283	tetraspanin-14-like isoform 1/SH2 domain-containing protein 4B-like
ASGA0073565	16	59713601	Introne	321	SHOUFATD	66,481,338	SLIT3/LOC100513632	slit homolog 3 protein
DIAS0004816	16	80381642	Introne	321	SHOUFATD	66,481,338	ADCY2 /N.A.GAP	adenylate cyclase 2 (brain)/ N.A.GAP
ASGA0075377	17	11429436	3' gene					
ASGA0077938	17	63195165	Var. Inter.					
ALGA0096707	17	68546843	Var. Inter.					
ALGA0118449	18	8127142	Introne					

SHOUFATD= Grasso sottocutaneo spalla; EFATHAM= Spessore grasso prosciutto; SCF= Grasso muscolare dorsale; HFT= Accumulo grasso sottocutaneo coscia; EFATLOIN= Grasso esterno lombo; BFM= Spessore grasso schiena; BFS= Grasso schiena ; BFTR= Grasso coppa; ABDF= Grasso addominale; IMF= Grasso intramuscolare.

**Tabella 6.7** Lista degli SNPs risultati associati al carattere Spessore del grasso sottocutaneo vicino al muscolo quadricipite femorale.

SNP	Chr	pb SNP	Ubicazione	Caratteri ID	QTL	pb QTL	Geni Vicini <--5'/3'-->	Proteine
MARC0106924			Non map.					
ASGA0081192	X	62086511	Var. Inter.	321	SHOUFATD	76,931,572	LOC100738840/LOC100624619	stAR-related lipid transfer protein 8-like/ephrin-B1-like
H3GA0000454	1	6764028	Var. Inter.					
ALGA0008203	1	252151860	Var. Inter.	321	SHOUFATD	278,746,876	TRPM3/LOC100516588	transient receptor potential cation channel, subfamily M, member 3, transcript variant 1 /transmembrane protein 2-like
ALGA0015866	2	134818810	5' gene	427	HFT	129,756,299	N.A.GAP/LOC100514826	N.A.GAP/ GRAM domain-containing protein 3-like
ASGA0025052	5	21918537	Var. Inter.	321	SHOUFATD	87,004,579	N.A.GAP/LOC100736637	N.A.GAP/olfactory receptor 6C2-like
CASI0011562	5	97022279	Var. Inter.	427	HFT	11,833,675	LOC100522619 /N.A.GAP	prothymosin alpha-like/ N.A.GAP
H3GA0017134	5	97244415	Var. Inter.	427	HFT	11,833,675	N.A.GAP /N.A.GAP	N.A.GAP /N.A.GAP
ASGA0090175	6	140080043	Var. Inter.	343	EFATLOIN	10,832,882	N.A.GAP /HOOK1	N.A.GAP / hook homolog 1
H3GA0019050	6	140804651	Var. Inter.	343	EFATLOIN	10,832,882	LOC100512419/ LOC100512055	lipid phosphate phosphohydrolase 3-like/ LOC100512055
ASGA0031202	7	11385969	Var. Inter.	318	EFATSHO	7,892,329	N.A.GAP /LOC100521631	LOC100521631
MARC0054558	8	89905287	Var. Inter.					
ASGA0039198	8	90096395	Var. Inter.					
ASGA0039207	8	90732693	Introne					
ALGA0049235	8	120746095	Var. Inter.	402	BFATL	38,282,531	LOC100623186/LOC100622653	coiled-coil domain-containing protein 109B-like/protein transport protein Sec24B-like
H3GA0025902	9	1707931	Var. Inter.	389	FATTIS	10,978,382	LOC100520502/LOC100736745	olfactory receptor 10A3-like/olfactory receptor 10A6-like
CASI0009929	9	96372652	Var. Inter.	319	EFATHAM	64,322,505	LOC100515567/HDAC9	ribose-phosphate pyrophosphokinase 1-like/histone deacetylase 9, transcript variant 2
ALGA0056336	10	3363397	Var. Inter.					
ASGA0048438	10	61299906	Var. Inter.	427	HFT	10,043,541	LOC100523136/N.A.GAP	MAM and LDL-receptor class A domain-containing protein C10orf112-like/N.A.GAP
MARC0057361	11	26794449	5' gene					
ASGA0096280	11	75353506	Var. Inter.					
MARC0090129	11	76848390	Var. Inter.					
ALGA0071763	13	123798067	Var. Inter.	427	HFT	105,491,972	N.A.GAP /LOC100737704	N.A.GAP / polymerase (RNA) I polypeptide D, 16kDa
ISU10000466	13	169263488	Var. Inter.	427	HFT	105,491,972	LOC100525783/N.A.GAP	protein FAM54B-like/N.A.GAP
ASGA0059266	13	171148012	Var. Inter.	427	HFT	105,491,972	LOC100153406/LOC100156225	olfactory receptor 5K3-like
MARC0082955	13	172744897	Var. Inter.	427	HFT	105,491,972	LOC100624348/LOC100624255	beta/gamma crystallin domain-containing protein 3-like/ADP-ribosylation factor-like protein 6-like
ALGA0072732	13	173797155	Var. Inter.	427	HFT	105,491,972	LOC100156650/N.A.GAP	ephrin type-A receptor 6-like/N.A.GAP
ALGA0072773	13	177864341	Var. Inter.	427	HFT	105,491,972	EPHA3/N.A.GAP	EPH receptor A3/N.A.GAP
MARC0067784	13	182364573	Var. Inter.	427	HFT	105,491,972	N.A.GAP /LOC100626482	N.A.GAP /survival motor neuron protein-like
ALGA0072961	13	187716851	Introne	427	HFT	105,491,972	N.A.GAP / ROBO2	N.A.GAP / roundabout homolog 2 isoform 1
ASGA0059405	13	188270875	Var. Inter.	427	HFT	105,491,972	ROBO2/N.A.GAP	roundabout homolog 2 isoform 1/N.A.GAP
ALGA0073034	13	188906506	Var. Inter.	427	HFT	105,491,972	LOC100627257/N.A.GAP	40S ribosomal protein S8-like/N.A.GAP
ALGA0073059	13	189393783	Var. Inter.	427	HFT	105,491,972	LOC100153274/LOC100152428	putative RNA-binding protein 11-like/multidrug resistance-

Segue

								associated protein 1-like
SNP	Chr	pb SNP	Ubicazione	Caratteri ID	QTL	pb QTL	Geni Vicini <--5'/3'-->	Proteine
DRGA0013247	13	189599948	Var. Inter.	427	HFT	105,491,972	LOC100152073/SAMSN1	Stress 70 protein chaperone, microsomal-associated, 60kD/SAM domain, SH3 domain and nuclear localization signals 1
MARC0105089	13	191660790	Var. Inter.	427	HFT	105,491,972	N.A.GAP /N.A.GAP	N.A.GAP /N.A.GAP
ALGA0083477	15	4630471	Var. Inter.					
MARC0000464	15	5240547	Var. Inter.					
CASI0004920	15	6040472	Var. Inter.					

SHOUFATD= Grasso sottocutaneo spalla; EFATHAM= Spessore grasso prosciutto; HFT= Accumulo grasso sottocutaneo coscia; EFATLOIN= Grasso esterno lombo; BFATL=Grasso totale nei tessuti; FATTIS= Grasso nei tessuti a 22 settimane ; EFATSHO= Accumulo grasso sottocutaneo nella spalla.

**Tabella 6.8** Lista degli SNPs risultati associati al carattere Globosità.

SNP	Chr	pb SNP	Ubicazione	Caratteri ID	QTL	pb QTL	Geni Vicini <-5'/3'-->	Proteine
H3GA0051589	X	18027206	Var. Inter.					
DRGA0017142	X	19357189	3' gene					
ALGA0007803	1	234035171	Var. Inter.					
H3GA0003644	1	234498690	Var. Inter.					
MARC0033075	1	237447963	Var. Inter.					
MARC0030613	1	239424285	Var. Inter.					
ASGA0084373	6	35967061	Var. Inter.	128	HLEGC	83,678,382	N.A.GAP / ZNF536	N.A.GAP / zinc finger protein 536
MARC0048809	6	41595438	3' gene	128	HLEGC	83,678,382	ZNF829/ZNF793	zinc finger protein 829/ zinc finger protein 793
MARC0015928	6	49538608	3' UTR gene	128	HLEGC	83,678,382	LMTK3/CYTH2	lemur tyrosine kinase 3/cytohesin 2
DRGA0008588	8	51580681	Var. Inter.					
MARC0077695	8	53929233	Introne					
ASGA0039349	8	97708951	Var. Inter.					
ASGA0039391	8	101976068	Var. Inter.					
ASGA0102045	8	105078714	Var. Inter.					
ASGA0048906	10	70074394	Mut. Sin.					
H3GA0040005	14	46211548	Introne	128	HLEGC	40,527,942	ADRBK2/LOC100154025	adrenergic, beta, receptor kinase 2/myosin-XVIIIb-like
ALGA0077409	14	49904380	Var. Inter.	128	HLEGC	40,527,942	LOC100515281/ MTMR3	activating signal cointegrator 1 complex subunit 2-like/ myotubularin related protein 3
MARC0093590	14	50614768	Introne	128	HLEGC	40,527,942	TCN2/ LOC100158095	transcobalamin II/ solute carrier family 35 member E4-like
H3GA0040130	14	50992818	Introne	128	HLEGC	40,527,942	LOC100525309/SMTN	LOC100525309 /smoothelin
ALGA0077469	14	51195960	Introne	128	HLEGC	40,527,942	LOC100739740/ N.A.GAP	POZ-, AT hook-, and zinc finger-containing protein 1-like/ N.A.GAP
DRGA0013821	14	51464087	Introne	128	HLEGC	40,527,942	N.A.GAP / N.A.GAP	N.A.GAP / N.A.GAP
H3GA0040146	14	51760840	Introne	128	HLEGC	40,527,942	DEPDC5/ N.A.GAP	DEP domain-containing protein 5 /N.A.GAP
M1GA0018651	14	52903091	Introne	128	HLEGC	40,527,942	LOC100519740/ADORA2A	cytospin-A-like/adenosine A2a receptor
ASGA0063420	14	56672239	Var. Inter.	128	HLEGC	40,527,942	LOC100523926/ N.A.GAP	mitochondrial intermediate peptidase-like/ N.A.GAP
ALGA0077638	14	57158104	Var. Inter.	128	HLEGC	40,527,942	N.A.GAP	N.A.GAP
INRA0044104	14	57550262	Var. Inter.	128	HLEGC	40,527,942	ZP4/ RYR2	zona pellucida glycoprotein 4/ ryanodine receptor 2 (cardiac)
ASGA0063433	14	57906930	Introne	128	HLEGC	40,527,942	RYR2/ N.A.GAP	ryanodine receptor 2 (cardiac) / N.A.GAP
ALGA0077688	14	58206487	Var. Inter.	128	HLEGC	40,527,942	LOC100155800/LOC100152973	ferritin, light polypeptide/pleckstrin homology domain-containing family A member 1-like
M1GA0018773	14	65422608	Var. Inter.	128	HLEGC	40,527,942	LOC100154662/LOC100626928	ras-related protein Rab-4A-like/LOC100626928
ALGA0080846	14	117381848	5' gene					

HLEGC= Conformazione coscia

**Tabella 6.9** Lista degli SNPs risultati associati al carattere Spessore del grasso sottocutaneo.

SNP	Chr	pb SNP	Ubicazione	Caratteri ID	QTL	pb QTL	Geni Vicini <--5'/3'-->	Proteine
MARC0027736			Non map.					
H3GA0052088	X	136846599	5' gene	2	BFT	85,849,365	LOC100511976/LOC100625512	tRNA pseudouridine(38/39) synthase-like/LOC100625512
MARC0095079	X	139204105	Var. Inter.	2	BFT	85,849,365	LOC100514558/LOC100515119	transmembrane protein 185A-like/protein CXorf40A-like
H3GA0001617	1	53320108	Var. Inter.	321	SHOUFATD	280,809,605	N.A.GAP / N.A.GAP	N.A.GAP / N.A.GAP
ALGA0003214	1	55856661	Var. Inter.	321	SHOUFATD	280,809,605	LOC100736796/LMBRD1	brain-specific angiogenesis inhibitor 3-like/LMBRD1 domain containing 1
ALGA0003260	1	56384076	Introne	321	SHOUFATD	280,809,605	COL19A1/ N.A.GAP	collagen, type XIX, alpha 1/ N.A.GAP
INRA0002644	1	68993279	Var. Inter.	321	SHOUFATD	280,809,605	N.A.GAP / LOC100621012	N.A.GAP /activator of 90 kDa heat shock protein ATPase homolog 2-like
DRGA0001062	1	70024611	Var. Inter.	321	SHOUFATD	280,809,605	N.A.GAP / N.A.GAP	N.A.GAP / N.A.GAP
ALGA0003968	1	73886202	Var. Inter.	321	SHOUFATD	280,809,605	N.A.GAP / POU3F2	N.A.GAP / POU class 3 homeobox 2
H3GA0001974	1	80612589	Introne	321	SHOUFATD	280,809,605	LOC100738513/BVES	protein lin-28 homolog B-like/blood vessel epicardial substance
H3GA0002014	1	82432785	Var. Inter.	321	SHOUFATD	280,809,605	LOC100519934/LOC100521350	signal transducer CD24-like/transmembrane protein 256
H3GA0002271	1	102071378	Var. Inter.	321	SHOUFATD	280,809,605	N.A.GAP / N.A.GAP	N.A.GAP / N.A.GAP
M1GA0001091	1	117930744	Var. Inter.	321	SHOUFATD	280,809,605	LOC100622567/N.A.GAP	maspardin-like/N.A.GAP
MARC0054059	1	183771659	5' gene	321	SHOUFATD	280,809,605	PIAS1/LOC100738338	protein inhibitor of activated STAT, 1/calmodulin-like protein 4-like
ASGA0005166	1	184185132	Var. Inter.	321	SHOUFATD	280,809,605	ITGA11/ N.A.GAP	integrin, alpha 11/ N.A.GAP
ASGA0014064	3	30120718	Introne					
ALGA0018294	3	30434580	Var. Inter.					
ASGA0014105	3	31276472	Var. Inter.					
MARC0061677	3	32732852	Var. Inter.					
MARC0031325	3	33686233	Var. Inter.					
INRA0011509	3	117474270	Var. Inter.					
H3GA0011525	4	5437467	Var. Inter.					
ALGA0023514	4	16001400	Var. Inter.					
INRA0013365	4	28349829	Var. Inter.					
ASGA0020192	4	79162883	Var. Inter.	20	SUBCFAT	49,428,251	CHD7/ RAB2A	chromodomain helicase DNA binding protein 7/RAB2A, member RAS oncogene family
ALGA0025936	4	80963726	Var. Inter.	20	SUBCFAT	49,428,251	LOC100155888/NSMAF	thymus high mobility group box protein TOX/neutral sphingomyelinase (N-SMase) activation associated factor
DRGA0017375	4	124409324	Var. Inter.					
M1GA0008047	5	83722723	5' gene	321	SHOUFATD	87,004,579	TXNRD1/LOC100514233	thioredoxin reductase 1/EP300-interacting inhibitor of differentiation 3-like
MARC0070476	5	88819927	Var. Inter.	321	SHOUFATD	87,004,579	N.A.GAP / LOC100156003	N.A.GAP / ankyrin repeat and sterile alpha motif domain-containing protein 1B-like
ALGA0033599	5	97225403	Var. Inter.	321	SHOUFATD	87,004,579	LOC100522619 / N.A.GAP	prothymosin alpha-like / N.A.GAP
DRGA0007416	7	30617649	Var. Inter.	321	SHOUFATD	124,731,861	LOC100155972/LOC100738844	protein FAM83B-like/tigger transposable element-derived protein 1-like

Segue

SNP	Chr	pb SNP	Ubicazione	Caratteri ID	QTL	pb QTL	Geni Vicini <--5'/3'-->	Proteine
ASGA0032401	7	33979935	Introne	321	SHOUFATD	124,731,861	N.A.GAP / COL21A1	N.A.GAP / collagen, type XXI, alpha 1
H3GA0020846	7	36202231	Introne	321	SHOUFATD	124,731,861	PPARD/ DEF6	peroxisome proliferator-activated receptor delta, transcript variant 2/ FDCP 6 homolog
ASGA0040939	9	4385664	5' gene					
ALGA0050620	9	4479898	3' gene					
ALGA0054952	9	131561944	Introne					
ALGA0054972	9	131957271	Introne					
ALGA0055448	9	141815444	Var. Inter.					
ALGA0056659	10	8080491	Var. Inter.	321	SHOUFATD	65,295,332	USH2A/ N.A.GAP	Usher syndrome 2A (autosomal recessive, mild) / N.A.GAP
ASGA0046547	10	13589557	Introne	321	SHOUFATD	65,295,332	N.A.GAP / LOC100518326	N.A.GAP / axin interactor, dorsalization-associated protein-like
ASGA0049324	11	3755535	Var. Inter.					
ALGA0117681	12	26811678	Introne					
INRA0038984	12	36571805	Introne					
MARC0036292	13	150958697	Var. Inter.					
ALGA0072444	13	159924000	3' gene					
ALGA0083385	14	152978092	Introne					
ASGA0072103	16	6470509	Introne	321	SHOUFATD	66,481,338	LOC100625174/LOC396902	protein FAM134B-like, transcript variant 2/myosin
H3GA0048105	17	26244607	Var. Inter.					
ALGA0097987	18	40691842	Introne					

SHOUFATD= Grasso sottocutaneo spalla; BFT= Media spessore grasso dorsale; SUBCFAT= Accumulo grasso sottocutaneo.

**Tabella 6.10** Lista degli SNPs risultati associati al carattere Marezzatura.

SNP	Chr	pb SNP	Ubicazione	Caratteri ID	QTL	pb QTL	Geni Vicini <--5'/3'-->	Proteine
ALGA0100083	X	124573141	Var. Inter.					
MARC0095079	X	139204105	Var. Inter.					
INRA0003953	1	274127937	Var. Inter.	17	MARB	126,129,517	N.A.GAP / N.A.GAP	N.A.GAP / N.A.GAP
ALGA0102473	3	37034994	Var. Inter.					
ASGA0023712	5	1314550	Introne					
H3GA0020425	7	27300895	Var. Inter.					
H3GA0021382	7	49132339	5' gene					
ALGA0064189	11	84599400	Var. Inter.					
MARC0037006	13	80292458	Var. Inter.					
ASGA0058649	13	110509364	Var. Inter.					
ALGA0071754	13	122946774	Var. Inter.					
MARC0039273	15	133964455	Var. Inter.					
ASGA0070855	15	135841550	Var. Inter.					
ASGA0100297	15	144617973	Var. Inter.					
ALGA0088237	15	148849949	Var. Inter.					
ASGA0078796	18	9010445	Var. Inter.					

MARB= Marezzatura





## Bibliografia

- 1990. Legge della Repubblica Italiana 13 febbraio 1990 n° 26. Tutela della denominazione di origine "Prosciutto di Parma". Gazzetta Ufficiale n. 42 del 20 giugno.
  - 1990. Legge della Repubblica Italiana 14 febbraio 1990 n° 30. Tutela della denominazione di origine "Prosciutto San Daniele". Gazzetta Ufficiale n. 45 del 24 giugno.
  - 1993. Decreto Ministeriale 15 febbraio 1993 n.° 253. I metodi di ottenimento del prosciutto di Parma. Gazzetta Ufficiale n. 173 del 26 luglio.
  - 1993. Decreto Ministeriale 16 febbraio 1993 n.° 298. I metodi di ottenimento del prosciutto San Daniele. Gazzetta Ufficiale n. 189 del 13 agosto.
  - 1996. Regolamento CEE n. 1107 del 12 Giugno 1996. Registrazione delle indicazioni geografiche e delle denominazioni di origine. Gazzetta Ufficiale n. L 148 del 21 giugno.
  - 2012. Decreto Ministeriale (DM) 12 Ottobre 2012. Norme concernenti la classificazione delle carcasse bovine e suine. Gazzetta Ufficiale n. 291, serie generale, 12 ottobre.
- Ass. Naz. Allevatori Suini - ANAS. 2011. Manuale di corretta prassi operativa per gli allevamenti suinicoli ai sensi dei Regolamenti (CE) 178/02 e 852/04. Roma: Ministero della Salute.
- Ass. Naz. Allevatori Suini - ANAS. 2014. [www.anas.it/html/](http://www.anas.it/html/)
- Barrett J.C., Fry B., Maller J. e Daly M.J. 2005. Haploview: analysis and visualization of LD and haplotype maps. *Bioinformatics*
- Bayes M. e Gut I.G. 2005. Overview of Genotyping Molecular Analysis and Genome Discovery, Second Edition. Ed. Ralph R. and Stuart H. 1-23 John Wiley & Sons, Ltd. Published 2012 by John Wiley & Sons, Ltd.
- Becker D., Wimmers K., Luther H., Hofer A. e Leeb T. 2013. A Genome-Wide Association Study to Detect QTL for Commercially Important Traits in Swiss Large White Boars. *PLoS ONE* 8(2): 55951.
- Bidanel J.P. e Rothschild M. 2002. Reviews-Current status of quantitative trait locus mapping in pigs. *Pig News and Information* 23 (2) : 39
- Bruscagin G. 2011. Studio di associazione Genome Wide: Preprocessing e Selezione SNPs. Relatore Di Camillo B., Correlatore Sambo F. Facoltà di Ingegneria. Corso di laurea magistrale in Bioingegneria. Università degli studi di Padova.

Calus M. P. L. 2010. Genomic breeding value prediction methods and procedures. *Animal* n.4, pp 157–164.

Carnier P., Gallo L., Romani C., Sturaro E., e Bondesan V. 2004. Computer image analysis for measuring lean and fatty areas in cross-sectioned dry-cured hams. *Journal of Animal Science*, 82: 808–815

Carnier P. 2007. Organizzazione e caratteristiche del programma di selezione della linea verri Goland C\_21. RAPPORTO TECNICO 2007 DAL CENTRO GENETICO GORZAGRI. 2007 : 3-10

C.C.I.A.A. DI PARMA. 2014. Prosciutto di Parma in cifre. [http://www.prosciuttodiparma.com/it\\_IT/areastampa/news-comunicati?n=562](http://www.prosciuttodiparma.com/it_IT/areastampa/news-comunicati?n=562)

CONSORZIO DEL PROSCIUTTO DI SAN DANIELE. 2014. Prosciutto di San Daniele: nel 2012, fatturato in crescita e giro d'affari a 345 milioni di euro. <http://consorzio.prosciuttosandaniele.it/rassegnastampa/prosciutto-di-san-daniele-nel-2012-fatturato-in-crescita-e-giro-daffari-a-345-milioni-di-euro/>

Daetwyler H.D., Villanueva B., Bijma P. e Woolliams J.A. 2007. Inbreeding in genome-wide selection. *Journal of Animal Breeding Genetics* 124 (6): 369-376

Dekkers J.C.M. 2004. Commercial application of marker- and gene-assisted selection in livestock: strategies and lessons. *Journal of Animal Science* 82: 313-328.

Dekkers, J.C.M. 2007. Marker-assisted selection for commercial crossbred performance. *Journal of Animal Science* 85: 2104-2114

Dickerson, G.E. 1952. Inbred lines for heterosis tests? (citato da Gowen J.W. (ed.) *Heterosis*, Iowa State University, Ames, Iowa (USA), pp 330 – 351.)

Duijvesteijn N., Knol E.F., Merks J.W., Crooijmans R.P., Groenen M.A., Bovenhuis H. e Harlizius B. 2010. A genome-wide association study on androstenone levels in pigs reveals a cluster of candidate genes on chromosome 6. *BMC Genetics*, 11:42.

Eurostat European Commission 2014. Pig farming sector - statistical portrait 2014. [http://epp.eurostat.ec.europa.eu/portal/page/portal/publications/recently\\_published](http://epp.eurostat.ec.europa.eu/portal/page/portal/publications/recently_published) (citato da Montanari C., Corradini E. 2014. COSTO di PRODUZIONE DEL SUINO PESANTE - Edizione 2014. CRPA Notizie. No 1/2014. Reggio Emilia. Centro Ricerche Produzioni Animali – C.R.P.A. S.p.A.)

Fadiel A., Anidi I. e Eichenbaum K.D. 2005. Farm animal genomics and informatics: an update. *Nucleic Acids Research* 33: 6308–6318.

Fontanesi L., Schiavo G., Galimberti G., Calò D.G., Scotti E., Martelli P.L., Buttazzoni L., Casadio R. e Russo V. 2012. A genome wide association study for backfat thickness in Italian Large White pigs highlights new regions affecting fat deposition including neuronal genes. *BMC Genomics* 13: 583

Goddard M.E. e Hayes B.J. 2009. Mapping genes for complex traits in domestic animals and their use in breeding programmes. *Nature Reviews | Genetics* 10: 381-391

Greco M., Bellini G. 2010. 6° Censimento generale dell'agricoltura 2010. Caratteristiche strutturali delle aziende agricole. Roma: Istat, Dipartimento per i censimenti e gli archivi amministrativi e statistici Servizio Censimenti economici

Hazel, L.N. 1943. The genetic bases for constructing selection indexes. *Genetics* 28:476–490.

Henderson C.R. 1948. BEST LINEAR UNBIASED PREDICTION OF PERFORMANCE AND BREEDING VALUE. Cornell University and the University of Illinois: 172-192.

Istituto di Servizi per il Mercato Agricolo Alimentare - ISMEA. 2013. Le caratteristiche della filiera suinicola. <http://www.ismea.it>

ISTAT 2013. Rapporto annuale mercato suinicolo (citato da Basile G. 2013. IL MERCATO DEI SUINI PRODUZIONE E CONSUMO. IL MERCATO DEI SUINI 2013. 23. Edizione Maggio 2014. Servizio Evoluzione Mercati ERSAF.)

Lu X., Fu W.X., Luo Y., Ding X., Zhou J., Liu Y., Liu J. e Zhang Q. 2012. Genome-wide association study for T lymphocyte subpopulations in swine. *BMC Genomics* 13: 488.

Meuwissen T.H.E., and Goddard M.E. 1996. The use of marker haplotypes in animal breeding schemes. *Genetic Sel. Evol.* 28:161-176.

Meuwissen T.H.E., Goddard M.E. e Hayes B.J. 2001. Prediction of Total Genetic Value Using Genome-Wide Dense Marker Maps. *Genetics Society of America* 157: 1819–1829.

Ministero delle politiche agricole alimentari e forestali (MIPAAF). 2014. Prodotti DOP e IGP. <http://www.politicheagricole.it/flex/cm/pages/ServeBLOB.php/L/IT/IDPagina/309>

Montanari C., Corradini E. 2014. COSTO di PRODUZIONE DEL SUINO PESANTE - Edizione 2014. CRPA Notizie. No 1/2014. Reggio Emilia. Centro Ricerche Produzioni Animali – C.R.P.A. S.p.A.

National Human Genome Research Institute. 2014. A Catalog of Published Genome-Wide Association Studies. <http://www.genome.gov/gwastudies/>

NCBI 2014. Results by year. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=gwas>

Noemata srl. 2014. Suinicoltura in Italia, il punto della situazione. <http://mangimiealimenti.it/articoli/609-suinicoltura-in-italia-il-punto-della-situazione>

Nonneman D.J., Shackelford S.D., King D.A., Wheeler T.L., Wiedmann R.T., Snelling W.M. e Rohrer G.A. 2013. Genome-wide association of meat quality traits and tenderness in swine. *Journal of Animal Science* 91:4043-4050

Paul F., M. Ridwan A., Daniel B, Kathryn B., Konstantinos B. et al. 2014. Ensembl 2014. *Nucleic Acids Research*, 2014, Vol. 42, 749–755

PLINK Documentation Ver. (1.07). Harvard University. 2014. <http://pngu.mgh.harvard.edu/purcell/plink/>

Purcell S., Neale B., Todd-Brown K., Thomas L., Ferreira M.A.R., Bender D., Maller J., Sklar P., de Bakker P.I.W., Daly M.J. e Sham P.C . 2007. PLINK: a toolset for whole-genome association and population-based linkage analysis. *American Journal of Human Genetics*, 81.

Ramos A.M., Duijvesteijn N., Knol E.F., Merks J.W., Bovenhuis H., Crooijmans R.P., Groenen M.A. e Harlizius B. 2011. The distal end of porcine chromosome 6p is involved in the regulation of skatole levels in boars. *BMC Genetics* , 12:35.

Raschetti M. 2009. RICERCA E VALIDAZIONE DI SNP IN GENI CANDIDATI PER LA QUALITÀ DELLA CARNE E APPLICAZIONE DELL'ANALISI GENOMICA ALLA SPECIE SUINA. Relatore Pagnacco G., Correlatore Castiglioni B. SCUOLA DI DOTTORATO IN SANITÀ E PRODUZIONI ANIMALI: SCIENZA, TECNOLOGIA E BIOTECNOLOGIE. Università degli studi di Milano. Milano

Raschetti M., Chessa S., Pagnacco G., Guiatti D., Sgorlon S. e Castiglioni B. 2010. Investigation and validation of SNP in swine candidate genes for meat quality. International conference on animal genetics. In Atti 77, Edinburgo, 26-30 Giugno.

Rossi A. 2008. Implementazione strumentale per la valorizzazione del suino pesante italiano. Suinicoltura n.11. Reggio Emilia: Centro Ricerche Produzioni Animali – C.R.P.A. S.p.A.

Schadt E.E., Lamb J. e Yang X., Zhu J, Edwards S., Guhathakurta D., Sieberts S.K., Monks S., Reitman M., Zhang C., Lum P.Y., Leonardson A., Thieringer R., Metzger J.M., Yang L., Castle J., Zhu H., Kash S.F., Drake T.A., Sachs A. e Lusk A.J. 2005. An integrative genomics approach to infer causal associations between gene expression and disease. *Nature Genetics* 37: 710–717.

Schook L.B., Beever J.E., Rogers J., Humphray S., Archibald A., Chardon P., Milan D., Rohrer G., Eversole K., 2005. Swine Genome Sequencing Consortium (SGSC): a strategic roadmap for sequencing the pig genome. *Comparative and Functional Genomics* 6:251-255.

Schook L. 2007. Mapping the return on investment (ROI) QTL: a progress report on animal genomics. *Nutritional Natural Resource*, 005:12.

Secchiari P.L., Carnier P., Priolo A. e Mele M. 2009. Basi genetiche e fisiologiche della qualità degli alimenti di origine animale. *Italian Journal of Agronomy*, n. 4 (1): 81-102

Tuggle C.K., Dekkers J.C. e Reecy J.M. 2006. Integration of structural and functional genomics. *Animal Genetics*, 37(1): 1–6.

Van Eenennaam A.L., Weigel K.A., Young A.E., Cleveland M.A. e Dekkers J.C.M. 2014. Applied Animal Genomics: Results from the Field. *Annual Review of Animal Biosciences*, 2: 105-139.

Zhang H., Wang Z., Wang S. e Li H. 2012. Progress of genome wide association study in domestic animals. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 3: 26

